

Seroepidemiology and Molecular Investigation of Hepatitis E Virus in Patients with Major Thalassemia in Ahvaz City

Kimia Makvandi¹   , Roya Pirmoradi²   , Manoochehr Makvandi³   , Azarakhsh Azaran^{4*}   

1. GP. School of Medicine, Pardis branch, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2. PhD in Medical Virology. Department of Medical Virology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3. Professor in Medical Virology. Department of Medical Virology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
4. Associate Professor in Medical Virology. Department of Medical Virology, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Received: 2025/07/07

Accepted: 2025/12/06

Abstract

Background: Knowledge regarding prevalence of Hepatitis E Virus (HEV) can be an indicator of the public health and hygiene. HEV is the main cause of acute hepatitis in adult patients. Although the main route of its transmission is through the fecal-oral route, reports have been published about the transmission of this virus through blood transfusion. This study aimed to determine seroepidemiology of hepatitis E virus among thalassemia major patients in Ahvaz, Iran.

Materials and Methods: In this descriptive cross-sectional study, 88 patients with beta-thalassemia major admitted to Shafa Clinic in Ahvaz, Iran, to receive blood monthly in a period of 6 months in 2018, were included in the study. An ELISA kit was used to detect anti HEV IgM and IgG Ab. RT-PCR was used for RNA detection from all samples. The obtained data were statistically analyzed.

Results: Out of 88 patients, 10 (11.36%) were positive for HEV IgG; and the prevalence of HEV IgM was determined in 6 patients (6.81%) with the ELISA method. RT-PCR showed that none of the samples contained the virus. There were no significant relation between anti HEV Ab and variables such as age and gender. There was a significant association between HEV infection and frequency of blood transfusion ($P = 0.02$).

Conclusion: In this research, despite the absence of the virus in the blood, patients had hepatitis and were likely to transmit the virus through infected blood. The prevalence of the HEV in the study population is high, showing that the infection is endemic in the community.

***Corresponding Author:** Azarakhsh Azaran

Address: Iran, Khuzestan Province, Ahvaz, Golestan Boulevard, Esfand Street, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, School of Medicine, Department of Medical Virology

Tel: +9809163075889

E-mail:
azarakhsh.azaran@yahoo.com

Keywords: Hepatitis E virus, Immunoglobulin M, Immunoglobulin G, Prevalence, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Beta-Thalassemia.

How to cite this article: Makvandi K, Pirmoradi R, Makvandi M, Azaran A., Seroepidemiology and Molecular Investigation of Hepatitis E Virus in Patients with Major Thalassemia in Ahvaz City, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2026; 33(1):866-876. DOI: 10.30468/jsums.2026.7784.3063.

Introduction

Hepatitis E virus (HEV) is recognized as one of the most common causes of sporadic hepatitis among adults globally and presents as an acute, self-limiting disease that affects both humans and animals. The spectrum of the disease ranges from asymptomatic infection to a severe and potentially fatal condition, predominantly occurring in young adults. Clinical symptoms are more pronounced in young adults, while younger individuals typically exhibit no symptoms. The onset of clinical symptoms occurs within 15 to 60 days (with an average of approximately 40 days) following infection with the Hepatitis E Virus (HEV). Initially, these symptoms present themselves as a mild form with restlessness, reduced appetite, nausea, abdominal discomfort, tenderness and fever, before progressing to acute hepatitis characterized by manifestations such as jaundice, dark urine, pale stools, and hepatomegaly.

Although the primary transmission route of this disease is fecal-oral, other transmission pathways have been identified, including vertical transmission from mother to fetus, injection-related transmission (especially in endemic areas), possible sexual transmission, and through contaminated blood transfusions.

Extensive studies on the seroprevalence of anti-HEV antibodies have been conducted worldwide, including Iran, which is recognized as an endemic region for hepatitis E. The anti-HEV IgM antibody appears in the serum of infected individuals concurrently with the onset of clinical symptoms and can be detected for a variable period ranging from 2 weeks to 3 months. The anti-HEV IgG antibody appears later and remains detectable for years after the disappearance of IgM, indicating past infection with HEV. The diagnosis of HEV is facilitated by serological tests such as ELISA and molecular methods.

Beta-thalassemia major is an autosomal recessive disorder and one of the common types of hemoglobinopathy. Blood transfusion

is a crucial intervention for these patients, increasing their risk of contracting viral infections such as various types of hepatitis and HIV.

Frequent blood transfusions in patients with major thalassemia and the lack of screening blood donors for the presence of HEV IgG, HEV IgM, and HEV RNA likely increase these patients' risk of contracting HEV. Thus, accurate and timely diagnosis of this virus could significantly prevent numerous complications in these patients and serve as an effective screening test. However, research on HEV infection remains limited, and it is unclear whether patients with major thalassemia are at increased risk of contracting HEV. This issue is particularly relevant in developing countries like Iran where HEV is endemic. Therefore, designing a study focused on the diagnosis of hepatitis E in patients with major thalassemia for disease control and management programs in Ahvaz, Iran could be beneficial.

METHODOLOGY

In this cross-sectional study, 88 patients with major thalassemia were enrolled by census method in 2018 over a 6-month period. All patients who visited the Shafa Hospital in Ahvaz, Iran during this period for blood transfusion were recruited after obtaining their informed consent. Inclusion criteria were as follows: 1) patients with major thalassemia receiving at least one blood transfusion per month, 2) residence in Khuzestan Province, 3) ability to sign informed consent. Exclusion criteria were: 1) failure to provide informed consent, and 2) patients with hemophilia, sickle cell anemia, or other hemolytic anemias. Demographic information and blood samples were collected, drawing 5 milliliters of blood into anticoagulant-containing tubes, and transported to the virology department laboratory while maintaining the cold chain.

