

## سرواپیدمیولوژی HTLV-1 در استان گلستان

## چکیده

**زمینه و هدف:** HTLV-1 (*Human T lymphocyte Virus-1*) عامل اتیولوژیک بیماری *ATL* (*Acute T-Lymphocytic Leukemia*) و بیماری نورولوژیک دژنراتیو مزمن به نام *TSP* (*Tropical Spastic Paralysis*) شناخته می شود و بروز آن به عوامل متعددی مثل عوامل محیطی، اجتماعی، رفتاری و بهداشتی بستگی دارد. در این مطالعه سرواپیدمیولوژی HTLV-1 در جمعیت استان گلستان بررسی گردید.

**روش بررسی:** در این مطالعه توصیفی از افراد سالم در سطح استان گلستان به صورت تصادفی ساده خونگیری به عمل آمد و سرم آن جدا گردید. فرم جمع آوری اطلاعات در مورد هریک از آنها تکمیل گردید. با استفاده از کیت *Dia-pro* و به روش الیزا آنتی بادی علیه HTLV بررسی شد. نمونه های مثبت برای تأیید مثبت واقعی بودن و تعیین تیپ HTLV با کیت وسترن بلات (*HTLV BLOT 2.4*) مورد آزمایش قرار گرفت اطلاعات آنالیز نهایی در نرم افزار *SPSS II* به رایانه وارد شد.

**یافته ها:** در این بررسی تعداد ۲۰۳۴ نفر مورد بررسی قرار گرفتند که میانگین سنی آنها  $16/54 \pm$  سال بود. در تست الیزا ۱۵ نفر (۰/۷٪) از نظر HTLV مثبت شدند ولی با تست وسترن بلات از ۱۵ مورد الیزا مثبت فقط ۶ نفر آنها مثبت و از تیپ HTLV-1 بودند. بالاترین میزان شیوع موارد مثبت واقعی HTLV-1 با ۲/۶٪ در منطقه کلانله مشاهده گردید. از نظر آماری بین شیوع واقعی HTLV-1 و محل زندگی رابطه معنادار مشاهده شده، ( $P \text{ Value}=0.002$ ) بیشترین موارد HTLV-1 با وسترن بلات ۰/۴٪ در گروه سنی بالاتر از ۲۰ سالگی دیده شد.

**نتیجه گیری:** در ساکنین استان گلستان آلودگی با HTLV-1 وجود دارد. بنابراین پیشنهاد می شود که اقداماتی جهت کنترل و پیشگیری از انتشار بیماری از جمله غربالگری خونهای اهدایی و برنامه های آموزشی جاری مد نظر قرار گیرد.

**واژه های کلیدی:** HTLV-1، سرواپیدمیولوژی، الیزا، وسترن بلات، گلستان

## خدابردی کلوی

مربی، هماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

## عبدالوهاب مرادی

دانشیار ویروس شناسی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

## علیرضا احمدی

دکترای حرفه ای علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

## عبدالجلیل ساریخانی

کاردان علوم آزمایشگاهی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

## مسعود بازوری

کارشناس میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی ایران

## محمد رضا کیایی

کاردان علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی گلستان

## نویسنده مسئول: خدابردی کلوی

تلفن: ۰۹۱۱۱۷۷۳۹۸۲

پست الکترونیک:

