گزارش کوتاه

دارای رتبه علمی-پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

شیوع ویروس آنفلوآنزای نوع B در نمونه های بیماران با علائم آنفلوانزا مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی استان مازندران (سال ۱۳۹۱-۱۳۹۲)

محمد رضا حق شناس
دانشیار ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و ملکولی، دانشکده پزشکی ساری ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
انتظار حسینی
دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجوئی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
فرهنگ بابا محمودی
استاد گروه عفونی، مرکز تحقیقات میکروبهای مقاوم به درمان، دانشکده پزشکی ساری ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
شهربانو ناندوست کناری
کارشناس ارشد میکروب شناسی، آزمایشگاه آنفلوآنزا، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
احمد تبریزی
کارشناس آزمایشگاه، آزمایشگاه آنفلوآنزا، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

نویسنده مسئول: محمد رضا حق شناس
پست الکترونیک: haghshenas2001@yahoo.com
تلفن :۰۹۱۱۲۱۳۴۹۳۹
آدرس: دانشکده پزشکی ساری ، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

دریافت: ۹۳/۵/۲۳
ویرایش پایانی: ۹۳/۶/۲۰
پذیرش: ۹۳/۶/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: *آنفلوآنزا یک عفونت حاد تنفسی است که عامل آن ویروس های آنفلوانزا می باشد. این ویروس دارای سه نوع، نوع A، نوع B و نوع C می باشد که در سرا سر دنیا پراکنده و هر ساله همه گیری‌های با شدت متفاوت ایجاد می کند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ویروس آنفلوآنزای نوع B در نمونه های بیماران مراجعه کننده به مراکز بهداشتی و درمانی انجام شده است.*

روش بررسی: *در این مطالعه نمونه گیری از ۸۷۸ بیمار طی سالهای ۱۳۹۲-۱۳۹۱ انجام شده است. با استفاده از کیت تجاری PureLink™ Viral RNA/DNA Kits استخراج RNA و با استفاده از کیتهای مخصوص SuperScript III Platinum, Quantitive Real Time PCR System از شرکت Invitrogen و با استفاده از پرایمرها و پروب اختصاصی تشخیص ویروس آنفلوآنزای B انجام شد.*

یافته ها: *میزان ۵/۵۸٪ از نظر آنفلوآنزای نوع B مثبت که ۵۵/۱۰٪ زن و ۴۴/۸۹٪ مرد می شوند. و بیشترین نمونه های مثبت مربوط به گروه های سنی ۴۰-۳۱ و ۶۰-۵۱ سال بود.*

نتیجه گیری: *با توجه به شیوع ویروس آنفلوآنزای تایپ ب که هر ساله باعث اپیدمی در جامعه می گردد و درصدی از افراد جامعه را آلوده می کند و همچنین با توجه به عدم تغییرات ژنتیکی و یا تغییرات ژنتیکی بسیار محدود لذا برای ایجاد ایمنی بر علیه ویروس آنفلوآنزای تایپ ب می توان از واکسن مناسب و برای درمان آن از دارو های موثر جهت کنترل استفاده نمود.*

واژه های کلیدی: *ویروس آنفلوآنزای نوعB، عفونت حاد تنفسی، سرماخوردگی، RT-PCR*

آدرس مقاله
حق شناس م ر، حسینی ا، بابا محمودی ف، ناندوست کناری ش، تبریزی ا" شیوع ویروس آنفلوآنزای نوع B در نمونه های بیماران با علائم آنفلوانزا مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی استان مازندران (سال ۱۳۹۱-۱۳۹۲)" مجله علوم آزمایشگاهی، مرداد و شهریور۹۴، دوره نهم (شماره ۳): ۱۲۲-۱۲۷