Serological Testing for HEV IgG and HEV IgM

The presence of antibodies against hepatitis E virus was determined using the ELISA method with DIAPRO kits manufactured in Italy, following the manufacturer's instructions.

Viral Nucleic Acid Extraction

RNA was extracted from the plasma samples of patients using the High Pure Viral Nucleic Acid Kit from Roche, Germany. All extraction steps were performed according to the kit instructions.

cDNA Synthesis and Nested-PCR

cDNA was synthesized from the extracted RNA using kits from Unita Tejarat Azma, Iran, following the kit instructions. The Nested-PCR test was conducted using specific primers for ORF1 and ORF2 regions.

RESULTS

Serological Test Results

In this study, out of 88 patients with major thalassemia, 53.4% were male and 46.6% were female. The age range of patients was between 4 and 54 years, with an average age of 23.7 ± 8.34 years. The seroprevalence of HEV antibodies was 18.2%, with 11.3% of patients testing positive for HEV-IgG and 6.8% for HEV-IgM. Six patients positive for HEV-IgM were concurrently positive for HEV-IgG.

Results from RT-nested PCR

The Nested-PCR test using specific primers for the ORF1 and ORF2 regions of the hepatitis E virus was performed on samples obtained from 88 patients with major thalassemia. All patients tested negative for the HEV genome.

DISCUSSION

The primary objective of this study was to accurately estimate the prevalence of the hepatitis E virus using serological and molecular methods. In various parts of the world, the prevalence of specific anti-HEV antibodies among blood donors and thalassemia patients has been reported. For example, in Brazil in 2019, Slavov and

colleagues reported a prevalence of 11% among blood donors and 20% among thalassemia patients. In Egypt in 2019, Abdelmawla and colleagues reported the prevalence of HEV antibodies IgG and IgM among thalassemia patients as 24.29% and 2.86%, respectively, which IgG was higher than those reported in the present study; but, the prevalence of IgG over IgM is similar to the current study. In Iran, the prevalence of HEV varies geographically, reported between 2.3% and 46.1%. The prevalence of HEV RNA among blood donors in Germany was 0.08%, and specific anti-HEV antibodies were 4.29% for HEV-IgM and 5.94% for HEV-IgG. In France, the HEV RNA prevalence was 0.75%, in the Netherlands 0.0004%, and in Spain, it was 0.0003% with an HEV-IgG prevalence of 19.96%. The prevalence of RNA in other countries, like this study, is very low and near zero.

The current study did not find any significant association between the frequency of infection and variables such as age or gender. Despite previous research in Greece indicating a notably higher infection rate of HEV among females compared to males, the present study, consistent with most literature, identified a greater number of positive instances among males, with no significant correlation established. An additional crucial element to consider is the length of time when the blood is received and the frequency of transfusions annually or weekly, which appears to be linked to the presence of antibodies against HEV.

The seroprevalence of hepatitis E in Iran has been estimated to range from 4.5% to 14.3%, indicating a potential risk of HEV spread through blood transfusion from donors who do not display symptoms. Notably, despite the detection of anti-HEV antibodies, there was no presence of HEV RNA in patients with thalassemia, making it challenging to definitively assess the likelihood of virus transmission via blood transfusion. While the risk of transmission through blood transfusion seems to be minimal, the significance of this infection should not be underestimated in recipients of organ transplants, individuals with

compromised immune systems, and pregnant women.

CONCLUSIONS

The prevalence of HEV antibodies was documented at 18.2% for HEV-IgG and 6.8% for HEV-IgM. The results suggest that although viral RNA was not detected in the bloodstream, individuals had contracted HEV previously, and the elevated occurrence within the surveyed group implies that this infection is established within the local population.

ACKNOWLEDGMENT

This article is derived from the General Medicine thesis written by Kimia Makvandi, approved in Ahvaz University of Medical Sciences, Iran (Thesis Code: B-98074). Hereby, thanks are extended to the Vice Chancellor of Research and Technology of the University for approving the proposal and data collection; heartfelt gratitude is extended to the major thalassemia patients who participated in the study.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

سرو اپیدمیولوژی و بررسی مولکولی ویروس هپاتیت E در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور در شهر اهواز

کیمیا مکوندی^۱، رویا پیرمرادی^۲، منوچهر مکوندی^۳، آذرخش آذران^{۴*}

۱. دکترای حرفه‌ای پزشکی، دانشکده پزشکی، واحد پردیس، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۲. دکترای تخصصی ویروس‌شناسی، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۳. استاد ویروس‌شناسی پزشکی، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
۴. دانشیار ویروس‌شناسی پزشکی، گروه ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: آگاهی از شیوع هپاتیت E می‌تواند شاخصی برای سلامت و بهداشت عمومی باشد. ویروس هپاتیت E از عوامل شایع هپاتیت حاد در افراد بالغ است. اگرچه راه اصلی انتقال هپاتیت E، از طریق مدفوعی-دهانی است؛ گزارش‌هایی مبنی بر انتقال از راه خون منتشر شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی سرواپیدمیولوژی ویروس هپاتیت E (HEV) در بیماران تالاسمی ماژور در شهر اهواز انجام شده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مقطعی، بر روی ۸۸ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور که برای دریافت خون ماهانه در بازه زمانی ۶ ماه در سال ۱۳۹۸ به درمانگاه شفا در شهر اهواز مراجعه کرده بودند، انجام شد. برای تشخیص آنتی‌بادی های IgM و IgG بر علیه HEV از آزمون الیزا استفاده شد. سپس تمام نمونه‌ها جهت تشخیص RNA ویروس، تحت RT-PCR قرار گرفت. داده‌های حاصل با آزمون‌های آماری تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: از ۸۸ بیمار مورد بررسی، Anti-HEV IgG در ۱۰ نفر (۱۱/۳۶٪) و Anti-HEV IgM در ۶ نفر (۶/۸۱٪) گزارش شد. HEV RNA با روش RT-PCR در هیچ‌کدام از نمونه‌ها یافت نشد. ارتباط آماری معناداری بین آنتی‌بادی علیه HEV با سن و جنس وجود نداشت؛ در حالی‌که بین عفونت HEV و تعداد انتقال خون ارتباط معنی‌داری مشاهده شد ($P=0/02$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که باتوجه به وجود Anti-HEV IgG - علیرغم عدم وجود ویروس در خون - بیماران در گذشته به HEV مبتلا شده و میزان شیوع در جمعیت مورد مطالعه، بالا بوده که نشان‌دهنده اندمیک‌بودن این عفونت در جامعه است.