kalavi20@yahoo.com

آدرس: گرگان خیابان هیرکان ابتدای جاده

شصت کلا، مجموعه فلسفی، دانشکده

پیراپزشکی

وصول مقاله: ۸۶/۱۲/۲۲

اصلاح نهایی: ۸۷/۴/۴

پذیرش مقاله: ۸۷/۴/۳۰

## مقدمه

ویروس HTLV-1، اولین رتروویروس انسانی شناخته شده بود که در سال ۱۹۸۰ توسط Poiesz و همکارانش از محیط کشت لنفوسیت‌های یک جوان سیاهپوست ۲۸ ساله که لنفوم T cell جلدی داشت، جدا گردید. همراهی HTLV-1 با بیماری نورولوژیک را Gessian و همکارانش در سال ۱۹۸۵ یافتند در بیماران با TSP در Martinique که تیترا بالایی از آنتی بادی ضد HTLV-1 را داشتند، گزارش شد. این بیماری همچنین به عنوان میلوپاتی در ارتباط با HTLV-1 (1) و یا میلوپاتی پیش رونده مزمن شناخته می شود. عفونت HTLV-1 در تمام جهان پراکنده است (۱، ۲، ۳). HTLV-1 در جنوب غربی ژاپن و اکیناوا به شکل آندمیک است و بیش از یک میلیون نفر از مردم در این نواحی آلوده می باشند، اندمیسیته آن به عوامل متعددی مثل عوامل محیطی، اجتماعی، رفتاری و بهداشتی بستگی دارد (۳). راههای انتقال عفونت HTLV-1 به خوبی شناخته شده ولی گیرنده سلولی HTLV-1 هنوز شناسایی نشده است، عفونت HTLV-1 دست کم از سه طریق پدید می آید: از مادر به کودک به ویژه در جریان شیردادن، با تماس جنسی که بیشتر از مرد به زن می باشد و از طریق خون، تزریقات آلوده یا سرسوزنهای آلوده. ویروس بیشتر در حین تولد منتقل می گردد. در مقایسه با HIV که حتی بدون وجود سلول قادر به انتقال است، HTLV-1 عفونت زایی کمتری دارد و جهت انتقال معمولاً به تماس سلول به سلول نیاز دارد. شواهدی وجود دارد که این عفونت با تماسهای روزمره مثل بوسیدن، استفاده از لوازم آرایش، تهیه غذا و ... انتقال نمی یابد (۳).

آنتی بادی ضد HTLV-1 در سرم ۳۵٪ از اهالی اکیناوا، ۱۰٪ از ساکنین جزیره ژاپنی کیوشو و کمتر از ۱٪ از اشخاص مستقر در نواحی غیر آندمیک ژاپن وجود دارد. با وجود شیوع زیاد عفونت تنها حدود ۵۰۰ مورد ابتلا به ATL در سال در این ناحیه تشخیص داده می شود (۳). عفونت HTLV-1 در شمال شرقی ایران و استان خراسان نیز آندمیک است. شیوع عفونت در مشهد تا ۱/۱۵٪ (۴) است، این عفونت در مازندران در بین دهنده‌های خون ۱۷ ساله و بالاتر با شیوع ۱/۷٪ (۵) گزارش شده است.

معمولی ترین تست غربالگری برای HTLV-1,2 الیزاست اما قابلیت افتراق بین HTLV-1,2 را ندارد. تست مکمل، Western blot است که قادر به افتراق بین HTLV-1,2 نیز می باشد. تستهای دیگری مانند RT-PCR نیز وجود دارند. (۱)

انتشار این ویروس در خانواده هایی که در آنها افراد آلوده به این ویروس وجود دارد بالا است. چون منطقه مورد مطالعه ما در همسایگی استان خراسان که منطقه آندمیک برای این ویروس است قرار دارد و از آنجاییکه این ویروس خطر ابتلا به سرطان و ATL را افزایش می دهد، در این مطالعه عفونت به HTLV-1 را به روش الیزا و وسترن بلات در جمعیت استان گلستان مورد بررسی قرار دادیم.

## روش بررسی

در این مطالعه توصیفی-مقطعی نمونه های خون، از افراد سالم سراسر استان گلستان به نسبت تعداد جمعیت هریک از شهرستانها، به صورت تصادفی جمع آوری و بعد از جدا کردن سرم تا زمان اجرای آزمایشها در منهای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند. جستجوی آنتی بادی HTLV با استفاده از کیت Dia-pro ساخت کشور ایتالیا و به روش الیزا اجرا شد و برای تایید نهایی موارد مثبت و تعیین تیپ HTLV از روش وسترن بلات (HTLV) BLOT 2.4 ساخت کشور سنگاپور استفاده شد. در زمان جمع آوری نمونه ها فرم جمع آوری اطلاعات شامل سن، جنس، محل سکونت پر گردید. نتایج به صورت جداول توصیفی ارائه و شاخصهای پراکندگی و مرکزی نیز تعیین نمایش داده شد. در مورد برخی از متغیرهای کیفی مانند جنس، محل سکونت و گروههای سنی و نتیجه آزمایشها برای بررسی ارتباط از نظر آماری از آزمون کای دو استفاده شد.

