

خون

فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۰ شماره ۴ زمستان ۹۲ (۳۷۱-۳۶۴)

جستجوی ژنومی پارو ویروس B19 در بیماران مبتلا به کم خونی مزمن، لوسمی/لنفوم در اصفهان، ایران

راضیه نیکوزاد^۱، محمد رضا محزونیه^۲، غفیسه سادات نقوی^۳

چکیده سابقه و هدف

پاروویروس B19 موجب بروز طیفی از تظاهرات بالینی از جمله اریتم عفنی، هیدروپس فتالیس، آرتروپاتی و بحران آپلاستیک گذرا می‌شود. ویروس بسیار بیماری‌زا است و از طریق تنفس، خون و فرآورده‌های آن انتقال می‌یابد. هدف این مطالعه، جستجوی ژنومی پاروویروس انسانی B19 در افراد مبتلا به اختلالات خونی بود.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی، عفونت به پاروویروس B19 در بین بیماران مبتلا به اختلالات خونی و افراد سالم مقایسه گردید. در این مطالعه سرم‌ها از دو گروه شامل ۳۵ بیمار مبتلا به کم خونی مزمن و ۳۰ فرد مبتلا به لوسمی/لنفوم از اصفهان جمع‌آوری شدند. ۳۰ فرد سالم نیز به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. پس از استخراج DNA از نمونه‌های سرمی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت جستجوی ژنومی پاروویروس B19 انجام شد. یافته‌ها توسط آزمون‌های کایدو، ^t و نرم‌افزار آماری SPSS ۱۵ تجزیه و تحلیل شدند.

پافته‌ها

توالی نوکلئوتیدی اختصاصی پاروویروس B19 در ۱۵ نمونه (۲۳٪) از سرم بیماران مشاهده گردید. از این تعداد ۶ نفر (۱۷٪) از میان ۳۵ بیمار، مبتلا به اختلالات خونی خوش خیم و ۹ نفر (۳٪) از گروه بیماران بدخیم بودند. در سرم ۳۰ فرد شاهد نیز هیچ نمونه مثبتی یافت نشد.

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی انجام شده با نتایج مطالعه‌های بسیاری از کشورها مطابقت دارد که این نشان‌دهنده بالا بودن عفونت پاروویروس B19 در افراد در معرض خطر بالا از جمله بیماران مبتلا به اختلالات خونی می‌باشد.

کلمات کلیدی: پاروویروس، بیماری‌های خونی، PCR، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۸
تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۲۱

۱- مؤلف مسؤول: دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی - دانشکده علوم زیستی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان - ایران - صندوق پستی: ۸۴۵۱۵/۱۵۵
۲- PhD میکروبیولوژی - دانشیار پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام - دانشگاه شهرکرد - شهرکرد - ایران
۳- PhD میکروبیولوژی - استادیار دانشکده علوم زیستی - دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان - فلاورجان - ایران

مقدمه

خالص گلوبول قرمز (pure red cell aplasia) و گاهی اوقات ترومبوسیتوپنی، پانسیتوپنی و نوتروپنی را ایجاد نماید (۱۴)، (۱۳). در مطالعه آس و همکاران، عفونت شایع با ویروس B19 در بین گروهی از بیماران مبتلا به انواع لوسمی، لتفوم بدخیم، کم خونی مزمن و تالاسمی گزارش گردید. به طور کلی نتایج آنها نشان داد، افراد مبتلا به بیماری‌های بدخیم، بیماری‌های سرکوب‌کننده سیستم ایمنی و کم خونی‌های همولیتیک به عنوان گروه‌های پر خطر برای این ویروس هستند و ارتباط این بیماری‌ها با عفونت B19 در آنها تایید شد (۶). تاکنون در اکثر مطالعه‌های منتشر شده از ایران، پژوهش‌ها به تعیین میزان شیوع و تشخیص حضور آنتی‌بادی‌های ضد پاراویروس B19 با روش سرولوژی (الایزا) پرداخته‌اند که نتایج آن هم نشان‌دهنده عفونت قبلی با این ویروس است و کمتر از روش‌های تشخیص مولکولی که عفونت فعال را نشان دهد، استفاده گردیده است. از طرف دیگر اطلاعاتی در مورد ارتباط عفونت فعال این ویروس با کم خونی، اختلالات خونی و بدخیمی‌ها در ایران در دست نیست، از این رو مطالعه روی تعیین عفونت فعال در بین افراد به ظاهر سالم و مبتلا به مشکلات خونی از اهمیت خاصی برخوردار خواهد بود. در این مطالعه تلاش شد تا از روش تشخیص مولکولی نستد - پی‌سی‌آر، که از حساسیت بسیار بالایی برخوردار است، جهت جستجوی ژنومی پاراویروس B19 در بین افراد با اختلالات خونی در استان اصفهان استفاده شود. هم چنین با استفاده از آزمون‌های آماری، ارتباط عوامل احتمالی خطرساز مانند سن، جنس، مدت زمان ابتلا به بیماری، سابقه سقط جنین و سابقه دریافت خون با آلدگی به ویروس B19 ارزیابی گردید. در صورت تایید هر گونه ارتباط عفونت با این ویروس و سایر فاکتورها، یافته‌های این تحقیق اطلاعاتی را به دست خواهد داد که در مدیریت درمان و پیشگیری از عفونت با این ویروس مفید خواهد بود.

