

## تعیین ژنوتیپ ویروس هپاتیت B در استان گلستان

عبدالوهاب مرادی<sup>۱</sup>، وحیده کاظمی نژاد<sup>۲</sup>، علی اصغر مولانا<sup>۳</sup>، مسعود بازوری<sup>۴</sup>

### چکیده

#### سابقه و هدف

حدود ۵٪ جمعیت دنیا به ویروس هپاتیت B آلوده هستند. عفونت با این ویروس، موجب آسیب‌های گسترده کبدی می‌شود و یکی از مشکلات بهداشتی در دنیا است. تاکنون ۸ ژنوتیپ ویروس هپاتیت B شناخته شده است. هدف این مطالعه، بررسی پراکندگی ژنوتیپ‌های ویروس هپاتیت B در استان گلستان به روش PCR بود.

#### مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی - تحلیلی بود. در این مطالعه، ۱۲۶ نفر از افراد HBsAg مثبت با نمونه‌گیری سرشماری مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی منتقل و تا زمان آزمایش در ۲۰ °C - نگهداری شدند. DNA به روش فنل کلروفرم، از تمام نمونه‌ها استخراج و به همراه نمونه کنترل مثبت و کنترل منفی با به کارگیری آغازگرهای اختصاصی ویروس هپاتیت B، PCR شد. نتیجه در مورد هر نمونه در پرسشنامه مربوط به آن ثبت گردید.

#### یافته‌ها

از ۱۲۶ نمونه سرم HBsAg مثبت، در ۱۱۷ نمونه مقدار DNA استخراج شده در الکتروفورز روی ژل و PCR با آغازگر بتاگلوبین مثبت و برای ادامه PCR به منظور تعیین ژنوتیپ مناسب بود. از ۱۱۷ نمونه، ۹۳ مورد (۷۹/۵٪)، ۸۶/۴٪ - ۷۱٪ (CI ۹۵٪ = ۷۱٪ - ۸۶/۴٪) ژنوتیپ D تشخیص داده شدند و بقیه با هیچ کدام از آغازگرهای اختصاصی جواب ندادند.

#### نتیجه‌گیری

نتیجه این بررسی نشان داد، تنها ژنوتیپ شایع در ایران، ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B است که معمولاً باعث بیماری خفیف کبدی می‌شود. بنابراین واکسیناسیون مناسب، برنامه‌های آموزشی و درمان با لامی وودین راه کارهای مؤثری در کنترل عفونت HBV در منطقه ما می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** ویروس هپاتیت B، ژنوتیپ، ایران

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۵

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۱۲

۱- PhD ویروس‌شناسی - دانشیار دانشگاه علوم پزشکی گلستان

۲- مؤلف مسؤول: متخصص آسیب‌شناسی - استادیار دانشگاه علوم پزشکی گلستان - صندوق پستی: ۴۹۱۷۷-۶۱۵۵۱

۳- پزشک عمومی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران و پایگاه منطقه‌ای انتقال خون گلستان