* نویسنده مسئول: آذرخش آذران

نشانی: ایران، استان خوزستان، اهواز، بلوار گلستان، خیابان اسفند، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، دانشکده پزشکی، گروه ویروس‌شناسی پزشکی
تلفن: +۹۸۹۱۶۳۰۷۵۸۸۹

رایانامه: azarakhsh.azaran@yahoo.com

شناسه ORCID: 0000-0002-0741-8915

شناسه ORCID نویسنده اول: 0009-0004-5909-191X

DOI: 10.30468/jsums.2026.7784.3063.

کلیدواژه‌ها:

ویروس هپاتیت E، ایمونوگلوبولین M، ایمونوگلوبولین G، شیوع، سنجش الیزا، تالاسمی ماژور.

۱. مقدمه

کبد نقش مهمی در متابولیسم و دفع داروها در بدن ایفا می‌کند. آسیب کبدی به دلایل مختلفی از جمله برخی عفونت‌های ویروسی ایجاد می‌شود.^[۱] ویروس هپاتیت E (HEV) به‌عنوان یکی از شایع‌ترین علل هپاتیت اسپورادیک در بالغین در دنیا محسوب می‌شود که یک بیماری حاد و خود محدود شونده است.^[۲] طیف بیماری از یک عفونت ساده بدون علامت تا یک بیماری برق‌آسا و کشنده متغیر است.^[۳،۴] میزان علائم بالینی در بالغین جوان بیشتر و در سنین کمتر معمولاً بدون علامت^۱ است.^[۵] علائم بالینی پس از گذشت ۱۵ تا ۶۰ روز از آلودگی با HEV پدیدار می‌شود^[۶،۷] که ابتدا با علائم خفیف شامل بی‌قراری، بی‌اشتهایی، حالت تهوع، درد شکم، تندرns، تب و در ادامه به‌صورت هپاتیت حاد با علائم زردی، دفع ادرار تیره، مدفوع کم‌رنگ و هپاتومگالی ظاهر می‌گردد. این ویروس قادر به ایجاد نکروز و التهاب در کبد است و ممکن است حالت کلتساز ایجاد کند^[۲]. در افراد با کبد چرب، ابتلا به هپاتیت E می‌تواند روند پیشرفت بیماری را تسریع کند.^[۸]

اگرچه مسیر اصلی انتقال این بیماری مدفوعی-دهانی است، اما مسیرهای انتقال دیگری از جمله انتقال عمودی از مادر به جنین، انتقال تزریقی (به‌خصوص در نواحی اندمیک)، انتقال جنسی احتمالی و انتقال از طریق تزریق خون‌آلوده نیز شناسایی شده است.^[۹] میزان مرگ‌ومیر باتوجه‌به سن ابتلا از ۵٪ تا ۲۰٪ متغیر بوده^[۴] و در خانم‌های باردار بیش از ۳۰-۲۰٪ است.^[۱۰]

HEV متعلق به خانواده‌ی هپه و ویریده و دارای یک سروتایپ، ۷ ژنوتایپ و بیش از ۲۴ ساب‌تایپ است.^[۱۱-۱۴] ایران یکی از مناطق اندمیک HEV است و شیوع آلودگی در جمعیت عمومی حدود ۱۳-۸٪ برآورد شده است. در استان خوزستان، HEV-IgG در اهداکنندگان خون و بیماران تحت دیالیز به ترتیب ۱۱۵/۵ و ۱۰/۶٪ گزارش شده است.^[۱۵-۱۷] تشخیص HEV بر اساس آزمایش‌های سروولوژی مانند الیزا و روش‌های مولکولی امکان‌پذیر است.^[۱۸-۲۰]

¹ Asymptomatic

در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور، خطر ابتلا به انواع هپاتیت‌های ویروسی و HIV در اثر تزریق خون‌آلوده وجود دارد.^[۲۲،۲۱] در مطالعات مختلف در ایران، میزان HEV-IgG در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور ۱/۶۷٪ و ۴/۵٪ و مقدار HEV RNA صفر گزارش شده است.^[۲۳،۲۱] نتایج مطالعه انجام شده در مصر نشان داد شیوع HEV IgG و HEV IgM به ترتیب ۲۴/۲۹٪ و ۲/۶۸٪ بوده است.^[۲۴]

به نظر می‌رسد انتقال خون مکرر در بیماران تالاسمی ماژور و فقدان غربالگری اهداکنندگان خون برای وجود HEV، IgG، IgM و HEV RNA، احتمال ابتلای این بیماران را به HEV افزایش می‌دهد؛ بنابراین تشخیص صحیح ویروس می‌تواند راهنمای خوبی جهت جلوگیری از مشکلات متعدد در بیماران بوده و به‌عنوان تست غربالگری استفاده شود. باتوجه‌به این‌که شیوع سرمی هپاتیت E در ایران ۱۴/۳-۴/۵٪ گزارش شده است؛ خطر انتقال HEV از طریق انتقال خون از اهداکنندگان بدون علامت وجود دارد.^[۲۵] بنابراین، طراحی یک مطالعه با تمرکز بر تشخیص هپاتیت E در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور جهت برنامه‌های کنترلی و مدیریت بیماری سودمند خواهد بود.