## یافته ها

در این بررسی تعداد ۲۰۳۴ نمونه مورد بررسی قرار گرفت که میانگین سنی آنها  $16/54 \pm 38/66$  سال بودند. از این تعداد ۴۱/۷٪ مرد و بقیه زن بودند. سرم ۱۵ نفر (۰/۷٪) از افراد مورد بررسی در تکنیک الیزا آنتی بادی ضد HTLV مثبت بود. نمونه های مثبت برای تایید نتیجه تست الیزا و تعیین

نظر آماری بین شیوع HTLV و محل زندگی در سطح P Value=0.036 معنادار می باشد.

نتایج به روش وسترن بلات نیز نشان دهنده بالاترین میزان شیوع HTLV-1 با ۲/۶٪ (با Confidence Interval 95% بین صفر تا ۶/۲٪) در منطقه کلاله می باشد. از نظر آماری رابطه بین شیوع HTLV-1 و محل زندگی در سطح P Value=0.002 معنادار می باشد. نتیجه تست الیزا و تست وسترن بلات و محل زندگی افراد مورد مطالعه در جدول شماره دو نشان داده شده است.

نتایج با تست الیزا در گروههای سنی مختلف مورد مطالعه نشان می دهد که بیشترین موارد مثبت با ۶/۸٪ در گروه سنی یک تا ۱۰ ساله قرار دارد و ارتباط معناداری نیز در سطح P Value=0.001 بین گروههای سنی و نتایج تست الیزا دیده می شود. نتایج با تست وسترن بلات در گروههای سنی مختلف نشان می دهد بیشترین موارد HTLV-1 با ۰/۴٪ در گروه سنی بالاتر از ۲۰ سالگی دیده می شود. توزیع فراوانی HTLV-1 بر اساس گروههای سنی در جدول شماره سه نشان داده شده است.

تیپ ویروس HTLV به روش وسترن بلات آزمایش شدند، تنها شش نمونه ۰/۳٪ (با Confidence Interval 95% بین ۰/۶٪ تا ۵۳٪) از ۱۵ نمونه مثبت واقعی بود و ویروس نیز از تیپ HTLV-1 بود. نتایج تست الیزا، وسترن بلات و تیپ ویروس به تفکیک جنس در جدول شماره یک نشان داده شده است.

جدول ۱: توزیع فراوانی HTLV-1 در جمعیت استان گلستان به روش الیزا و روش وسترن بلات برحسب جنس در سال ۱۳۸۶

جنس	ELISA-HTLV		Western Blot HTLV-1		جمع
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	
مذکر	۹	۸۳۹	۳	۸۴۵	۸۴۸
	(/۱,۱)	(/۹۸/۹)	(/۰,۴)	(/۹۹/۶)	(/۴۱/۷)
مؤنث	۶	۱۱۸۰	۳	۱۱۸۳	۱۱۸۶
	(/۰,۵)	(/۹۹/۵)	(/۰,۳)	(/۹۹/۷)	(/۵۸/۳)
جمع	۱۵	۲۰۱۹	۶	۲۰۲۸	۲۰۳۴
	(/۰,۷)	(/۹۹/۳)	(/۰,۳)	(/۹۹/۷)	(/۱,۰)

نتایج به روش الیزا نشان می دهد که از نظر شیوع عفونت بیشترین میزان در منطقه شهرستان کلاله با ۳/۹٪ می باشد. که از

جدول ۲: توزیع فراوانی HTLV-1 در جمعیت استان گلستان به روش الیزا و وسترن بلات برحسب محل زندگی در سال ۱۳۸۶