مواد و روش‌ها

بیماران:

در این مطالعه مقطعی - توصیفی، جستجوی ژنومی

پاراویروس B19 ویروسی ساده و کوچک، فاقد پوشش لیپیدی با DNA تک رشته‌ای خطی می‌باشد که دو پروتئین کپسید، VP1 (۸۳ کیلو Dalton) و VP2 (۵۸ کیلو Dalton) و یک پروتئین غیر ساختاری به نام NS1 را کد می‌کند. پروتئین NS1 نقش مهمی را در مکانیسم عفونت‌زاوی ویروس دارد و فعالیت ویروس و پرومоторهای سلولی را افزایش می‌دهد (۱-۴). این ویروس از خانواده پاراویریده و متعلق به جنس اریتروویروس است و تمایل به تکثیر در پیش‌سازهای سلولی قرمز خون در مغراستخوان دارد. گرایش ویروس به سلول‌های پیش‌ساز اریتروئید، ناشی از به کارگیری آنتی‌ژن P اریتروسیتی توسط ویروس به عنوان گیرنده سلولی برای ورود به داخل سلول می‌باشد (۵). ویروس در بیشتر موارد از طریق تنفس منتقل می‌شود ولی با این حال خون و فرآوردهای خونی نیز می‌تواند موجب انتقال پاراویروس B19 شوند، هم‌چنین می‌تواند از مادر آلوده به جنین نیز انتقال یابد (۶-۷). عفونت با این ویروس بسیار شایع است و بسته به وضعیت ایمونولوژیک و هماتولوژیک بیمار ممکن است منجر به طیف وسیعی از تظاهرات بالینی شود. شایع‌ترین ظهور کلینیکی عفونت پاراویروس B19، اریتم عفونی یا بیماری پنجم است که به شکل بثورات پوستی در دوران کودکی ایجاد می‌شود. در بزرگسالان، عفونت ممکن است موجب آرتروپاتی حاد شود. در زنان باردار، عفونت پاراویروس B19 به دنبال انتقال عفونت از جفت به جنین می‌تواند کم خونی جنین، سقط جنین یا هیدروپس فتالیس را ایجاد کند (۹-۱۱). عفونت پاراویروس B19 در بیماران مبتلا به اختلالات خونی به خصوص کم خونی همولیتیک مزمن منجر به بحران آپلاستیک گذرا می‌شود. در این بیماران، تشکیل سلول‌های پیش‌ساز اریتروئید برای جبران لیز گلوبول‌های قرمز خون افزایش می‌یابد، عفونت پاراویروس B19 می‌تواند ساخت گلوبول‌های قرمز را موقتاً مهار و اریتروبلاستوپنی حاد ایجاد کند که اغلب به عنوان بحران آپلاستیک گذرا گفته می‌شود (۱۲). هم‌چنین در افراد با سیستم ایمنی سرکوب شده ممکن است منجر به عفونت‌های پایدار گردد و کم خونی‌های مزمن و آپلازی