۲. مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی، ۸۸ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور به روش سرشماری از سال ۱۳۹۸ در بازه زمانی ۶ ماهه وارد مطالعه شدند. همه بیماران که جهت ترانسفیوژن خون به بیمارستان شفا در شهر اهواز (مرکز ترانسفیوژن خون جهت بیماران هموگلوبینوپاتی) در این بازه زمانی مراجعه کرده بودند، انتخاب شدند. نمونه‌گیری از آن‌ها پس از پرکردن فرم رضایت‌نامه آگاهانه انجام شد. قابل‌ذکر است برای بیماران با سن کمتر از ۱۸ سال فرم رضایت‌نامه توسط والدین تکمیل گردید. معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: بیماران تالاسمی ماژور که حداقل یک‌بار در ماه خون دریافت می‌کردند، سکونت در استان خوزستان، توانایی تکمیل فرم رضایت‌نامه آگاهانه، معیارهای خروج از مطالعه شامل عدم تکمیل فرم رضایت‌نامه آگاهانه، بیماران مبتلا به هموفیلی، کم‌خونی داسی‌شکل و سایر کم‌خونی‌های همولیتیک بود.

اطلاعات دموگرافیک و نمونه خون داوطلبین به میزان ۵ میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد گرفته شد. نمونه خون با حفظ رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه گروه ویروس‌شناسی انتقال داده شد. در آزمایشگاه، لوله‌های حاوی خون به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. پلاسما جداسازی شده جهت انجام الیزا در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و جهت انجام استخراج RNA ویروس در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

آزمایش‌های سروولوژی جهت تشخیص HEV IgG و HEV IgM

وجود آنتی‌بادی بر علیه ویروس هپاتیت E توسط روش الیزا با استفاده از کیت DIAPRO ساخت کشور ایتالیا و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد. حساسیت و ویژگی این کیت جهت IgM، هر دو $\geq 98\%$ و جهت IgG هر دو 100% می‌باشد.

استخراج اسید نوکلئیک ویروس

برای استخراج RNA از نمونه‌های پلاسما بیماران از کیت Roche شرکت آلمان (High Pure Viral Nucleic Acid Kit) استفاده شد. تمامی مراحل استخراج طبق دستورالعمل کیت انجام شد.

سنز cDNA و آزمایش Nested-PCR

ساخت cDNA با استفاده از RNAهای استخراج شده با کیت یکتا تجهیز آزما تولید کشور ایران انجام شد. همه مراحل کار طبق دستورالعمل موجود در کیت انجام گرفت. آزمایش Nested-PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی جهت تشخیص نواحی ORF1 و ORF2 صورت گرفته شد [۱۹].

واکنش Nested-PCR با استفاده از مسترمیکس شرکت Amplicon ساخت کره جنوبی در حجم ۲۵ میکرولیتر تهیه شد. برنامه PCR برای مرحله اول PCR با استفاده از پرایمرهای ORF1 عبارت بود از: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ چرخه شامل سه مرحله دناتوراسیون، آنیلینگ و اکستنشن به

ترتیب در دمای ۹۴، ۵۵ و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه. برای مرحله دوم دمای آنیلینگ به ۵۸ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. انجام PCR با پرایمرهای ORF2 نیز با استفاده از همین برنامه انجام شد؛ با این تفاوت که دمای آنیلینگ در مرحله اول ۵۰ و در مرحله دوم ۵۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. محصولات به دست آمده با استفاده از ژل آگاروز ۲٪ و در کنار DNA ladder ۵۰bp الکتروفورز شدند. جهت پرایمرهای ORF1 در مرحله اول قطعه‌ای به طول ۴۱۸ جفت باز و در مرحله Nested PCR قطعه‌ای به طول ۲۸۷ جفت باز و همچنین جهت پرایمرهای ORF2 در مرحله اول قطعه‌ای به طول ۱۹۷ جفت باز و در مرحله Nested PCR قطعه‌ای به طول ۱۴۵ جفت باز مورد انتظار می‌باشد.

اطلاعات حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۲ و آزمون مربع کای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح اطمینان ۹۵٪ و سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