۴- کارشناس علوم آزمایشگاهی - دانشگاه علوم پزشکی گلستان

**مقدمه**

هپاتیت B، یک بیماری با انتشار جهانی است. حدود ۵٪ جمعیت دنیا به ویروس هپاتیت B آلوده هستند و در سراسر دنیا، حدود ۳۵۰ میلیون نفر حامل مزمن این ویروس می‌باشند. عفونت با این ویروس، موجب آسیب‌های گسترده کبدی می‌شود (۱). از طرفی ویروس هپاتیت B، یکی از عوامل اصلی اتیولوژیک بیماری‌های حاد و مزمن کبد بوده که از مطرح‌ترین مشکلات بهداشتی در دنیا است (۲). حدود ۶۰۰ هزار مرگ در ارتباط با ویروس هپاتیت B سالانه در دنیا اتفاق می‌افتد که حدود ۹۳٪ موارد آن مربوط به سیروز کبدی و هپاتوسلولار کارسینوما به علت این ویروس می‌باشد (۳). تغییرات ژنتیکی در ویروس هپاتیت B، به علت انتخاب طبیعی و عدم وجود ویژگی خود تصحیح‌کنندگی در آنزیم همانند ساز ژنوم ویروس هپاتیت B اتفاق می‌افتد. این تغییرات ممکن است به صورت تصادفی نبوده و مربوط به واکنش متقابل میزبان و ویروس، وضعیت ایمنی میزبان و واکنش‌ها و داروهایی که برای درمان این بیماری به کار می‌رود باشد. به همین دلیل، برخی از موتان‌های HBV که افراد را عفونی می‌نمایند، قابل پیشگیری و کنترل با واکسن‌های رایج نمی‌باشند. مطالعه ژنوتیپ‌های HBV در مناطق مختلف دنیا برای بررسی علل موارد فوق، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۴). با تعیین توالی کل ژنوم ویروس هپاتیت B که در سراسر دنیا از بیماران جدا شده، تاکنون ۸ ژنوتیپ آن شناخته شده و از A تا H نام‌گذاری شده است و زیر ژنوتیپ‌هایی نیز اخیراً برای چهار ژنوتیپ A, B, C و F تعریف شده است. ژنوتیپ‌های ویروس هپاتیت B پراکندگی جغرافیایی خاص دارند و اخیراً اهمیت کلینیکی ژنوتیپ‌ها در پاتوژنیسیته آن‌ها مورد بحث قرار گرفته است (۵). نمای آسیب‌شناسی بالینی و نتیجه عفونت مزمن با HBV در ژنوتیپ‌های مختلف آن متفاوت است (۶). ژنوتیپ‌های HBV نشان‌دهنده طریقه انتقال آن‌ها، پراکندگی جغرافیایی و در افراد مهاجر، نشان‌دهنده محل جغرافیایی مهاجرت آنان نیز می‌باشد (۷). از طرفی گزارش می‌شود نوع ژنوتیپ‌ها در پیامد بالینی آن‌ها مهم است و می‌توان از این قبیل موارد، به مثال‌هایی مانند پاسخ به درمان و سیر

بیماری به طرف مزمن شدن اشاره کرد (۸). مطالعه‌ای از ژاپن گزارش نموده است افرادی که به ژنوتیپ C ویروس هپاتیت B آلوده هستند، در آن کشور برای هپاتوسلولار کارسینوما پرخطر می‌باشند (۹). مطالعه دیگری از همان کشور گزارش نموده، انتقال ویروس هپاتیت B با ژنوتیپ A تماماً از طریق تماس جنسی می‌باشد و گرایش به مقاوم شدن به درمان را دارد (۱۰). مطالعه‌ای از آفریقای جنوبی نشان داده است، آلودگی به ژنوتیپ A ویروس هپاتیت B در افراد جوان بسیار بیشتر از افراد بزرگسال می‌باشد (۱۱). تحقیقی در کره جنوبی نشان داده است در هر ۶ فرد مبتلا به هپاتوسلولار کارسینوما، عفونت با ژنوتیپ C ویروس هپاتیت B اتفاق افتاده است (۱۲). برخی محققین معتقدند ژنوتیپ D بهتر از ژنوتیپ A به درمان با لامی‌وودین جواب می‌دهد (۱۳). مطالعه‌ای از آلمان نشان می‌دهد که ژنوتیپ A ویروس هپاتیت B در امریکا، ژنوتیپ‌های D و A در اروپا، ژنوتیپ‌های C و B در آسیا و ژنوتیپ‌های A, D و E در قاره آفریقا شایع می‌باشند (۱۴). در دو مطالعه صورت گرفته در تهران، فقط ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B یافت شده است (۱۵، ۲).

با توجه به اهمیت ژنوتیپ‌های مختلف ویروس هپاتیت B در سیر بیماری، درمان بیماری، گرایش عفونت به مزمن شدن، پرخطر بودن برای سیروز کبدی و هپاتوسلولار کارسینوما و هم چنین در نحوه انتقال آن، در این مطالعه ژنوتیپ‌های مختلف HBV در استان گلستان مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها**

در این مطالعه توصیفی - تحلیلی، در سال ۱۳۸۵ از کل جمعیت استان برای بررسی شیوع به صورت خوشه‌ای (از ۱۲۵ خوشه ۲۰ تایی از سراسر استان)، ۲۵۰۰ نفر انتخاب و از آن‌ها نمونه تهیه شد و موارد HBsAg مثبت مشخص گردید. با در نظر گرفتن موارد شیوع ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B، در مطالعه‌های صورت گرفته در تهران و کشور ترکیه، از بین نمونه‌های HBsAg مثبت، ۱۲۶ نمونه به روش سرشماری انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌ها در  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند. از