طول موج ۲۸۰/۲۶۰ تو سط دستگاه بیوفوتومتر(آلمان، اپندرف) در محدوده ۱/۸ برا آورد گردید. برای بررسی حضور توالی اختصاصی DNA ویروسی، مطابق روش متشر شده تو سط زرینی و همکاران(۱۹۹۶) و ون و همکاران(۲۰۱۱)، از واکنش PCR دو مرحله‌ای(Nested PCR) با استفاده از آغازگر polymerase chain reaction استفاده شد(۱۵، ۱۶). حساسیت این روش نسبت به PCR مرسوم ۱۰۰۰۰ برابر بیشتر است(۱۷). برای کنترل آلودگی و عدم وجود مهارکننده در مرحله PCR، از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و از یک نمونه سرم مثبت که پس از تعیین توالی نوکلئوتیدی به تایید بخش ویروس‌شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، حاوی ژنوم B19 بود، به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

مواد مورد نیاز در این روش به شرح زیر می‌باشد:

۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR با غلاظت $x 10$ ، ۱ میکرولیتر داکسی‌نوکلئوتیدتری فسفات(dNTP)، ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم($MgCl_2$) ۰/۵ میکرولیتر Taq پلیمراز، ۱ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای مستقیم(جلوبنده) و معکوس(عقب‌برنده)، ۱۴/۵ میکرولیتر آب دیونیزه و ۳ میکرولیتر از نمونه DNA استخراج شده. در مرحله اول از آغازگرهای A و ۲S و ۲S در مرحله دوم از آغازگرهای ۳A و ۴S استفاده شد (جدول ۱). ۳۵ سیکل تحت شرایط دمایی زیر برای هر دو مرحله PCR به کار برده شد:

یک دقیقه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای مرحله تقلیب(denaturation)، ۱/۵ دقیقه دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای مرحله به هم پیوستن(annealing) و ۱ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مرحله ساخت DNA

پاراویروس B19 در میان ۶۵ بیمار مبتلا به اختلالات خونی به طور خوش‌ای تصادفی(cluster sampling) شامل ۳۵ نفر مبتلا به کم خونی مزمن و ۳۰ نفر مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک حاد(ALL)، لوسمی میلوئیدی حاد(AML) و لنفوم‌های بدخیم در مقایسه با ۳۰ فرد سالم به عنوان کنترل در محدوده سنی مشابه با بیمارانی که به طور تصادفی وارد این تحقیق شده بودند، تحت مطالعه قرار گرفتند. به طور کلی در بین نمونه‌ها ۵۷ نفر زن بودند که ۷ نفر آن‌ها سابقه سقط جنین داشتند.

جمع‌آوری نمونه‌های سرمی:
سرم از خون جمع‌آوری شده از بیماران پس از سانتریفیوژ و جدا کردن از لخته، بلا فاصله در دمای -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. هم چنین مشخصات بیماران شامل نام و نام خانوادگی، سن، جنس، مدت ابتلا به بیماری، یافته‌های آزمایشگاهی در مورد تعداد و مشخصات گلbulول‌های قرمز و سفید، سابقه دریافت خون و ساقه سقط جنین در فرم‌هایی حین نمونه‌برداری ثبت شدند. به منظور تجزیه و تحلیل آماری اطلاعات حاصل از نتایج، از نرم‌افزار آماری SPSS و مدل آماری مربع کای در سطح اطمینان ۹۵٪ ($p \leq 0.05$) و آزمون t استفاده گردید.

واکنش PCR دو مرحله‌ای:

استخراج DNA ویروسی از سرم بیماران با استفاده از کیت استخراج اسید نوکلئیک ویروسی (GF-1 Viral Nucleic Acid Extraction Kit) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. آزمایش خلوص DNA استخراج شده در

جدول ۱: توالی آغازگرهای به کار رفته برای جستجوی ویروس B19 و وزن محصول PCR در هر مرحله

آغازگر	نام و موقعیت توالی در ژنوم	توالی آغازگر	اندازه محصول (bp)
دوره اول	1A 2095-2924 2S 4016-3997	۵'-۳'	۱۱۱۲
	3A 3187-3206 4S 3290-3271	CTTAGGTATAAGCCAACTGG ACACTGAGTTACTAGTGGC	
دوره دوم	3A 3187-3206 4S 3290-3271	CAAAAGCATGTGGAGTGAGG CCTTATAATGGTGCTCTGGG	۱۰۴

بررسی‌های آماری انجام شده روی عوامل احتمالی خطرساز برای ابتلا به ویروس B19 نشان داد که بین جنسیت، سن، سابقه سقط جنین و آلودگی به ویروس B19 رابطه معناداری وجود ندارد (جدول ۳ و ۴).