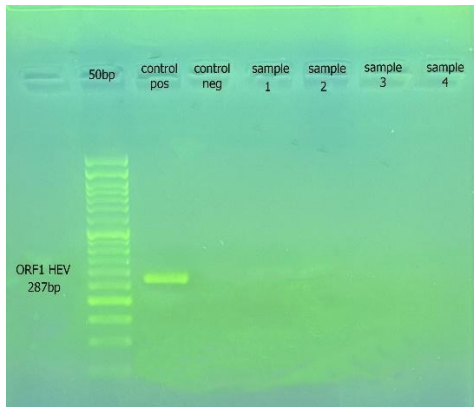
۳. نتایج

اطلاعات دموگرافیک بیماران و نتایج آزمون سروولوژی

در مجموع ۸۸ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور شامل ۴۷ نفر مرد ($53/4\%$) و ۴۱ نفر زن ($46/6\%$) با میانگین سنی $8/34 \pm 23/7$ وارد مطالعه شدند. بیماران بین ۴ تا ۵۴ سال بودند. شیوع سرمی آنتی‌بادی‌های HEV، $16/88$ نفر ($18/2\%$) بود. از این میان ۱۰ بیمار ($11/4\%$) از نظر HEV-IgG و ۶ بیمار ($6/8\%$) از نظر HEV-IgM مثبت بودند (شکل‌های ۱ و ۲). هر ۶ بیمار HEV-IgM مثبت، به‌طور همزمان از نظر HEV-IgG نیز مثبت بودند. در زنان و مردان تفاوت آماری معناداری از نظر وضعیت آنتی‌بادی‌های HEV-IgG و HEV-IgM مشاهده نشد ($P=0/38$)؛ بدین‌صورت که در مردان ۵ نفر ($10/6\%$) و ۴ نفر ($8/5\%$)، در زنان ۵ نفر ($12/1\%$) و ۲ نفر ($4/87\%$) به‌ترتیب از نظر HEV-IgG و HEV-IgM مثبت بودند. آنالیزهای آماری براساس تقسیم‌بندی سنی نشان داد که توزیع آنتی‌بادی در گروه‌های سنی مختلف متفاوت است؛ به‌طوری‌که HEV-IgG در بالغین با گروه سنی ۳۴-۴۳ سال ۳ نفر ($33/3\%$) و HEV-IgM در گروه سنی ۲۴-۳۳ سال ۳ نفر ($33/3\%$) از بیشترین فراوانی برخوردار بوده است، اما از نظر آماری معنادار نبود.

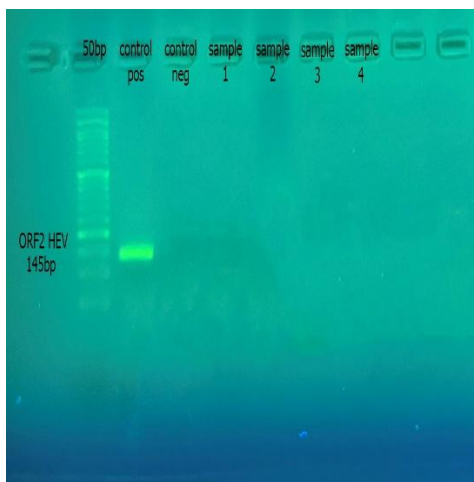
نتایج حاصل از آزمایش RT-nested PCR

نتایج Nested-PCR در ۸۸ بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور جهت نواحی ORF1 و ORF2 ویروس هپاتیت E منفی گزارش شد؛ بدین معنا که در هر دو مرحله‌ی PCR اولیه و Nested-PCR باندی مشاهده نگردید. در نهایت کلیه بیماران مورد مطالعه از نظر ژنوم HEV منفی بودند (شکل‌های ۳ و ۴).



شکل ۳: تصویر ژل الکتروفورز ناحیه ORF1 ویروس هپاتیت E

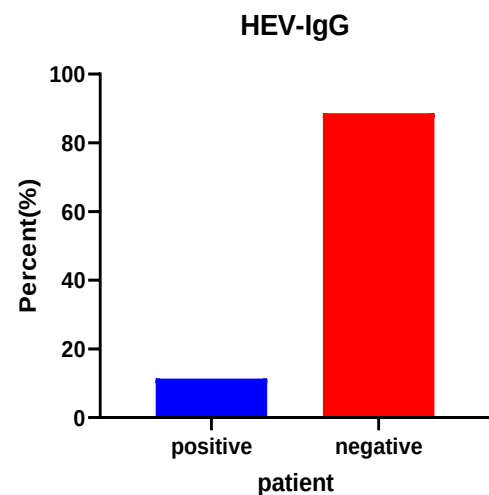
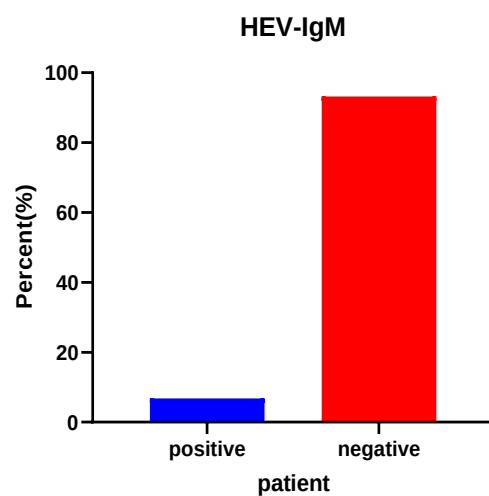
به ترتیب از چپ به راست: ردیف اول DNA ladder 50bp، ردیف دوم کنترل مثبت ۱۸۷ جفت باز، ردیف سوم کنترل منفی، ردیف‌های ۴-۷ بیماران.



شکل ۴: تصویر ژل الکتروفورز ناحیه ORF2 ویروس هپاتیت E

($P=0/08$).

میانگین دریافت خون در بیماران HEV-IgG مثبت، 101 ± 280 واحد و در بیماران HEV-IgM مثبت، $143/97 \pm 301$ واحد در طول زندگی بود ($P=0/02$). این یافته می‌تواند بدین معنا باشد که دریافت خون بیشتر احتمال مواجهه با عفونت ویروس هپاتیت E را افزایش می‌دهد.



شکل ۱: توزیع فراوانی نسبی HEV-IgG در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور

شکل ۲: توزیع فراوانی نسبی HEV-IgM در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور

به ترتیب از چپ به راست: ردیف اول DNA ladder 50bp، ردیف دوم کنترل مثبت ۱۴۵ جفت باز، ردیف سوم کنترل منفی، ردیف‌های ۴-۶ بیماران.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این مطالعه نشان داد که علی‌رغم عدم وجود RNA ویروس در خون، بیماران در گذشته به HEV مبتلا شده و میزان شیوع در جمعیت مورد مطالعه، بالا و نشان از اندمیک بودن این عفونت در جامعه دارد. هدف اصلی از انجام این پژوهش برآورد میزان شیوع ویروس هپاتیت E به روش سروولوژی و مولکولی بوده است.