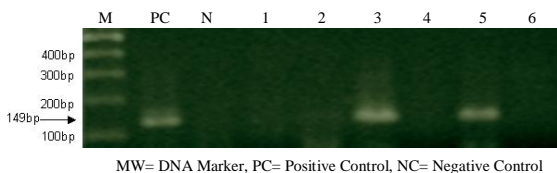
شکل ۱: آغازگرهای اختصاصی به کار گرفته شده جهت PCR (۱)

HBV Genotypes	Primer sites	Primer sequences
Genotype A	sens (nt 2331-2360)	5-CGG AAA CTA CTG TTG TTA GAC GAC GGG AC-3
	Anti-sens (nt 2701-2665)	5-AAT TCC TTT GTC TAA GGG CAA ATA TTT AGT GTG GG-3
Genotype B	sens (nt 1470-1491)	5-CCG CTT GGG GCT CTA CCG CCC G-3
	Anti-sens (nt 1660-1633)	5-CTC TTA TGC AAG ACC TTG GGC AGG TTC C-3
Genotype C	sens (nt 2706-2741)	5-CCT GAA CAT GCA GTT AAT CAT TAC TTC AAA ACT AGG-3
	Anti-sens (nt 192-165)	5-AGC AGG GGT CCT AGG AAT CCT GAT GTT G-3
Genotype D	sens (nt 2843-2870)	5-ACA GCA TGG GGC AGA ATC TTT CCA CCA G-3
	Anti-sens (nt 2990-2966)	5-CCT ACC TTG TTG GCG TCT GGC CAG G-3
Genotype E	sens (nt 2093-2122)	5-CTA ATG ACT CTA GCT ACC TGG GTG GGT GTA-3
	Anti-sens (nt 2880-2853)	5-CCA TTC GAG AGG GAC CGT CCA AGA AAG C-3
Genotype F	sens (nt 2843-2871)	5-ACA GCA TGG GAG CAC CTC TCT CAA CGA CA-3
	Anti-sens (nt 109-83)	5-AGA GGC AAT AGT CGG AGC AGG GTT CTG-3

تعداد ۴۰ سیکل با برنامه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، ۵۸ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و نهایتاً یک بار با ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه PCR گردید. محصول PCR در آگارز ۲/۵٪ الکتروفورز شد. نتیجه بعد از الکتروفورز کردن محصول PCR در روی ژل و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید در مجاورت نور UV خوانده و در مورد هر نمونه در پرسشنامه پر شده هنگام نمونه گیری ثبت گردید.

#### یافته ها

در این مطالعه از ۱۲۶ نمونه سرم HBsAg مثبت، فرآیند استخراج DNA صورت گرفت. در ۱۱۷ نمونه، مقدار DNA استخراج شده در الکتروفورز روی ژل و PCR با آغازگر بتاگلوبین مثبت بود و ادامه PCR برای تعیین ژنوتیپ روی آن‌ها صورت گرفت. نتیجه استخراج DNA در ۹ نمونه با الکتروفورز روی ژل و PCR با آغازگر بتاگلوبین منفی بود و نشان می داد که مقدار DNA استخراج شده برای ادامه PCR با آغازگرها کافی نمی باشد. این نمونه‌ها با آغازگرهای اختصاصی ژنوتیپ نیز آزمایش شدند که نتیجه منفی بود. از ۱۱۷ نمونه، تعداد ۹۳ نمونه با آغازگر اختصاصی ژنوتیپ D مثبت بوده و با هیچ کدام از آغازگرهای اختصاصی ژنوتیپ‌های دیگر مثبت نشدند. ۲۴ نمونه باقی مانده نیز با هیچ کدام از آغازگرهای اختصاصی ژنوتیپ‌های مورد بررسی مثبت نگردیدند. از ۱۱۷ نمونه، ۹۳ نمونه (۷۹/۵٪، ۸۶/۴٪، ۷۱٪، ۹۵٪ CI) ژنوتیپ D تشخیص داده شدند (شکل ۱).