جدول ۳: توزیع فراوانی گروه آلوده به ویروس B19 و گروه غیر آلوده به تفکیک جنسیت

کل فراوانی (درصد)	گروه غیر آلوده فراوانی (درصد)	گروه آلوده فراوانی (درصد)	جنسیت
(۵۸/۹) ۵۶	(۵۷/۵) ۴۶	(۶۶/۷) ۱۰	مؤنث
(۴۱/۱) ۳۹	(۴۲/۵) ۳۴	(۳۳/۳) ۵	مذکر
(۱۰۰) ۹۵	(۱۰۰) ۸۰	(۱۰۰) ۱۵	کل

جدول ۴: توزیع فراوانی گروه آلوده به ویروس B19 و گروه غیر آلوده بر حسب رده‌های سنی

کل فراوانی (درصد)	گروه غیر آلوده به ویروس B19 فراوانی (درصد)	گروه آلوده به ویروس B19 فراوانی (درصد)	رده‌های سنی
(۴۳/۱۵) ۴۱	(۴۵) ۳۶	(۳۳/۴) ۵	۱-۲۰ سال
(۲۳/۱۶) ۲۲	(۲۱/۲۵) ۱۷	(۳۶/۳) ۵	۲۰-۴۰ سال ۴۰-۶۰ سال
(۳۳/۶۹) ۳۲	(۳۳/۷۵) ۲۷	(۳۳/۳) ۵	بالای ۶۰ سال
(۱۰۰) ۹۵	(۱۰۰) ۸۰	(۱۰۰) ۱۵	کل

در افراد آلوده به پارووویروس B19، ۱۱ مورد (٪۷۳/۴) سابقه دریافت خون و فرآورده‌های خونی داشتند که بر اساس آزمون آماری، کای دو محاسبه شده در سطح $p \leq 0.05$ معنادار بود، بنابراین اختلاف معناداری بین داشتن سابقه تزریق خون و ابتلا به ویروس B19 دیده شد (جدول ۵).

در نهایت ۷ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (extension) برای مرحله گسترش نهایی در مرحله دوم Nested-PCR ۲ میکرولیتر از واکشن اخیر به ۲۳ میکرولیتر از مخلوط PCR با آغازگرهای ۳ A و ۴ S اضافه شد. در نهایت محصولات PCR در ژل آگار ٪۲ الکتروفوروز شدند و با توجه به موقعیت قرار گرفتن باندها نسبت به DNA مارکر، بر روی ژل مورد بررسی قرار گرفتند که در مرحله اول اندازه محصول مورد انتظار ۱۱۱۲ bp و در مرحله دوم ۱۰۴ bp بود.

یافته‌ها

میزان آلودگی به ویروس B19 به ترتیب در گروه آنمنی مزمن، لوسمی/لنفوم و شاهد، ۱۷/۱، ۳۰ و صفر درصد بود. ۵۰ نفر (٪۷۶/۹) نیز از نظر آلودگی به ویروس B19 منفی بودند. در سرم ۳۰ فرد شاهد نیز هیچ نمونه مشتبی یافته نشد. آزمون آماری کای دو نشان داد که بین گروه بیماران و گروه شاهد اختلاف معناداری وجود دارد (جدول ۲). گروه افراد آلوده به پارووویروس B19 و افراد غیر آلوده، از نظر جنسیت، سن، مدت زمان ابتلا به بیماری، سابقه سقط جنین و سابقه تزریق خون، با استفاده از آزمون آماری کای دو مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۲: توزیع فراوانی موارد آلودگی به پارووویروس B19 بین گروه بیماران و گروه شاهد

