ORIGINAL ARTICLE

Prevalence of Influenza A/H1N1 Virus in North of Iran, 2013 to 2017

Mohammad-Reza Haghshenas[1],
Pedram Mousanejad[2],
Mohsen Aarabi[3],
Mehdi Rabie-Rudsari[4],
Sohail Rasouli-Larmaei[4]

[1] Professor, Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Epidemiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] MSc in Virology, Influenza Lab, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 12, 2019 ; Accepted September 1, 2019)

Abstract

Background and purpose: Influenza viruses annually spread around the world in seasonal epidemics. The A/H1N1 virus causes more severe conditions compared to other types of Influenza A. This study is an epidemiological survey of influenza A/H1N1 virus in patients attending health care centers in north of Iran during 2013-2017.

Materials and methods: Sampling was done in 3037 patients. Influenza-RNA was extracted from the samples using Viral RNA/DNA Kit PureLink™. Identification of influenza A/H1N1 virus was done using special primers and probes (Invitrogen), and Quantitative Real Time PCR System (SuperScript III Platinum).

Results: The samples were obtained from both males (39.9%) and females (60.1%). Patients aged 31-40 years of old included the majority of samples. Influenza A/H1N1 positive samples were seen more in patients aged 61-70 (18.51%) (14.55%). Out of the 442 confirmed cases of influenza A/H1N1, 23 (5.88%) deaths were reported.

Conclusion: Influenza A virus is constantly evolving by mutation or by reassortment. It evolves rapidly, and new strains quickly replace the older ones, therefore, new vaccines should be developed for immunization against new strains of influenza.

Keywords: Influenza viruses, influenza A/H1N1, acute respiratory infection, common cold, RT-PCR

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (177): 148-156 (Persian).

*** Corresponding Author: Mohammad-Reza Haghshenas -** Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: haghshenas2001@yahoo.com)

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره ۱۷۷ مهر سال ۱۳۹۸ (۱۵۶-۱۴۸)

شیوع ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 در نمونه های بیماران با علائم آنفلوانزا در شمال ایران طی سال های ۱۳۹۶-۱۳۹۲

محمدرضا حق شناس [۱]
پدرام موسی نژاد [۲]
محسن اعرابی [۳]
مهدی ربیعی-رودسری [۴]
سهیل رسولی-لارمائی [۴]

چکیده

سابقه و هدف: ویروس آنفلوآنزا عامل عفونت حاد تنفسی است که هر ساله منجر به همه‌گیری با شدت متفاوت در جامعه می‌شود. ویروس آنفلوآنزای تایپ A ساب تایپ (A/H1N1) بیماری شدیدتری نسبت به سایر ساب تایپ‌های آنفلوآنزای نوع A ایجاد می کند. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ویروس آنفلوآنزای A/H1N1 در بیماران مراجعه کننده به مراکز بهداشتی و درمانی استان مازندران انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی- مقطعی، نمونه‌گیری از ۳۰۳۷ بیمار طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۲ انجام شد. که در آن با استفاده از کیت تجاری Viral RNA/DNA Kits PureLinkTM ، استخراج RNA صورت گرفت و توسط کیت‌های مخصوص SuperScript III Platinum, Quantitative Real Time PCR System از شرکت Invitrogen و پرایمرها و پروب اختصاصی و تست Real Time PCR ، تشخیص ویروس آنفلوآنزای A/H1N1 انجام گرفت.

یافته‌ها: از مجموع ۳۰۳۷ نمونه های بیمار، ۶۰/۱ درصد زن و ۳۹/۹ درصد مرد که از این تعداد ۴۴۲ نمونه‌ها (۱۴/۵۵درصد) از نظر ویروس آنفلوآنزای A/H1N1 مثبت بوده است. بیش‌ترین نمونه بیماران با گروه سنی ۴۰-۳۱ سال با ۱۸/۳۱ درصد بود ولی بیش‌ترین نمونه‌ها از نظر وجود ویروس آنفلوآنزای A/H1N1 مربوط به گروه سنی ۷۰-۶۱ سال با ۱۸/۵۱ درصد بوده است. از مجموع ۴۴۲ نمونه مثبت افراد مبتلا به آنفلوآنزای A/H1N1، ۲۳ نفر (۵/۸۸ درصد) فوت شده‌اند.