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR با آغازگر ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B. نمونه شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ منفی و نمونه ۵ و ۶ مثبت برای ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B.

از ۹۳ نمونه مورد بررسی، ۴۹ (۵۲/۷٪) مورد مرد و بقیه زن بودند. از کل نمونه‌های مثبت، ۵۹ نفر (۶۳/۴٪) در

کلیه نمونه‌ها به روش فنل-کلروفرم استاندارد، DNA استخراج گردید. DNA استخراج شده از نمونه‌ها همراه با نمونه‌های کنترل مثبت (از بخش ویروس شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه گردید) و کنترل منفی (آب مقطر دوبار تقطیر شده و استریل) با به کارگیری آغازگرهای اختصاصی، PCR شدند (شکل ۱). انجام PCR به طور مختصر به شرح زیر می باشد؛ حجم نهایی در لوله PCR به مقدار ۵۰ میکرولیتر است. مقدار ۵ میکرولیتر از نمونه (DNA استخراج شده) با ۴۵ میکرولیتر Master Mix (شامل یک میکرولیتر از هر کدام از آغازگرها با غلظت ۲۵ پیکومول، ۲/۵ واحد Taq پلی مراز، ۲۰۰ میکرومول از هر کدام از نوکلئوتیدها، ۵ میکرولیتر ۱۰ x که شامل ۱/۵ mM و ۱۰ mM Tris-HCl، pH= ۸/۳، ۵۰mM KCl (MgCl<sub>2</sub>) به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد و به

پراکندگی خاص جغرافیایی در مناطق مختلف دنیا و حتی در یک ناحیه دارند که ابزار بسیار با ارزشی برای بررسی الگوهای انتقال این ویروس با روش‌های مولکولی است. مطالعه ساختار و کارکردهای مختلف بین ژنوتیپ‌های مختلف HBV در مورد هریک از ژنوتیپ‌ها، بررسی شدت بیماری ایجاد شده، عوارض بیماری، پاسخ به درمان و پاسخ به واکسن را آسان‌تر می‌نماید و در کنترل بیماری و درمان آن می‌تواند کمک مؤثری باشد (۱۶).

در ۲۴ نمونه از ۱۲۶ فرد مورد مطالعه، نتیجه DNA با آغازگر بتاگلوبین مثبت بود ولی با هیچ کدام از آغازگرهای ژنوتیپ‌های ویروس HBV مثبت نشد. این مسأله با توجه به مطالعه‌های صورت گرفته طبیعی به نظر می‌رسد. چون در مطالعه‌های دیگر نیز زمانی که فرد HBeAg منفی باشد، مقدار DNA ژنومی ویروس هپاتیت B کافی برای تعیین ژنوتیپ نمی‌باشد. در یک مطالعه که روی ۴۰ نمونه HBsAg مثبت ولی HBeAg منفی برای تعیین ژنوتیپ کار شده، فقط در ۶ مورد از آن‌ها وجود DNA ویروس هپاتیت B قابل اندازه‌گیری بوده است (۱۷). در مطالعه دیگری بر روی ۲۲ نمونه HBsAg مثبت ولی HBeAg منفی، فقط در ۵ نمونه ژنوم ویروس هپاتیت B قابل شناسایی بود (۱۸). همان‌طور که در بالا اشاره شد، تمام ژنوتیپ‌های یافت شده در مطالعه ما ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B بودند، مطالعه‌های صورت گرفته در ایران نیز نشان‌دهنده این موضوع می‌باشد. مطالعه دکتر علویان در تهران بر روی ۱۰۹ نمونه، همگی ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B بودند (۱۵). در مطالعه امینی باویل که در انستیتو پاستور صورت گرفته، در نمونه‌های افراد بیمار فقط ژنوتیپ D ویروس HBV یافت شده است (۲). در مطالعه‌های انجام شده توسط شریفی و همکاران نیز ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B، شایع‌ترین ژنوتیپ اهداکنندگان شهرهای کرمان، اصفهان، یزد و تهران بود (۲۰، ۱۹). موارد ذکر شده با یافته‌های مطالعه ما کاملاً هم‌خوانی دارد. مطالعه سانبول و همکاران در ترکیه بر روی ۸۸ نمونه، در ۸۸٪ موارد ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B یافت شده است (۴). در مطالعه نایتو در مصر، فقط ژنوتیپ D یافت شده است (۲۱). در مطالعه یالسین که در ترکیه بر روی ۴۴