شیوع آنتی‌بادی اختصاصی هپاتیت E در بین اهداکنندگان خون و بیماران تالاسمی در بسیاری از نقاط دنیا گزارش شده است. Slavov و همکاران (۲۰۱۹) در برزیل، شیوع آنتی‌بادی اختصاصی هپاتیت E را در بین اهداکنندگان خون ۱۱٪ و در بین بیماران تالاسمی ۲۰٪ گزارش کردند [۲۲]. Abdelmawla و همکاران (۲۰۱۹) در مصر، میزان شیوع آنتی‌بادی‌های IgG و IgM هپاتیت E را در بین بیماران تالاسمی به ترتیب ۲۴/۲۹٪ و ۲/۸۶٪ گزارش کردند که نسبت به مطالعه حاضر فراوانی بیشتری داشته است؛ اما از نظر نسبت IgG و IgM مشابه با پژوهش حاضر می‌باشد [۲۴]. در ایران شیوع HEV در جمعیت عمومی و در مناطق جغرافیایی مختلف به صورت متغیر ۴۶/۱-۲/۳٪ گزارش شده است [۱۷].

Dalvand و همکاران (۲۰۱۹) در تهران، در بیماران تالاسمی مبتلا به هپاتیت C مثبت، تنها ۲ مورد آنتی‌بادی HEV-IgG مثبت گزارش کردند [۲۳]. در مطالعه Ataei و همکاران در اصفهان، ۳/۸٪ از جمعیت از نظر سروولوژی مثبت، سالم بوده‌اند [۲۶]. Assarehzadegan و همکاران در مطالعه‌ی خود ۱۱/۳٪ از جمعیت خوزستان را از نظر HEV-IgG مثبت گزارش کردند [۲۷].

شیوع HEV RNA در بین اهداکنندگان خون در آلمان ۰/۰۸٪ و آنتی‌بادی‌های اختصاصی هپاتیت E HEV-IgG ۵/۹۴٪، HEV RNA ۰/۷۵٪، فرانسه [۲۸]، هلند ۲۷٪، HEV-IgM ۳/۵٪، HEV RNA ۰/۰۰۰۴٪، انگلستان ۰/۰۰۰۳٪ HEV RNA [۲۹] و

اسپانیا ۰/۰۰۰۳٪ HEV RNA و ۱۹/۹۶٪ HEV-IgG [۳۲] گزارش شده است. شیوع RNA در سایر کشورها همانند مطالعه حاضر بسیار پایین و نزدیک به صفر گزارش شده است. در ایران مطالعات کمی در خصوص شناسایی RNA ویروس هپاتیت E در بین اهداکنندگان خون انجام گرفته است. تنها در شیراز برای اولین بار شناسایی RNA ویروس هپاتیت E در بین اهداکنندگان خون گزارش شده است. در این مطالعه ۵۰/۷۱٪ بیماران از نظر HEV Ab و ۱۲٪ از لحاظ HEV RNA مثبت بودند که میزان شیوع به علت بزرگ بودن جمعیت مورد مطالعه، از پژوهش حاضر بیشتر می‌باشد [۳۳].

در بعضی کشورها از جمله ژاپن، هند، چین، پاکستان و مکزیک ژنوتایپ‌های ۳ و ۴ علل بروز هپاتیت E حاد و مزمن بوده‌اند. از طرف دیگر، در بعضی از کشورها عفونت با ژنوتایپ‌های ۱ و ۲ بیشتر دیده می‌شود [۳۴]. در ایران مطالعات سروولوژیکی نشان داده است که این عفونت به صورت مکرر اتفاق می‌افتد؛ اما مطالعات اندکی در زمینه‌ی مولکولی صورت گرفته است و از ژنوتایپ‌هایی که در ایران بیماری ایجاد می‌کنند اطلاعات زیادی در دسترس نیست. نتایج پژوهش پارسا و همکاران در جنوب غربی ایران نشان داد که از ۵۰ فرد اهداکننده‌ی خون که آزمایش‌های سروولوژی HEV-IgM و یا HEV-IgG مثبت داشته‌اند، ۷ نفر از نظر PCR مثبت شده‌اند که در همه‌ی افراد ژنوتایپ ۱ گزارش شده است. قابل ذکر است که ژنوتایپ نوع ۱ به فرم مزمن در نمی‌آید [۳۳].

در مطالعه‌ی حاضر رابطه‌ای بین شیوع عفونت با سن و جنس مشاهده نشد. در پژوهش انجام‌شده در یونان، میزان موارد آلودگی به هپاتیت E به‌طور معنی‌داری در زنان بیشتر از مردان گزارش شده است؛ اما در مطالعه حاضر میزان موارد مثبت در مردان بدون وجود رابطه‌ی معنی‌دار بیشتر از زنان بوده است. در برخی مطالعات شیوع HEV در افراد مسن بیشتر گزارش شده است؛ می‌توان چنین استنباط کرد که خطر ابتلا به HEV با افزایش سن، افزایش می‌یابد [۲۵، ۳۵]. از دیگر عوامل مهم در ارتباط با ویروس هپاتیت E و بیماران تالاسمی، طول مدت دریافت خون و تعداد ترانسفیوژن می‌باشد. در مطالعه حاضر مانند سایر مطالعات، بین تعداد موارد مثبت و تعداد انتقال خون در سال یا هفته با آنتی‌بادی علیه HEV ارتباط وجود دارد. اغلب موارد مثبت گزارش‌شده

صمیمانه قدردانی می‌شود.

ملاحظات اخلاقی:

مطالعه حاضر تأییدیه اخلاق در پژوهش را با شناسه IR.AJUMS.REC.1398.525 از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اهواز اخذ کرده است. شرکت افراد در این طرح کاملاً اختیاری بود و پس از انتخاب، جزئیات و اهداف طرح برای آنان توضیح داده شد. از افراد برای شرکت در طرح رضایت آگاهانه کتبی گرفته شد. عدم شرکت بیماران در مطالعه هیچ‌گونه تأثیری بر روند درمانی آنان نداشت.