پ	نتیجه آزمایش PCR		گروه‌ها
	- فراوانی (%)	+ فراوانی (%)	
	(۸۲/۹) ۲۹	(۱۷/۱) ۶	آنمنی مزمن (n=۳۵)
۰/۰۰۱	(۷۰) ۲۱	(۳۰) ۹	لوسمی/لنفوم (n=۳۰)
	(۱۰۰) ۳۰	(۰) ۰	شاهد (n=۳۰)
	(۸۴/۲) ۸۰	(۱۵/۸) ۱۵	کل (n=۹۵)

جدول ۶: توزیع فراوانی گروه آلوده به ویروس B19 و گروه غیر آلوده بر حسب مدت زمان ابتلا به بیماری

جدول ۵: توزیع فراوانی سابقه دریافت خون در گروه آلوده به پاروویروس B19 و افراد غیر آلوده

p-value	كل	گروه غیر آلوده به		گروه آلوده به		مدت ابتلا
		فراوانی (درصد)	ویروس B19	فراوانی (درصد)	ویروس B19	
(۷۰/۷۶)	(۱۰۰) ۶۵	(۱۰۰) ۵۰	(۱۰۰) ۱۵	(۳۳/۴) ۵	(۱۶) ۸	(۲۰) ۱۳
۰/۰۴۸	۴۶	(۷۴) ۳۷	(۶۰) ۹	(۶/۶) ۱	(۱۰) ۵	(۹/۲۴) ۶
	بالای ۱۲ ماه			۶-۱۲ ماه		
	کل					

p-value	كل	گروه غیر آلوده به		گروه آلوده به		سابقه تزریق خون
		فراوانی (درصد)	ویروس B19	فراوانی (درصد)	ویروس B19	
۰/۰۳۵	(۴۸/۴) ۴۶	(۴۳/۸) ۳۵	(۷۳/۴) ۱۱	بلای		
	(۵۱/۶) ۴۹	(۵۶/۲) ۴۵	(۲۶/۶) ۴	خیر		
	(۱۰۰) ۹۵	(۱۰۰) ۸۰	(۱۰۰) ۱۵	کل		

برای بررسی تفاوت متغیرهای کمی از جمله مقادیر فاکتورهای خونی مورد بررسی در دو گروه آلوده به عفونت فعلی ویروس B19 و گروه غیرآلوده، از آزمون آماری t استفاده گردید(جدول ۷).

طول مدت بیماری در ۶۰٪ از افراد آلوده به ویروس B19 ، بالای ۱۲ ماه بود. بر اساس آزمون آماری، کای دو محاسبه شده در سطح $p \leq 0.05$ معنادار بوده، بنابراین از نظر مدت زمان ابتلا به بیماری‌های هماتولوژیک و آلودگی به ویروس B19 ، ارتباط معناداری دیده شد(جدول ۶).

جدول ۷: شاخص‌های توصیفی فاکتورهای خونی در گروه آلوده به پاروویروس B19 و گروه غیر آلوده

p	درجه آزادی	df	t	گروه آلوده به ویروس B19		W.B.C ($\times 10^9$ U/L)
				انحراف میانگین \pm میانگین	انحراف میانگین \pm میانگین	
۰/۱	۹۳	۱/۵	۵/۵ \pm ۲/۰۹	۴/۶ \pm ۲/۳		
۰/۳	۹۳	۰/۹۸	۴/۵ \pm ۱/۰۷	۴/۰۸ \pm ۱/۷	RBC ($\times 10^9$ U/L)	
۰/۰۱	۳۳	۱/۷	۱۲/۱ \pm ۲/۷	۱۰/۸ \pm ۱/۰	HGB (g/dl)	
۰/۱	۹۳	۱/۲	۳۷/۱ \pm ۷/۴	۳۴/۵ \pm ۵/۴	HCT (%)	
۰/۶	۹۳	۰/۴	۳۰ ۹/۰۳ \pm ۹۳	۳۲۱/۷ \pm ۱۰۵/۱	PLT ($\times 10^9$ U/L)	
۰/۱	۹۳	۲/۵	۸۷/۲۸ \pm ۷/۷	۸۲/۱ \pm ۹/۱	M.C.V (FL)	
۰/۱	۹۳	۲/۵	۲۸/۷ \pm ۳/۴	۲۶/۳ \pm ۳/۰۹	M.C.H (pg)	