محل زندگی	ELISA-HTLV		Western Blot HTLV-1		جمع
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	
گروگان	۵	۷۱۸	۱	۷۲۲	۷۲۳
	(/۰,۷)	(/۹۹/۳)	(/۰,۱)	(/۹۹/۹)	(/۳۵/۵)
گنبد	۴	۷۶۱	۲	۷۶۳	۷۶۵
	(/۰,۵)	(/۹۹/۵)	(/۰,۳)	(/۹۹/۷)	(/۳۷/۶)
بندر ترکمن	۱	۲۹۷	۰	۲۹۸	۲۹۸
	(/۰,۳)	(/۹۹/۷)		(/۱,۰)	(/۱۴/۷)
کلاله	۳	۷۴	۲	۷۵	۷۷
	(/۳,۹)	(/۹۶/۱)	(/۲,۶)	(/۹۷/۴)	(/۳/۸)
مینودشت	۱	۶۸	۰	۶۹	۶۹
	(/۱,۴)	(/۹۸/۶)		(/۱,۰)	(/۳/۴)
علی آباد	۱	۵۱	۱	۵۱	۵۲
	(/۱,۹)	(/۹۸/۱)	(/۱,۹)	(/۹۸/۱)	(/۲/۶)
کردکوی	۰	۵۰	۰	۵۰	۵۰
		(/۱,۰)		(/۱,۰)	(/۲/۵)
جمع	۱۵	۲۰۱۹	۶	۲۰۲۸	۲۰۳۴
	(/۰,۷)	(/۹۹/۳)	(/۰,۷)	(/۹۹/۳)	(/۱,۰)

جدول ۳: توزیع فراوانی HTLV در جمعیت استان گلستان به روش الیزا و وسترن بلات برحسب گروههای سنی در سال ۱۳۸۶

گروههای سنی سن به سال	ELISA-HTLV		Western Blot HTLV-1		جمع
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	
۰-۱۰	۳	۴۱	۰	۴۴	۴۴
	(/۶,۸)	(/۹۳/۲)		(/۱,۰)	(/۲/۲)
۱۱-۲۰	۲	۲۴۱	۰	۲۴۳	۲۴۳
	(/۰,۸)	(/۹۹/۲)		(/۱,۰)	(/۱۱/۹)
۲۱-۳۰	۳	۵۰۳	۲	۵۰۴	۵۰۶
	(/۰,۶)	(/۹۹/۴)	(/۰,۴)	(/۹۹/۶)	(/۲۴/۹)
بالای ۳۱ سال	۷	۱۲۳۴	۵	۱۲۳۶	۱۲۳۷
	(/۰,۶)	(/۹۹/۴)	(/۰,۴)	(/۹۹/۶)	(/۶۰/۸)
جمع	۱۵	۲۰۱۹	۶	۲۰۲۸	۲۰۳۴
	(/۰,۷)	(/۹۹/۳)	(/۰,۳)	(/۹۹/۷)	(/۱,۰)

## بحث

نتایج این مطالعه مشخص نمود که ۰/۳٪ (در فاصله اطمینان ۹۵٪ با CI ۰/۰۶٪ تا ۰/۵۳٪) افراد مورد مطالعه در استان گلستان با استفاده از تست وسترن بلات آنتی بادی علیه HTLV-1 دارند که فراوانی آن به نسبت افراد سالم در دیگر نقاط دنیا از جمله چین ۰/۰۶٪ (۶) و کویت ۰/۰۲٪ (۷)، و بر روی اهدا کنندگان خون در بوشهر ۰/۰۱۳٪ (۸)، بیشتر بوده و با مطالعات صورت گرفته در کشورهای مانند امریکا ۰/۰۶٪، برزیل ۰/۰۳٪ و نیجریه ۰/۰۷٪ (۳)، و در گروه کنترل مطالعه استان سیستان و بلوچستان ۰/۰۵٪ (۹) تا حدودی همخوانی دارد. فراوانی آنتی بادی ضد HTLV در بعضی از نقاط کشورمان بسیار بالاتر از آمارهای منطقه گلستان گزارش شده است.