مقدمه

آنفلوانزا یک بیماری عفونی حاد تنفسی است که عامل آن ویروس های آنفلوآنزا می باشند (۱). و هر ساله همه گیریهایی با شدت متفاوت در مناطق مختلف و تقریبا" در هر زمستان اتفاق می افتد و سالیانه ۱۵- ۵ درصد از جمعیت را آلوده می کند. این ویروس ها در اپیدمی های فصلی در سراسر دنیا منتشر می شود که سالانه منجر به مرگ هزاران نفر و گاهی در موارد پاندمی باعث مرگ میلیون ها نفر می شود(۲). ویروس های آنفلوآنزا متعلق به خانواده ارتومیکسو ویریده بوده و دارای ژنوم RNA تک رشته ای چند قطعه ای و پوششدار می باشند (۱،۲). ویروس های این خانواده از لحاظ خصوصیات پروتئین های ساختمانی و نوکلئوپروتئین به سه نوع A، B و C طبقه بندی می شوند (۳). همه انواع ویروس آنفلوآنزا از نظر ساختمانی شبیه به هم بوده و دارای پوشش لیپیدی که حاوی دو گلیکوپروتئین سطحی به نام های هماگلوتینین (H) ونورامینیداز (N) می باشند که این دو ترکیب از آنتی ژن های مهم ویروس های این گروه بوده که نقش ایمنی میزبان را در همه نوع ها تعیین می کنند، و همچنین امروزه این ترکیبات هدف داروهای آنتی ویروسی می باشند. بر اساس ترکیبات سطحی هماگلوتنینین و نوروآمنیداز ویروسهای آنفلوانزای نوع B و C تنها دارای یکنوع سر و نوع هستند (۴) در حالیکه ویروس آنفلوانزای نوع A بر اساس هماگلوتینین دارای ۱۶ سرونوع و براساس نورآمنیداز دارای ۹ سرونوع هستند (۵). ویروس آنفلونزای B نیز سبب اپیدمی‌های انسانی آنفلونزا می‌شود اما نسبت همه گیریهای منطقه ای و یا گسترده ای ایجاد شده توسط این ویروس میزان کمتری نسبت به آنفلونزای نوع A می باشد. ویروس آنفلونزای نوع B دارای یک ساب نوع می باشد. آنفلونزای نوع B همانند نوع A دارای ژنوم RNA تک رشته ای و ۸ قطعه می‌باشد اما شدت و گستردگی بیماری زایی کم تری دارد و تنها قابلیت بیماری زایی در انسان را دارد و در حیوانات ایجاد بیماری نمی‌کند. در حالیکه ویروس آنفلوانزای نوع A علاوه بر انسان می تواند برخی از حیوانات مثل پرندگان، پستانداران دریایی، خوک و اسب را نیز مبتلا کند (۳). ارزیابی بالینی در تشخیص ویروس آنفلوآنزای B بسیار مهم است و بسیاری از افراد مبتلا دارای علائم بالینی تب بالا، لرز، سرفه، گلودرد، دردهای عضلانی، بی حالی و بی اشتهائی همراه باشند ولی برای تشخیص قطعی این ویروس جدا کردن ژنوم آن در نمونه های حلق و بینی و با استفاده از تست RT-PCR می باشد(۶). با استفاده از تست سریع میتوان در تشخیص ویروس آنفلوآنزای B کمک کرد ولی این تست از حساسیت بالائی برخوردار نمی باشد(۷).

در بررسی به عمل آمده میزان شیوع ویروس آنفلوآنزای B در مناطق مختلف و در زمان های مختلف متفاوت گزارش شده است. در مطالعه انجام شده در سال های ۲۰۱۱-۲۰۱۰ از مجموع ۲۵۸ نمونه ، میزان شیوع ویروس آنفلوآنزای B حدود ۱/۵۶٪ (۸) گزارش شده است و در مطالعه دیگر میزان شیوع آن ۳/۴۷ درصد گزارش شده است(۹). این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ویروس های آنفلوآنزای نوع B در نمونه های ارسالی به آزمایشگاه آنفلوآنزا در بیماران مراجعه کننده به مراکز بهداشتی- درمانی در شهرهای انجام شده است.

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه توصیفی – مقطعی بوده و جامعه مورد مطالعه شامل بیماران با علائم آنفلوآنزا مراجعه کننده به مراکز درمانی استان مازندران طی سالهای ۱۳۹۲-۱۳۹۱ بود. در این مطالعه نمونه گیری از ۸۷۸ بیمار با علائم آنفلوآنزا جهت تشخیص ویروس آنفلوآنزا نوع B انجام شده است. از بیماران مشکوک به آنفلوآنزا بوسیله سوآپ داکرون از ناحیه نازوفارنگس و یا با استفاده از مایع اختصاصی و قرقره از گلو و با رعایت اصول ایمنی نمونه گیری انجام شده و با رعایت اصول زنجیره سرما به آزمایشگاه آنفلوآنزا جهت تشخیص ویروس آنفلوآنزا نوع B منتقل شده و تا زمان انجام آزمایش در دمای $80^{\circ}c$ – نگهداری می شد. اطلاعات لازم شامل سن و جنس و محل زندگی از طریق پرسشنامه از بیمار جمع آوری شد. استخراج RNA: جهت استخراج RNA از نمونه های بیماران با استفاده از کیت PureLink^{TM} Viral RNA/DNA Kits از شرکت Invitrogen انجام شد. جهت تشخیص ویروس آنفلوآنزای نوع B و تعیین ساب نوع ها ازکیت های مخصوص

SuperScript III Platinum, Quantitive Real Time PCR System از شرکت Invitrogen و دستگاه Rotorgenes System 6000 از کشور استرالیا و با استفاده از پروتکل خاص و پروب و پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) استفاده شد. پروب و پرایمرهای استفاده شده همگی از شرکت Metabion آلمان و با سفارش مرکز آنفلوآنزای ایران بوده است.