سهم نویسندگان:

مجری مسئول: نگارش مقاله، ویرایش و بررسی صحت نتایج. نویسندگان اول: انجام امور آزمایشگاهی و نگارش پیش‌نویس اولیه. نویسندگان دوم: انجام امور آزمایشگاهی، آنالیز داده‌ها. نویسندگان سوم: ارائه دهنده ایده اصلی طرح، بررسی صحت نتایج.

حمایت مالی:

دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز حامی این طرح به شماره B-98074 بوده است.

تضاد منافع:

در این مطالعه، هیچ‌گونه تضاد منافی بین نویسندگان وجود ندارد.

در بیمارانی بود که چندین سال از شروع ترانسفیوژن آن‌ها می‌گذشت و در طول ماه حداقل یک نوبت خون دریافت می‌کردند؛ که این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار بود ($P=0/02$).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، علیرغم وجود آنتی‌بادی‌های ضد HEV، شیوع HEV RNA در بیماران تالاسمی ۰٪ بود؛ اما نمی‌توان با قطعیت در مورد انتقال ویروس از راه ترانسفیوژن خون نتیجه‌گیری کرد. اگرچه انتقال ویروس از راه ترانسفیوژن خون کم به نظر می‌رسد اما نباید اهمیت این عفونت را در بیماران پیوندی، نقص سیستم ایمنی و زنان باردار نادیده گرفت [۲۵]. یکی از محدودیت‌های این مطالعه حجم‌نمونه‌ی کم بود، لذا انجام مطالعه‌ای با حجم‌نمونه بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دوره‌ی دکترای حرفه‌ای پزشکی خانم کیمیا مکنونی مصوب دانشگاه علوم پزشکی اهواز به شماره B-98074 استخراج شده است. بدین‌وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه که در مراحل اجرایی، تصویب پروپوزال و گردآوری داده‌ها نویسندگان را مساعدت کردند و همچنین از بیماران تالاسمی ماژور شرکت‌کننده در مطالعه،

References

- [1]. Norasteh H, Mohammadi Sh, Nikraves M, Taraz Jamshidi Sh. Protective Effect of Bene (Pistacia Atlantica) on Busulfan-Induced Renal-Liver Injury in Laboratory Mice. J Babol Univ Med Sci. 2020; 22: 17-23. doi:10.1128/jvi.01060-12.
- [2]. Wang H, He Y, Shen Q, Wang X, Yang S, Cui L, Ren L, Sun G, Hua X, Shao S, Zhang W. Complete genome sequence of the genotype 4 hepatitis E virus strain prevalent in swine in Jiangsu Province, China, reveals a close relationship with that from the human population in this area. J Virol. 2012; 86(15):8334-5. doi:10.1128/jvi.01060-12.
- [3]. Nazer MR, Rafii Alavi E, Hashemi SJ. Investigation of the serological prevalence of hepatitis E in Khorramabad city in 2018. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd. 1389;18(5):451-60. (Persian)
- [4]. Aslan AT, Balaban HY. Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. World journal of gastroenterology. 2020 7;26(37):5543. doi: 10.3748/wjg.v26.i37.5543.
- [5]. Lhomme S, Marion O, Abravanel F, Izopet J, Kamar N. Clinical manifestations, pathogenesis and treatment of hepatitis E virus infections. Journal of clinical medicine. 2020 Jan 24;9(2):331. doi: 10.3390/jcm9020331.
- [6]. Kamar N, Dalton HR, Abravanel F, Izopet J. Hepatitis E virus infection. Clinical microbiology reviews. 2014 Jan;27(1):116-38. doi.org/10.1128/cmr.00057-13.
- [7]. Organization. Hepatitis E World Health. 2025. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>.
- [8]. Modrow M, Falke D, Truyen U, Schatzl H. Hepatitis E. Molecular virology. Springer Heidelberg New York Dordrecht London, 2013: 248-54.
- [9]. Gorbanian B, Saberi Y. Changes in Fetuin-B and RBP4 During A Course of High-Intensity Interval Training in Women with Nonalcoholic Fatty Liver. J Babol Univ Medical Sci. 2021; 23: 398-404. doi:10.22088/jbums.23.1.398.
- [10]. Hepatitis E fact sheet.2024.<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>.
- [11]. Wang B, Meng XJ. Structural and molecular biology of hepatitis E virus. Computational and structural biotechnology journal. 2021 Jan 1;19:1907-16. doi.org/10.1016/j.csbj.2021.03.038.