روستا و بقیه در شهر زندگی می‌کردند. از کل ۹۳ فرد مورد مطالعه، ۷۸ نفر (۸۳/۹٪) متأهل و بقیه مجرد بودند. از ۹۳ مورد ژنوتیپ D مثبت، ۳۳ نفر (۳۵/۴٪) در گروه سنی ۲۵-۳۴ سال، ۲۱ نفر (۲۲/۶٪) ۳۵-۴۴ سال، ۲۶ نفر (۲۷/۹٪) ۴۵-۵۴ سال و ۹ نفر (۹/۷٪) نیز در گروه ۶۵-۵۵ سال قرار داشتند (جدول ۱).

جدول ۱: توزیع فراوانی ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B بر حسب جنس، محل سکونت و تاهل

محل سکونت و تاهل	جنس		جمع کل
	مرد	زن	
شهر	۱۶ (۴۷/۱)	۱۸ (۵۲/۹)	۳۴ (۳۶/۶)
روستا	۳۳ (۵۵/۹)	۲۶ (۴۴/۱)	۵۹ (۶۳/۴)
متاهل	۴۱ (۵۲/۶)	۳۷ (۴۷/۴)	۷۸ (۸۳/۹)
مجرد	۸ (۵۳/۳)	۷ (۴۶/۷)	۱۵ (۱۶/۱)

در جدول ۲، توزیع فراوانی ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B بر حسب HBsAg مثبت، Anti-HBc و HBsAg مثبت بودن نشان داده شده است.

جدول ۲: توزیع فراوانی ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B بر حسب HBsAg مثبت، Anti-HBc و HBsAg مثبت بودن

مارکرهای HBV	جنس		کل
	مرد	زن	
Anti-HBc+ و HBsAg+	۲۸ (۶۳/۶)	۳۶ (۷۳/۴۶)	۶۴ (۶۸/۸)
HBsAg+	۱۶ (۳۶/۴)	۱۳ (۲۶/۵۴)	۲۹ (۳۱/۱۸)
جمع کل	۴۴ (۱۰۰)	۴۹ (۱۰۰)	۹۳ (۱۰۰)

## بحث

هپاتیت B یک بیماری با انتشار جهانی است و حدود ۵٪ جمعیت دنیا نیز به این ویروس آلوده هستند. حدس زده می‌شود حدود ۳۵۰ میلیون نفر، حامل این ویروس در جهان باشند. تاکنون ۸ ژنوتیپ A-H ویروس هپاتیت B شناسایی شده است. ژنوتیپ‌های ویروس هپاتیت B،

کبدی نمی‌گردد و به لامی وودین نیز به خوبی جواب می‌دهد (۲۲، ۱۳).

با توجه به شیوع ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B در ایران و کم خطر بودن آن نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها، پیشنهاد می‌شود در مطالعه‌های بعدی درخصوص سیر درمانی بیماران مبتلا به این ژنوتیپ هپاتیت B ویروسی در منطقه، ارزیابی‌های دقیق صورت پذیرد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به این که نمای آسیب‌شناسی بالینی و نتیجه عفونت با HBV در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت است، می‌توان از نتایج این مطالعه و مطالعه‌های دیگر در ایران به این موضوع اذعان نمود که ژنوتیپ شایع و یا به عبارتی تنها ژنوتیپ شایع در ایران، ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B می‌باشد که معمولاً باعث بیماری خفیف کبدی می‌شود (۶). لذا واکسیناسیون مناسب، برنامه‌های آموزشی و درمان با لامی وودین می‌تواند راه‌کارهای مؤثری در کنترل عفونت HBV در ایران باشند.

نمونه صورت گرفته، فقط ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B یافت شده است (۲۲). در مطالعه آیمان از عربستان بر روی ۷۰ نمونه، در ۸۱/۴٪ آن‌ها ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B یافت شده است (۲۳). تمام نتایج مذکور با یافته‌های این مطالعه هم‌خوانی دارد. مطالعه آکسوپولو معتقد است ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B در کشورهای حوزه مدیترانه بسیار شایع می‌باشد (۷). نتایج مطالعه ما نیز این موضوع را تایید می‌نماید.