استنتاج: ویروس آنفلوآنزای تایپ A، که امکان تغییرات ژنتیکی در ساختمان ژنتیکی آن وجود دارد و هر ساله می‌تواند باعث ایجاد اپیدمی و پاندمی در جامعه گردد در نتیجه برای مقابله با آن می‌توان از داروها و واکسن‌های مناسب استفاده نمود.

واژه های کلیدی: تایپ های ویروس آنفلوآنزا، ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1، عفونت حاد تنفسی، سرماخوردگی، RT-PCR

مقدمه

آنفلوانزا یک بیماری عفونی حاد تنفسی است که در اثر آلودگی به ویروس‌های آنفلو آنزا ایجاد می‌شود(۱). ویروس‌های آنفلوانزا از طریق قطرات تنفسی و توسط عطسه و یا سرفه از شخصی به شخص دیگر

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۱۲۴۷ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مولف مسئول: محمدرضا حق شناس- ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی E-mail: haghshenas2001@yahoo.com
۱. استاد، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. استادیار، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. کارشناس ارشد آزمایشگاه، آزمایشگاه آنفلوآنزا، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۸/۳/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۸/۳/۲۲ تاریخ تصویب : ۱۳۹۸/۶/۱۰

منتقل می‌شود و هر ساله همه‌گیری‌هایی با شدت متفاوت در مناطق مختلف و بیش‌تر در فصل سرما اتفاق می‌افتد و سالیانه ۱۵- ۵ درصد از جمعیت را آلوده می‌کند. عامل بیماری آنفلوآنزا در اپیدمی‌های فصلی در سرتاسر دنیا منتشر می‌شود که سالانه منجر به مرگ هزاران نفر و گاهی در موارد پاندمی منجر به مرگ میلیون‌ها نفر می‌شود(۲). ویروس‌های آنفلوآنزا دارای ژنوم RNA تک رشته ای چند قطعه‌ای با پولاریته منفی و پوشش دار و از خانواده ارتومیکسو ویریده می‌باشند. ویروس‌های این خانواده از لحاظ ترکیبات ساختمانی (ماتریکس پروتئین و نوکلئوپروتئین) به تایپ‌های A، B و C طبقه‌بندی می‌شوند که همه این تایپ‌ها از نظر ساختمانی شبیه به‌هم بوده و دارای پوشش لیپیدی که حاوی دو گلیکوپروتئین سطحی به نام‌های هماگلوتینین (H) و نورامینیداز (N) می‌باشند(۳). ترکیبات H و N از آنتی‌ژن‌های مهم ویروس‌های این گروه بوده که نقش ایمنی میزبان را در همه تایپ‌ها تعیین می‌کند، و همچنین امروزه این ترکیبات هدف داروهای آنتی‌ویروسی می‌باشند. براساس ترکیبات سطحی هماگلوتینین و نوروآمینیداز ویروس‌های آنفلوانزای تایپ B و C تنها دارای یک نوع سر و تایپ هستند و در حالی که ویروس آنفلوانزای تایپ A بر اساس هماگلوتینین دارای ۱۶ سروتایپ و براساس نورآمینیداز دارای ۹ سروتایپ هستند که اغلب موارد بیماری آنفلوآنزا در انسان از نوع آنفلوآنزای تایپ A می‌باشد(۶-۴). ویروس آنفلوآنزای تایپ A در انسان و حیوانات از جمله خوک، اسب و گونه مختلف طیور قابلیت عفونت‌زائی را دارا می‌باشد(۷،۳). ویروس آنفلوآنزای تایپ A یک ویروس ناپایداری است که در ساختمان ژنتیکی آن امکان تغییر وجود دارد و این تغییرات ممکن است جزئی و یا گسترده باشد که در نتیجه آن ممکن است منجر به پدیدآمدن ویروس جدید که توان بیماریزایی بیش‌تر را داشته و می‌تواند باعث همه‌گیری جهانی شود(۸). ویروس آنفلوآنزای تایپ A در قرن بیستم با ایجاد پاندمی‌های متعدد که هرکدام از آن‌ها به دلیل تغییرات آنتی‌ژن‌های H و N بوده است، موجب پدیدآمدن یک ساب تایپ جدید از ویروس آنفلوآنزای تایپ A گردید که منجر به مرگ ده ها میلیون نفر در دنیا گشته است. ویروس آنفلوآنزای تایپ A ساب تایپ H1N1 اولین بار در آوریل ۲۰۰۹ (فروردین ۱۳۸۸) در اثر آلودگی خوک که با قدرت و شکل بیماریزایی متفاوت از تایپ‌های فصلی، در مکزیک و چند ایالت آمریکا گزارش شد و سپس به‌سرعت در اغلب کشورها شیوع پیدا کردکه سازمان بهداشت جهانی بعد از دو ماه از اولین گزارش بیماری اعلام کرد که این بیماری به صورت همه‌گیری جهانی در آمده است(۱۲-۹). در بررسی انجام شده از ماه می تا دسامبر سال ۲۰۰۹، از ۳۶۷۲ مورد مبتلا به ویروس آنفلوآنزای تایپ A ساب تایپ H1N1 در ایران، ۱۴۰ نفر (۳/۸ درصد) و در بررسی دیگر از مارچ ۲۰۱۵ تا مارچ ۲۰۱۶، از ۴۲۸ مورد مبتلا به ویروس آنفلوآنزای تایپ A ساب تایپ H1N1، ۲۳ مورد (۵/۳ درصد) فوت شده‌اند(۱۴،۱۳).