- [12]. Emerson SU, Purcell RH. Hepatitis E virus in: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, a Walters Kluwer business, 2013: 2242-58.
- [13]. Kim JH, Nelson KE, Panzner U, Kasture Y, Labrique AB, Wierzb TF. A systematic review of the epidemiology of hepatitis E virus in Africa. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 308. doi: 10.1186/1471-2334-14-308.
- [14]. Li TC, Ami Y, Suzuki Y, Yasuda SP, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takeda N, Takaji W. Characterization of full genome of rat hepatitis E virus strain from Vietnam. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19(1):115-8. doi: 10.3201/eid1901.121007.
- [15]. Behrooz Ataei¹, Maryam Keihani², Morteza Pourahmad³, Shahram Taheri. The Frequency of Hepatitis E in Renal Transplant Recipients in Isfahan City, Iran, on the Basis of Molecular Evaluation. *Journal of Isfahan Medical School* 2017; 35(448): 1283-88. (Persian)
- [16]. Taremi M, Gachkar L, Mahmoud Arabi S, Kheradpezhrouh M, Khoshbaten M. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus among male blood donors in Tabriz, Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J* 2007; 13(1): 98-102. PMID: 17546911.
- [17]. Sotoodeh JA, Pourahmad M. Hepatitis E virus and serum level aminotransferases in blood donors. *Rep Biochem Mol Biol* 2013; 2(1): 48-51. MAG: 2279613927.
- [18]. Esmaeilzadeh A, Ganji A, Bahari A, Goshayeshi L. Prevalence of hepatitis E in Iran: a systematic review of the literature. *Reviews in Clinical Medicine*. 2017;4(4):152-9. doi.org/10.22038/rcm.2017.20169.1187.
- [19]. Smith DB, Simmonds P, International Committee on Taxonomy of Viruses Hepeviridae Study, G, Jameel S, Emerson SU, Harrison TJ, Meng XJ, Okamoto H, Van der Poel WH, Purdy MA. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *J Gen Virol* 2015; 95:2223-2232. doi: 10.1099/vir.0.068429-0.
- [20]. Wang Y, Ling R, Erker JC, Zhang H, Li H, Desai S, Mushahwar IK, and Harrison TJ. A divergent genotype of hepatitis E virus in Chinese patients with acute hepatitis. *J G Virol*. 1999; 80:169-177. doi: 10.1099/0022-1317-80-1-169.
- [21]. Ahmed A, Ali IA, Ghazal H, Fazili J, Nusrat S. Mystery of hepatitis e virus: recent advances in its diagnosis and management. *Int J Hepatol* 2015; 2015: 872431. doi: 10.1155/2015/872431.
- [22]. Bineshian F, Dalvand N, Hosseini SM, Sharifi Z. Hepatitis E Virus Infection Among Iranian Patients with Beta-Thalassemia. *Middle East Journal of Rehabilitation and Health Studies*. 2020;7(3). doi.org/10.5812/mejrh.101784.
- [23]. Slavov SN, Maçonetto JD, Martinez EZ, Silva- Pinto AC, Covas DT, Eis- Hübinger AM, Kashima S. Prevalence of hepatitis E virus infection in multiple transfused Brazilian patients with thalassemia and sickle cell disease. *Journal of medical virology*. 2019; 91(9):1693-7. doi: 10.1002/jmv.25498.
- [24]. Dalvand N, Dalvand A, Sharifi Z, Hosseini SM. Prevalence of hepatitis E virus in thalassemia patients with hepatitis C in Tehran, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*. 2019; 11(6):535. doi: 10.18502/ijm.v11i6.2226.
- [25]. Abdelmawla D, Moemen D, Darwish A, Mowafy W. Hepatitis E virus prevalence in Egyptian children with transfusion-dependent thalassemia. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2019; 23(1):40-4. doi: 10.1016/j.bjid.2019.01.007.
- [26]. Tehmtan A, Moradi A, Ghaemi A, Klishadi M, Ghafari H, Hashemi P, Tabarai A. Seroepidemiology of Hepatitis E Virus in Hemodialysis Patients in Gorgan-Iran. *MLJ*. 2013; 7(2): 15-20. doi: 10.15171/mejdd.2016.31.
- [27]. Ataei B, Nokhodian Z, Javadi AA, Kassaian N, Shoaie P, Farajzadegan Z, et al. Hepatitis E virus in Isfahan Province: a population-based study. *Int J Infect Dis* 2009; 13(1): 67-71. doi: 10.1016/j.ijid.2008.03.030.
- [28]. Assarehzadegan MA, Shakerinejad G, Amini A, Rezaee SA. Seroprevalence of hepatitis E virus in blood donors in Khuzestan Province, southwest Iran. *Int J Infect Dis* 2008; 12(4): 387-90. doi: 10.1016/j.ijid.2007.09.015.
- [29]. ollmer T, Diekmann J, Johne R, Eberhardt M, Knabbe C, and Dreier J. Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. *J Clin Microbiol*. 2012; 50(8):2708-13. doi: 10.1128/jcm.01119-12.
- [30]. Gallian P, Couchouren A, Dupont I, Fabra C, Piquet Y, Djoudi R, Assal A, Tiberghien P. Comparison of hepatitis E virus nucleic acid test screening platforms and RNA prevalence in French blood donors. *Transfusion*. 2017; 57(1):223-4. doi: 10.1111/trf.13889.
- [31]. Lot E, Hogema BM, Riezebos-Brilman A, Kok TM, Molier M, Zaaijer HL. Silent hepatitis E virus infection in Dutch blood donors, 2011 to 2012. *Euro Surveill*. 2013; 18(31). doi: 10.2807/1560-7917.es2013.18.31.20550.
- [32]. Hewitt PE, Ijaz S, Brailsford SR, Brett R, Dicks S, Haywood B, Kennedy IT, Kitchen A, Patel P, Poh J, Russell K, Tettmar KI, Tossell J, Ushiro-Lumb I, Tedder RS. Hepatitis E virus in blood components: a prevalence and transmission study in Southeast England. *Lancet*. 2014; 384(9956):1766-73. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61034-5.
- [33]. Auleda S, Ong E, Bes M, Janssen A, Cory R, Babizki M, Shin T, Lindquist A, Hoang A, Vang L, Piron M, Casamitjana N, Koppelman M, Danzig L, Linnen JM. Seroprevalence of hepatitis E virus (HEV) and detection of HEV RNA with a transcription-mediated amplification assay in blood donors from Catalonia (Spain). *Transfusion*. 2015;55(5):972-9. doi: 10.1111/trf.12929.
- [34]. Parsa R, Adibzadeh S, Behzad BA, Farhadi A, Yaghobi R, Rafiei Dehbidi GR, et al. Detection of Hepatitis E Virus Genotype 1 Among Blood Donors From Southwest of Iran. *Hepat Mon* 2016; 16(6):e34202. doi: 10.5812/hepatmon.34202.
- [35]. Aggarwal R, Naik S. Epidemiology of hepatitis E: current status. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(9):1484-93. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.05933.x.
- [36]. Sharifipour S, Rad KD. Seroprevalence of hepatitis E virus among different age groups in Tehran, Iran. *New Microbes and New Infections*. 2020 1;34:100638.