به نظر می‌رسد با توجه به ژنوتیپ شایع هپاتیت B در ایران و ارتباط آن با هپاتوسلولار کارسینوما، مطالعه‌های تکمیلی با تعداد نمونه کافی لازم است. از طرفی محققین معتقدند در عفونت با ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B، تغییرات آنزیم‌های کبدی از جمله ترانس آمینازها بسیار کم بوده و این ژنوتیپ موجب بیماری شدید کبدی نمی‌شود (۲۲). برخی از محققین نیز گزارش نمودند ژنوتیپ D ویروس هپاتیت B نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها به درمان با لامی وودین بهتر جواب می‌دهد (۱۳). در سایر تحقیقات نشان داده شده که در عفونت با این ژنوتیپ، تغییرات آنزیم‌های کبدی کم بوده، موجب بیماری شدید

### References :

- 1- Kirschberg O, Schüttler C, Repp R, Schaefer S. A multiplex-PCR to identify hepatitis B virus--enotypes A-F. *J Clin Virol* 2004; 29(1): 39-43.
- 2- Amini-Bavil-Olyae S, Sarrami-Forooshani R, Adeli A, Sabahi F, Abachi M, Azizi M, *et al.* Complete genomic sequence and phylogenetic relatedness of hepatitis B virus isolates from Iran. *J Med Virol* 2005; 76(3): 318-26.
- 3- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Global progress toward universal childhood hepatitis B vaccination, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2003; 52(36): 868-70.
- 4- Sunbul M, Leblebicioglu H. Distribution of hepatitis B virus genotypes in patients with chronic hepatitis B in Turkey. *World J Gastroenterol* 2005; 11(13): 1976-80.
- 5- Ong HT, Duraisamy G, Kee Peng N, Wen Siang T, Seow HF. Genotyping of hepatitis B virus in Malaysia based on the nucleotide sequence of preS and S genes. *Microbes Infect* 2005; 7(3): 494-500.
- 6- Watanabe K, Takahashi T, Takahashi S, Okoshi S, Ichida T, Aoyagi Y. Comparative study of genotype B and C hepatitis B virus-induced chronic hepatitis in relation to the basic core promoter and precore mutations. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20(3): 441-9.
- 7- Alexopoulou A, Dourakis SP. Genetic heterogeneity of hepatitis viruses and its clinical significance. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4(1): 47-55.
- 8- Song BC, Cui XJ, Kim H. Hepatitis B virus genotypes in Korea: an endemic area of hepatitis B virus infection. *Intervirology* 2005; 48 (2-3): 133-7.
- 9- Mahmood S, Niiyama G, Kamei A, Izumi A, Nakata K, Ikeda H. Influence of viral load and genotype in the progression of Hepatitis B-associated liver cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2005; 25(2): 220-5.
- 10- Suzuki Y, Kobayashi M, Ikeda K, Suzuki F, Arfase Y, Akuta N, *et al.* Persistence of acute infection with hepatitis B virus genotype A and treatment in Japan. *J Med Virol* 2005; 76(1): 33-9.
- 11- Kew MC, Kramvis A, Yu MC, Arakawa K, Hodgkinson J. Increased hepatocarcinogenic potential of hepatitis B virus genotype A in Bantu-speaking sub-saharan Africans. *J Med Virol* 2005; 75(4): 513-21.
- 12- Jeong SH, Kim JM, Ahn HJ, Park MJ, Paik KH, Choi W, *et al.* The Prevalence and Clinical Characteristics of Hepatitis-delta Infection in Korea. *Korean J Hepatol* 2005; 11(1): 43-50 [Abstract].
- 13- Thakur V, Sarin SK, Rehman S, Guptan RC, Kazim SN, Kumar S. Role of HBV genotype in predicting