یافته ها

در بررسی حاضر که طی سال های ۱۳۹۲-۱۳۹۱ انجام شده است، از مجموع ۸۷۸ نمونه های بیمار با علائم آنفلوآنزا که از نقاط مختلف استان مازندران به آزمایشگاه آنفلوآنزا ارسال شده است، ۴۰۰ نفر (۴۵/۵۵٪) مرد و ۴۷۸ نفر (۵۴/۴۴٪) زن بوده که میانگین سنی بیماران ۱۳/۶-/+ ۳۹/۸ سال (در محدوده سنی ۶ ماه تا ۸۲ سال) بوده است. در این مطالعه تعداد ۴۹ نفر (۵/۵۸٪) از نظر آنفلوآنزای نوع B مثبت گزارش شده که از تعداد موارد مثبت، ۲۷ نفر (۵۵/۱۰٪) زن و ۲۲ نفر (۴۴/۸۹٪) مرد بوده اند. بیشترین نمونه بیماران با علائم آنفلوآنزا مربوط به گروه سنی ۳۰-۲۱ سال بوده که بیش از ۲۴ درصد از نمونه ها مربوط به این گروه بوده است در حالیکه بیشترین نمونه از نظر آنفلوآنزای نوع B مثبت مربوط به گروه های سنی ۴۰-۳۱ و ۶۰-۵۱ سال که هر کدام با بیش از ۲۰ درصد در بین نمونه های آنفلوآنزای نوع B مثبت بوده است. در بررسی حاضر بیشترین نمونه‌های بیمار با علائم آنفلونزا مربوط به گروه سنی ۳۰-۲۱ سال با ۲۴/۷۲ درصد بوده و کمترین نمونه مربوط به گروه های سنی ۶۰-۵۱، ۲۰-۱۱ و بالاتر از ۷۰ سال به ترتیب ۹/۲۳، ۹/۵۷ و ۹/۹۱ درصد بوده است. بیشترین موارد آنفلونزای نوع B مثبت در کل بیماران مربوط به گروه های سنی ۴۰-۳۱ و ۶۰-۵۱ سال بوده که هر کدام ۲۰/۴۱ درصد گزارش شده است و کمترین موارد مثبت آنفلونزای نوع B مربوط به گروه های سنی بالای ۷۰ سال بوده که هیچ مورد مثبتی گزارش نشده است. همچنین در این بررسی مشخص شد که بیشترین موارد مثبت آنفلونزای نوع B نسبت به نمونه های گروه های سنی مربوط به گروه های سنی ۶۰-۵۱ و ۴۰-۳۱ سال که به ترتیب ۱۲/۳۵ و ۹/۲۶ درصد گزارش شده و کمترین موارد مثبت آنفلونزای نوع B مربوط به گروه های سنی ۷۰-۶۱ و بالای ۷۰ سال بوده که به ترتیب با ۲/۸۰ و ۰ درصد بوده است (جدول ۲). در بررسی انجام شده در سال ۱۳۹۱، از تعداد کل ۵۱۶ نفر، تعداد ۲۳۲ مرد (۴۴/۹۶٪) و ۲۸۴ زن (۵۵/۰۴٪) بوده اند که تعداد ۲۵ مورد (۴/۸٪) از نظر آنفلونزای نوع B مثبت گزارش شده که از این تعداد ۱۳ زن (۵۲٪) و ۱۲ مرد (۴۸٪) بوده اند. در سال ۱۳۹۲، از تعداد کل ۳۶۲ نفر، تعداد ۱۶۸ مرد (۴۶/۴۱٪) و ۱۹۴ زن (۵۹٪) بوده اند که تعداد ۲۴ مورد (۶/۶٪) مورد آنفلونزای نوع B مثبت وجود داشته است که از این تعداد ۱۴ زن (۵۸/۳٪) و ۱۰ مرد (۴۱/۷٪) بوده اند

جدول ۱- پروب و پرایمر های ویروس آنفلوآنزای نوع B جهت انجام تست RT PCR.