در مشهد آمارهای موارد تست سرولوژیک از ۲/۳٪ تا ۱۵/۱٪ گزارش شده است، در نیشابور ۳/۴٪ و نیز گنبد در مطالعه قبلی ۳/۳٪ (۴). از دلایل اصلی این تفاوت، جمعیت مورد مطالعه است که در بعضی از مقالات مبتلایان با تالاسمی ماژور و کسانی که خون زیاد و به صورت مکرر دریافت می کنند مورد بررسی قرار گرفته اند. از دیگر دلایل شیوع بالا، آن است که اغلب آنها نتیجه تست الیزا بوده است. به عقیده نویسنده یکی از مقالات در ایران (۵)، اختلاف در برآورد شیوع این ویروس در مناطق مختلف کشورمان می تواند ناشی از وجود مناطق خاص جغرافیایی با شیوع این ویروس، روشهای آزمایشگاهی متفاوت برای جستجوی آنتی بادی علیه این ویروس که بیشتر فقط نتیجه تست الیزا گزارش گردیده است، باشد. در صورتی که نتایج باید با تست وسترن بلات نیز تایید گردند. این مسئله در مطالعه ای در استان هرمزگان (۱۰) که ۴۱ مورد الیزا مثبت بود، با تست وسترن بلات ۱۴ مورد آن تایید گردید یا در مطالعه قبلی ما، در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور تعداد بیماران الیزا مثبت علیه این ویروس ۲۷ مورد بود که فقط ۸ مورد آن با تست وسترن بلات تایید گردیده است (۱۱)، در این مطالعه نیز تعداد افراد الیزا مثبت ۱۵ نفر بود و فقط ۶ نفر آن با تست وسترن بلات تایید گردید. این مطالعه نشان داد افراد سالم منطقه نیز دارای آلودگی به HTLV-1 می باشند. لذا با توجه به مطالعه قبلی انجام شده بر روی افراد

تالاسمیک در گرگان که نشان دهنده وجود آلودگی به HTLV-1 در آنها بوده است (۱۱) و اهمیت نقش انتقال خون در بین این گروه، به نظر می رسد پرداختن به موضوع انتقال آلودگی از افراد سالم به تالاسمیک، میتواند یکی از ابعاد مورد توجه در غربالگری خونهای اهدایی باشد. مطالعه ای از تایلند مشخص نموده است که در آن کشور در افراد تالاسمیک عفونت HTLV-1 وجود ندارد چون در اهداء کنندگان خون در تایلند عفونت با این ویروس وجود ندارد (۱۲). این بررسی نشان داد که بین جنسیت افراد مورد مطالعه و عفونت با HTLV-1 رابطه معنادار آماری وجود ندارد و عفونت با این ویروس در هر دو جنس یکسان اتفاق می افتد. در این مطالعه بیشترین میزان عفونت به روش وسترن بلات در افراد ساکن در منطقه کلاله وجود دارد و از نظر پراکندگی عفونت به HTLV-1 و محل زندگی رابطه معناداری در سطح P Value=0.002 مشاهده می گردد. که ممکن است به عوامل محیطی، اجتماعی و رفتاری و بهداشتی ساکنین بستگی داشته باشد که برخی مطالعات نشان دادند اندمیسیته HTLV-1 به عوامل متعددی از جمله عوامل محیطی، اجتماعی، رفتاری و بهداشتی بستگی دارد (۳).

نتایج تست وسترن بلات نشان می دهد که همگی موارد تایید شده تست HTLV-1 در بین جمعیت مورد مطالعه در سنین ۲۱ تا ۴۰ ساله دیده می شود فراوانی عفونت در این سنین شاید به این دلیل باشد که این افراد با توجه به راههای انتقال این ویروس دارای ریسک بالاتری نسبت به سایر گروههای سنی جامعه باشند، این مسئله انجام مطالعه دیگری را که در برگزیده تمام ریسک فاکتورهای عفونت با این ویروس باشد می طلبد. نکته قابل توجه دیگر در این مطالعه موارد کاذب مثبت به خصوص در افراد کمتر از ۲۰ سال است. ضروری است که نتایج به دست آمده با روش الیزا در آزمایشگاهها به خصوص در افراد کمتر از ۲۰ سال با تست وسترن بلات تایید و سپس اعلام گردد.

## نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که عفونت HTLV-1 در استان گلستان نیز وجود دارد بنابراین غربالگری خونهای اهدایی به مراکز انتقال خون در استان

منظور و پیشگیری از انتقال این ویروس نیز مد نظر قرار گیرد.

می تواند از اشاعه آن جلوگیری کند، همچنین پیشنهاد می گردد که برنامه های آموزشی به

## References

- 1-Brooks GF, Butel J.S. & Morse SA, Jawetz, Melnick & ADELBERG's; Medical Microbiology. 2004; Pgs 115 and 713
- 2- Farid, R. Shirdel, A. *Phylogenetic of HTLV-1 in Iranian born in Mashhad*. Arch.Irn.Med. 1999; 2:24-25
- 3-Ashraf Tavanai Sani, MD. *Serologic prevalence of HTLV-1 among blood donors in Mashhad (North eastern of Iran)*. Arch.Irn.Med. 2001; 4:25-26
- 4-Farid R, Etemadi MM, Baradaran H, Shirdel A, Ahkami N, Safai S. *Screening sera from the adult populations of Mashhad and Gonbad for anti bodies to HTLV-1*. Medical Journal of the Islamic Republic of IRAN 1992;2(6): 86-85
- 5-Ajami A, Hosseini RF, Tabarestani N. *Seroepidemiological survey of HTLV-I/II in blood donors of Mazandaran in 1999*. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2000;26(10): 48-45
- 6-Wang HR, Yan YS, Zhang QW, Zheng J, Liu JM, Feng YY, Wu SQ, Wu JH. *Sero-epidemiological study on the human T-cell leukaemia virus type I/II infection in the east coastal areas of Fujian province*. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2004;25(5):428-30.
- 7-Siham Al-Mufti, Alexander Voevodin, Sabeeha Ahmed, Samia Al Hamdan, Abdul Azis Al-Basheer. *Seroprevalence of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus Type I and Type II (HTLV-I/HTLV-II) Infection among Volunteer Blood Donors in Kuwait*. Medical Principles and Practice 1999;1(8): 45-50 (Kuwait)
- 8- Pour Karim MR, Khamisi Pour Gh.R, Zandi K, Roustaei MH. *Prevalence of anti-HTLV-I & anti-HTLV-II antibodies in blood donors in Bushehr province*. Iranian South Medical Journal .2004;2(6): 164-161
- 9- Moradi AV, Yaghob Nezhad Z, Mohagheghi AH, Shahraki Sh, Borji A, Firoozkahi MR, Mirimoghdam E, Rakhshani M, Sanei Moghadam E. *Seroepidemiology of HTLV-1 antibody in the Thalassaemic patients in Zahedan and Zabol cities in 2001*. Journal of Zanjan University of MEDICAL Sciences & Health Services. 2003;43(11): 47-43
- 10- Pour Karim MR, Khamisi Pour Gh.R, Hajiani Gh.R, Tahmasebi R, Ardeshir Davani N. *Seroepidemiological investigation of HTLV I/II infection among Bushehrian multi-transfused patients in 2003*. Blood, The Scientific Journal of Iranian Blood Transfusion Organization-research Center. 2005;4(2): 104-99
- 11-A. Moradi, A.R. Mansurian, A.R. Ahmadi, E. Ghaemi, K.H. Kalavi, A. Marjani, E. Sanei Moghaddam. *Prevalence of HTLV-1 among major thalassaemic patients in Gorgan (South East of Caspian Sea)*. Journal of Applied Sciences. 8(2):391-393, 2008
- 12-Chiewsilp P, Iamsilp W, Hathirat P. *HTLV-I antibody screening in donated blood and thalassaemic patients*. J Med Assoc Thai. 1993;76 Suppl.2:103-5