- response to lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. *Indian J Gastroenterol* 2005; 24(1): 12-5.
- 14- Schaefer S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. *J Viral Hepat* 2005; 12(2): 111-24.
  - 15- Alavian SM, Keyvani H, Rezai M, Ashayeri N, Sadeghi HM. Preliminary report of hepatitis B virus genotype prevalence in Iran. *World J Gastroenterol* 2006; 12(32): 5211-3.
  - 16- Kramvisa A, Kewa M, Francois G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 2005; 23: 2409-23.
  - 17- Bredehorst R, von Wulffen H, Granato C. Quantitation of Hepatitis B Virus (HBV) Core Antigen in Serum in the Presence of Antibodies to HBV Core Antigen: Comparison with Assays of Serum HBV DNA, DNA Polymerase, and HBV e Antigen. *J Clin Microbiol* 1985; 21(4): 593-8.
  - 18- Kramvis A, Bukofzer S, Kew MC. Comparison of Hepatitis B Virus DNA Extractions from Serum by the QIAamp Blood Kit, GeneReleaser, and the Phenol-Chloroform Method. *J Clin Microbiol* 1996; 34(11): 2731-3.
  - 19- Sharifi Z, Gharehbaghian A, Noroozi M. Prevalence of hepatitis B virus genotypes to be determined by sequencing in blood donors in Kerman, Esfahan and Yazd. *Sci J Iran Blood Transfus Org* 2010; 6(4): 248-56.
  - 20- Milani S, Sharifi Z, Hosseini M, Mahmoodian Shoostari M. Determination of HBV Genotypes among Hbs Ag Positive Blood Donors in Tehran, Iran Using PCR-RFLP. *Iranian J Publ Health* 2009; 38(1): 41-7.
  - 21- Naito H, Hayashi Sh, Abe K. Rapid and Specific Genotyping System for Hepatitis B Virus Corresponding to Six Major Genotypes by PCR Using Type-Specific Primers. *J Clin Microbiol* 2001; 39(1): 362-4.
  - 22- Yalcin K, Degertekin H, Bahcecioglu IH, Demir A, Aladag M, Yildirim B, *et al.* Hepatitis B virus genotype D prevails in patients with persistently elevated or normal ALT levels in Turkey. *Infection* 2004; 32(1): 24-9.
  - 23- Abdo AA, Al-Jarallah BM, Sanai FM, Hersi AS, Al-Swat K, Azzam NA, *et al.* Hepatitis B genotypes: relation to clinical outcome in patients with chronic hepatitis B in Saudi Arabia. *World J Gastroenterol* 2006; 12(43): 7019-24.

*Original Article*

## HBV genotypes in Golestan province of Iran

Moradi A.<sup>1</sup>, Kazeminejad V.<sup>1</sup>, Molana A.A.<sup>2,3</sup>, Bazoori M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

<sup>2</sup>Research Center of Iranian Blood Transfusion Organization, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Gorgan Regional Blood Transfusion Center, Gorgan, Iran

### Abstract

#### **Background and Objectives**

To date, almost eight HBV genotypes have been identified. HBV genotypes has special geographic distribution. They play an important role in trend and treatment of disease, progression into chronic phase, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Clarification of viral genotypes may be useful in better understanding and predicting of the transmission pathways and disease prognosis. In the present study, we evaluated the genotypic disparity of HBV in Golestan province of Iran using PCR method.

#### **Materials and Methods**

Serum samples from 126 HBsAg positive individuals were collected and stored in -20°C until the day of analysis. DNA extraction was carried out using standard phenol-chloroform method. For genotypic determination, we used HBV genotype specific primers. Electrophoresis of PCR products using ethidium-bromide stain, use of UV, and recording of the results were the next steps.

#### **Results**

One hundred twenty six HBsAg positive serum samples were assessed. Suitable DNA samples were restricted to 117 out of 126; 93 (79.5%) out of 117 samples were detected as D genotype.

#### **Conclusions**

The most frequent type of HBV in our study was D type that usually causes a mild liver disease. So, proper vaccination, educational programs, and treatment with lamivudine are efficient strategies in controlling HBV infection in our area.

**Key words:** Hepatitis B virus, Genotype, Iran  
*Sci J Iran Blood Transfus Org* 2010; 7(1): 27-33

Received: 26 Dec 2008

Accepted: 1 Feb 2010

*Correspondence:* Kazeminejad V., MD. Pathologist. Assistant Professor of Golestan University of Medical Sciences.

P.O.Box: 49177-61551, Tehran, Iran. Tel: (+98171) 2320299; Fax : (+98171) 2234198

E-mail: vahidehkazeminejad@yahoo.com