نام پروب و پرایمر	سکانس	رفرنس استخراج شده
Inf B Forward	5'-GAG ACA CAA TTG CCT ACC TGG TT-3'	Metabion آلمان
Inf B Reverse	5'-TTC TTT CCC ACC GAA CCA AC-3'	Metabion آلمان
Inf B Probe	5'- AGA TGG AGA AGG CAA AGC AGA ACT AGC-3'	Metabion آلمان

جدول ۲- فراوانی بیماران با علائم آنفلوآنزا و میزان شیوع آنفلوآنزای تایپ B برحسب سن

سن	بیماران با علائم آنفلوآنزا(٪)	موارد مثبت آنفلوآنزای B نسبت به کل نمونه ها	موارد مثبت آنفلوآنزای B نسبت به همان گروه سنی
تا ۱۰ سال	۱۰۱ (٪۱۱/۵۰)	۵ (٪۱۰/۲۰)	٪٤/۹۵
۲۰- ۱۱	۸٤ (٪۹/۵۷)	۷ (٪۱٤/۲۹)	٪۸/۳۳
۳۰- ۲۱	۲۱۷ (٪۲٤/۷۲)	۸ (٪۱٦/۳۳)	٪۳/٦۹
٤۰- ۳۱	۱۰۸ (٪۱۲/۳۰)	۱۰ (٪۲۰/٤۱)	٪۹/۲٦
۵۰- ٤۱	۹۳ (٪۱۰/۵۹)	٦ (٪۱۲/۲٤)	٪٦/٤۵
٦۰- ۵۱	۸۱ (٪۹/۲۳)	۱۰ (٪۲۰/٤۱)	٪۱۲/۳۵
۷۰- ٦۱	۱۰۷ (٪۱۲/۱۹)	۳ (٪٦/۱۲)	٪۲/۸۰
بالای ۷۰	۸۷ (٪۹/۹۱)	۰ (٪۰)	۰ (٪۰)
جمع	۸۷۸ (٪۱۰۰)	٤۹ (٪۱۰۰)	٪۵/۵۸

بحث

در مطالعه انجام شده از مجموع ۲۵۸ نمونه ، میزان شیوع ویروس آنفلوآنزای B حدود ۱/۵۶ درصد (۸) گزارش شده است و در مطالعه دیگر میزان شیوع ویروس آنفلوآنزای B حدود ۲/۵ درصد (۹) گزارش شده است که در مقایسه با یافته های ما خیلی کمتر بوده است. در مطالعه دیگر از مجموع ۱۲۲ نمونه بیماران در سنین کودکی با علائم آنفلوآنزا، میزان شیوع ویروس آنفلوآنزای B حدوداً ۱۲ درصد گزارش گردیده است (۱۰) که این یافته بیش از دوبرابر یافته های ما بوده است. در بررسی انجام شده بیشترین موارد مربوط به گروه سنی بالای ۶۰ سال گزارش شده است (۹) در حالیکه در بررسی ما بیشترین موارد گزارش شده مربوط به گروه های سنی ۴۰-۳۱ و ۶۰-۵۱ سال بوده است. بررسی ها نشان می دهد که میزان شیوع ویروس آنفلوآنزای B در مناطق مختلف متفاوت می باشد. بیماری آنفلوآنزا باعث ایجاد مشکلات حاد در سلامت افراد می گردد و بخاطر عواقب وخیم آن بویژه نزد سالخوردگان و افراد مبتلا به ناراحتی های مزمن بایست این آلودگی را جدی تلقی کرد لذا رعایت نکات بهداشتی فردی از سوی بیماران از جمله اجتناب از حضور در اماکن در موقع اپیدمی، شستشوی مداوم دست ها، استفاده از دستمال هنگام سرفه و عطسه و آموزش های لازم مهمترین راه برای جلوگیری از شیوع آنفلوآنزا می باشد. همچنین استفاده از واکسن تری والان آنفلوآنزا و ایجاد ایمنی فعال در مقابل ویروس لذا می توان افراد را در برابر این بیماری ایمن نمود و در صورت لزوم با استفاده از داروی مناسب می توان افراد آلوده را درمان کرد.