بحث

مبلا به عفونت فعال نیستند زیرا در مطالعه‌های انجام گرفته در ایران و سایر کشورها به ترتیب فراوانی IgG ضد ویروس و DNA در افراد به ظاهر سالم در حدود ۵۸٪ و صفر درصد بوده است. در مطالعه ما نیز در گروه شاهد هیچ نمونه مثبتی یافت نشد که این نتایج با مطالعه‌هایی که در تهران روی اهداکنندگان خون و هم چنین در کشورهای هند، تونس، چین، عربستان، تایلند و ایالات متحده انجام گرفته بود، هم خوانی داشت. موارد مثبت از صفر درصد در تهران تا یک درصد در ایالات متحده گزارش شده بود(۲۱-۲۴)، (۱۰، ۳). نتایج به دست آمده در این مطالعه و هم چنین سایر مطالعه‌های منتشر شده در سطح جهان با نتایج به دست آمده از اهداکنندگان خون در ویتنام (۲۱/۴٪) کاملاً مغایرت داشت(۲۵).

از آن جا که این عفونت در دوران کودکی شایع است و منجر به بروز بیماری پنجم می‌شود، مشخص نیست حضور ژنوم ویروسی در کودکان از چه طریقی بوده است، چون این افراد از نظر ایمنی ساپرس هستند، بنابراین عفونت نهفته می‌تواند در آن‌ها فعال شود.

نتیجه‌گیری

توصیه می‌شود که در همه موارد اختلالات هماتولوژیکی، غربالگری آنتی‌بادی ضد ویروس و بررسی حضور توالی نوکلئوتیدی اختصاصی پارووویروس B19 توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دستور کار متخصصان تشخیص و درمان قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشجویی می‌باشد. بدین‌وسیله از زحمات خانم مرضیه صفرپور و فاطمه یکنته در دانشگاه شهرکرد که در مراحل انجام این پایان‌نامه کمک نمودند تشکر می‌گردد. هم چنین از همکاری مسئولین محترم بیمارستان و آزمایشگاه سیدالشهداء اصفهان که در نمونه‌گیری مساعدت فرمودند سپاسگزاری می‌گردد.

مطالعه حاضر روی ۶۵ بیمار مبتلا به کم خونی‌های مزمن، لوسمی لغوبلاستیک حاد، لوسمی میلورئید حاد و لفوفوم‌های بدخیم در استان اصفهان انجام شد. نتایج آزمایش PCR در این بررسی نشان‌دهنده حضور توالی نوکلئوتیدی اختصاصی پارووویروس B19 در ۲۳٪ از بیماران مبتلا به اختلالات خونی بود که با بسیاری از نتایج مطالعه‌های انجام گرفته در کشورهای دیگر هم خوانی دارد. اگر چه در آزمایش‌های سرولوژی مقدار IgG بالا بود اما مقادیر IgM و DNA در محدوده یکسانی گزارش شد.

در مطالعه‌های هیگاردن و همکاران در دانمارک، شواهدی از عفونت فعال ویروس B19 در ۳٪ از بیماران مبتلا به کم خونی‌های مزمن یافت شد(۱۸). هم چنین در یک بررسی در هند، این فراوانی ۲۵/۹٪ گزارش شد(۱۹). در یک مطالعه که توسط ریگایا در تونس انجام شد، آنتی‌بادی‌های IgG ضد پارووویروس B19 در ۵۶٪ از بیماران با اختلالات خونی مزمن یافت شد، در حالی که تنها ۸/۷٪ بیماران حاوی DNA ویروسی بودند که در مقایسه با نتایج مطالعه‌های ما کمتر بود(۱۰). در بررسی دیگری در ترکیه در سال ۲۰۰۷، در ۲۹٪ حضور DNA ویروسی و یا آنتی‌بادی IgM گزارش شد(۶). هم چنین در مطالعه‌ای توسط کیشوره و همکاران، IgM anti-B19 که نشان‌دهنده عفونت تازه یا حاد است در ۱۷٪ از کودکان مبتلا به بدخیمی‌های هماتولوژیک یافت شد(۳).

وینیتا و همکاران در سال ۲۰۱۲، DNA ویروس B19 را در ۲۷٪ در بین ۶۶ بیمار با آنمی آپلاستیک در مقابل ۲٪ در گروه کنترل گزارش کردند. در این بررسی آنتی‌بادی‌های IgM ضد پارووویروس B19 نیز در ۲۵٪ از گروه بیماران و ۲٪ از گروه کنترل یافت شد(۲۰). به طور کلی نتایج مطالعه‌های انجام شده در کشورهای مختلف نشان می‌دهد میزان آلدگی در افراد مورد بررسی خیلی بالاست زیرا در افراد در معرض خطر بالا، جستجوی ژنومی ویروس B19 صورت گرفته است. عفونت B19 یک عفونت شایع است ولی اکثر افراد،

References:

- 1- Shen T, Huang Y, Qiao F, Li Z, Liu H. Detection of human parvovirus B19 nonstructural protein DNA by nested-polymerase chain reaction in gravida serum and pregnant tissues. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2006; 26(1): 123-6.
- 2- Mahmoodian Shooshtari M, Sharifi Z. Detection of Human Parvovirus B19 Markers in Blood Samples of Donors. *Iranian Journal of Virology* 2011; 5(2): 9-12.
- 3- Kishore J, Sen M, Kumar A, Kumar A. A pilot study on parvovirus B19 infection in paediatric haematological malignancies. *Indian J Med Res* 2011; 133: 407-13.
- 4- Mahmoodian Shooshtari M, Foroghi MN, Hamkar R. High Prevalence of Parvovirus B19 IgG Antibody among Hemophilia Patients in Center for Special Diseases, Shiraz, Iran. *Iran J Publ Health* 2005; 34(1): 51-4.
- 5- Reinheimer C, Allwinn R, Doerr HW, Wittek M. Seroepidemiology of parvovirus B19 in the Frankfurt am Main area, Germany: evaluation of risk factors. *Infection* 2010; 38(5): 381-5.
- 6- Us T, Ozune L, Kasifoglu N, Akgun Y. The investigation of parvovirus B19 Infection in patients with haematological disorders by Using PCR and ELISA techniques. *Braz J Infect Dis* 2007; 11(3): 327-30.
- 7- Siritantikorn S, Kaewrawang S, Siritanaratkul N, Theamboonlers A, Poovorawan Y, Kantakamalakul W et al. The Prevalence and Persistence of Human Parvovirus B19 Infection in Thalassemic Patients. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2007; 25(2-3): 169-74.
- 8- Survey JT, Reamy BV, Hodge J. Clinical presentations of parvovirus B19 infection. *Am Fam Physician* 2007; 75(3): 373-6.
- 9- Heegaard ED, Petersen BL, Heilmann CJ, Hornsleth A. Prevalence of parvovirus B19 and parvovirus V9 DNA and antibodies in paired bone marrow and serum samples from healthy individuals. *J Clin Microbiol* 2002; 40(3): 933-6.
- 10- Regaya F, Oussaief L, Bejaoui M, Karoui M, Zili M, Khelifa R. Parvovirus B19 infection in Tunisian patients with sickle-cell anemia and acute erythroblastopenia. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 123.
- 11- Young NS, Brown KE. Mechanisms of disease: Parvovirus B19. *N Engl J Med* 2004; 350(6): 586-97.
- 12- Obeid OE. Molecular and serological assessment of parvovirus B19 infections among sickle cell anemia patients. *J Infect Dev Ctries* 2011; 5(7): 535-9.
- 13- Kuo SH, Lin LI, Chang CJ, Liu YR, Lin KS, Cheng AL. Increased risk of parvovirus B19 infection in young adult cancer patients receiving multiple courses of chemotherapy. *J Clin Microbiol* 2002; 40(11): 3909-12.
- 14- Ideguchi H, Ohno SH, Ishigatubo Y. A case of pure red cell aplasia and systemic lupus erythematosus caused by human parvovirus B19 infection. *Rheumatol Int* 2007; 27(4): 411-4.
- 15- Zerbini M, Musiani M, Gentilomi G, Venturoli S, Gallinella G, Morandi R. Comparative evaluation of virological and serological methods in prenatal diagnosis of parvovirus B19 fetal hydrops. *J Clin Microbiol* 1996; 34(3): 603-8.
- 16- Wen JQ, Zhou N, Li D, Feng HL, Wang H. Study on clinical characteristics and follow-up visit of acquired aplastic anemia associated with parvovirus B19 infection. *Indian J Pediatr* 2012; 79(6): 741-6.
- 17- Ayatollahi J, mellat A, Ayatollahi J, Hashemi A, Taghipoor zahir Sh, Ghasemi N. Application of PCR for diagnosis infectious diseases. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2011; 18(6): 578-86. [Article in Farsi]
- 18- Heegaard ED, Myhre J, Hornsleth A, Gundestrup M, Boye H. Parvovirus B19 Infections In Patients With Chronic anemia. *Haematologica* 1997; 82(4): 402-5.
- 19- Mishra B, Malhotra P, Ratho RK, Singh MP, Varma S, Varma N. Human parvovirus B19 in patients with aplastic anemia. *Am J Hematol* 2005; 79(2): 166-7.
- 20- Gupta V, Saini I, Nath G. Prevalence of Parvovirus B19 Infection in Children with Aplastic Anemia. *Indian Pediatr* 2013; 50(5): 489-91.
- 21- Mahmudi F, Mahmoodian Shooshtari M, Sharifi Z, Hosseini M. Prevalence of parvovirus B19 in blood donors tested by ELISA and PCR. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2009; 5(1): 47-52. [Article in Farsi]
- 22- Qian XH, Zhang GC, Jiao XY, Zhang YJ, Cao YH, Xu DL, et al. Aplastic anaemia associated with parvovirus B19 infection. *Arch Dis Child* 2002; 87(5): 436-7.
- 23- Bhattacharlosol P, Pancharoen C, Kowitdamrong E, Thammabovorn R, Mungmee V. Prevalence of parvovirus B19 infection in Thai young adults. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003; 34(3): 585-8.
- 24- Doyle S, Kerr S, O'Keeffe G, O'Carroll D, Daly P, Kilty C. Detection of parvovirus B19 IgM by antibody capture enzyme immunoassay: receiver operating characteristic analysis. *J Virol Methods* 2000; 90(2): 143-52.
- 25- Toan N, Song le H, Kremsner PG, Duy DN, Binh VQ, Duechting A , et al. Co-infection of human B19 in Vietnamese patients with hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2006; 45(3): 361-9.