نتیجه گیری

: با توجه به شیوع ویروس آنفلوآنزای تایپ ب که هر ساله باعث اپیدمی در جامعه می گردد و درصدی از افراد جامعه را آلوده می کند و همچنین با توجه به عدم تغییرات ژنتیکی و یا تغییرات ژنتیکی بسیار محدود لذا برای ایجاد ایمنی بر علیه ویروس آنفلوآنزای تایپ ب می توان از واکسن مناسب و برای درمان آن از دارو های موثر جهت کنترل استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

با تشکر از معاونت محترم تحقیقات و کارکنان زحمتکش مراکز بهداشتی درمانی استان که در انجام این پژوهش ما را یاری نموده اند. این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی (طرح تحقیقاتی شماره ۹۵-۹۰) خانم انتظار حسینی دانشجوی پزشکی می باشد.

References

1. Brankston G, Gitterman L, Hirji Z, Lemieux C, Gardam M. *Transmission of influenza A in human beings*. Lancet Infect Dis. 2007; 7(4): 257-65.

2. World Health Organization, Influenza (Seasonal). April 2009. Retrieved 2010-02-13.

3. Wright PF, Webster RG. *Orthomyxoviruses.* In Fields Virology. 4thed. 2001; 1533-1579.

4. Osterhaus A, Rimmelzwaan G, Martina B, Bestebroer T, Fouchier R. "*Influenza B virus in seals*". Science. 2000; 288(5468): 1051-3.

5. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, et al. *Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls.* J Virol. 2005; 79(5): 2814-22.

6. Shorman M, Moorman JP. *Clinical manifestations and diagnosis of influenza*. South Med J. 2003; 96(8): 737e9.

7. Drexler JF, Helmer A, Kirberg H, Reber U, Panning M, Muller M, et al. *Poor clinical sensitivity of rapid antigen test for influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus.* Emerg Infect Dis 2009; 15(10): 1662e4.

8. Sobolev I, Kurskaya O, Susloparov I, Ilyicheva T, Shestopalov A. *Molecular genetic analysis of influenza A/H3N2 virus strains isolated in Western Siberia in the 2010–2011 epidemic season.* Infection, Genetics and Evolution. 2012;12(8):1694-8. doi: 10.1016/j.meegid.2012.07.014.

9. Calistri-A, Salata C, Cosentino M, Asnicar S, Franchin E, Cusinato R, et al. *Report of two cases of influenza virus A/H1N1v and B co-infection during the 2010/2011 epidemics in the Italian Veneto Region.* Virology journal. 2011; 8: 502 .

10. Agoritsas K, Mack K, Bonsu BK, Goodman D, Salamon D, Marcon MJ. *Evaluation of the Quidel QuickVue test for detection of influenza A and B viruses in the pediatric emergency medicine setting by use of three specimen collection methods*. J Clin Microbiol. 2006; 44(7): 2638-41

Prevalence of Influenza B Virus in Flu Patients Referring to Health Centers in Mazandaran Province, Iran, 2011- 2013

Haghshenas, MR. (PhD)
Associated professor of Virology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Hosseini, E.
Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Babamahmoodi, F.(PhD)
Professor of Infectious Disease, Antimicrobial Resistance Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari Iran

Nandoust-Kenari, Sh.(MSc)
MSc of Microbiology, Influenza Lab, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari Iran

Tabrizi, A. (BSc)
BSc of Laboratory, Influenza Lab, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari Iran

Corresponding Author:
Haghshenas, MR

Email:haghshenas2001@yahoo.com

Received: 14 Aug 2014
Revised: 11 Sep 2014
Accepted: 21 Sep 2014

Abstract

Background and Objective: Influenza is an acute respiratory infection caused by Influenza virus with three kinds of A, B and C . This virus spreads througout the world and produce some epidemics with different intensities . This study aimed to determine the prevalence of influenza B in patients reffering to health centers.

Material and Methods: this study was conducted on 878 samples in 2011-2013. Using PureLink™ Viral RNA/DNA Kit, Influenza-RNA was extracted. Then Influenza B was distinguished by using SuperScript III Platinum, Quantitive Real Time PCR System from Invitrogen™ , specific primers and probs.

Results: the rate of Influenza B positive was %5.58 of the patients that %55.10 of them were female and %44.89 male. The highest rate was related to 31-40 and 51-60 year old patients.

Conclusion:
given the prevalence of influenza B virus and lack of genetic changes , it is recommended that a proper vaccine for improving immunty and effective drugs for treatmet be used.

Keywords: Influenza B Virus; Respiratory Tract Infections; Common Cold; RT-PCR

This paper should be cited as: Haghshenas MR, Hosseini E, Babamahmoodi F, Nandoust-Kenari Sh, Tabrizi A. [Prevalence of Influenza B Virus in Flu Patients Referring to Health Centers in Mazandaran Province, Iran, 2011- 2013]. mljgoums. 2015; 9(3): 122-127[Article in Persian]