Original Article

Genomic detection of parvovirus B19 in patients suffered from chronic anemia, leukemia/lymphoma in Isfahan, Iran

Nikoozad R.¹, Mahzounieh M.R.², Naghavi N.S.¹

¹Faculty of Biological Science, Islamic Azad University Falavarjan Branch, Falavarjan, Iran

²Zoonosis Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Abstract

Background and Objectives

Parvovirus B19 may cause a number of clinical illnesses including infectious erythema, arthropathy hydrops fetalis or congenital anemia, and transient aplastic crises. The virus is very infectious and is transmitted via respiratory tract, and blood transfusion. The aim of this study was to detect B19 virus in persons who suffer from blood disorders.

Materials and Methods

Parvovirus B19 infection was compared in patients suffering from blood disorders with healthy people in Isfahan, Iran. Sera were collected from 35 and 30 patients with the history of chronic anemia and leukemia/lymphoma. Thirty persons were considered as control group without any blood complications. DNAs of all sera were extracted and tested for presence of B19 DNA using semi-nested PCR.

Results

B19 DNA was detected in 15 samples (23.1%) out of 65 patient sera. The infection rate was 17.1% and 30% among benign and malignant blood disorder groups, respectively. None of healthy people showed positive results.

Conclusions

Results are consistent with previous studies indicating that parvovirus B19 infection in high-risk individuals is higher including patients with hematologic disorders. Blood donor screening for parvovirus B19 in high risk patients is necessary and can effectively reduce the incidence and prevalence of B19 infection.

Key words: Parvovirus, Hematologic Diseases, PCR, Iran

Received: 6 Feb 2013

Accepted: 18 Jun 2013

Correspondence: Nikoozad R., MSc of Microbiology. Faculty of Biological Science, Islamic Azad University Falavarjan Branch.
P.O.Box: 84515-155, Falavarjan, Iran. Tel: (+98311) 7420140; Fax: (+98311) 7420140
E-mail: *R_nikoozad@yahoo.com*