ارزیابی بالینی در تشخیص ویروس آنفلوآنزای A/H1N1 بسیار مهم است و بسیاری از افراد مبتلا، دارای علائم بالینی، تب بالا، لرز، سرفه، گلو درد، سر درد، دردهای عضلانی، بی‌حالی و بی‌اشتهایی و آبریزش بینی و تهوع بوده، و تشخیص قطعی این ویروس جدا کردن ژنوم آن در نمونه‌های حلق و بینی و با استفاده از تست RT-PCR می‌باشد(۱۶-۱۳). استفاده از تست سریع درتشخیص ویروس آنفلوآنزا از حساسیت بالایی برخوردار نبوده و نمی‌تواند بین ساب تایپ‌های ویروس آنفلوآنزای تایپ A تمایز دهد(۱۸،۱۷). در بررسی انجام شده شیوع ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 در مناطق مختلف و در زمان‌های مختلف متفاوت گزارش شده است. در مطالعه انجام شده در کشور پرتغال میزان شیوع ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 ۵۴/۴ درصد، در مطالعه انجام شده در کشور عربستان میزان شیوع ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 ۲۸/۴ درصد و در مطالعه انجام شده طی سال‌های ۱۳۹۳-۱۳۹۱ در ایران میزان شیوع

ویروس آنفلوآنزای تایپA و ساب تایپ A/H1N1 به ترتیب ۱۸/۵۵ و ۱۵/۰۴ درصد گزارش شده است(۲۲-۱۹). این بررسی‌ها نشان می‌دهد با گذشت زمان از موقع پدید آمدن ویروس آنفلوآنزای تایپA ساب تایپ H1N1 میزان شیوع آن کاهش یافته است. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 در نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه آنفلوآنزای استان مازندران در بیماران مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی- درمانی در شهرهای مختلف مازندران با استفاده از تست Real Time PCR طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۲ انجام شده است.

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی- مقطعی، جامعه مورد مطالعه شامل بیماران با علائم آنفلوآنزا مراجعه کننده به مراکز درمانی استان مازندران طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۲ بوده است. در این مطالعه نمونه گیری از ۸۷۸ بیمار با علائم آنفلوآنزا جهت تشخیص ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 انجام شد. از بیماران مشکوک به آنفلوآنزا به‌وسیله سوآپ داکرون از ناحیه نازوفارنکس و یا با استفاده از مایع اختصاصی و قرقره از گلو و با رعایت اصول ایمنی نمونه‌گیری انجام شد و با رعایت اصول زنجیره سرما به آزمایشگاه آنفلوآنزا جهت تشخیص ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 منتقل گردید و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۸۰°c -نگهداری شد. اطلاعات لازم شامل سن و جنس و محل زندگی از طریق پرسشنامه از بیماران جمع‌آوری گردید.

استخراج RNA

جهت استخراج RNA از نمونه‌های بیماران با استفاده از کیت PureLink™ Viral RNA/DNA Kits از شرکت Invitrogen انجام شد. در این مرحله ۲۵ µl پروتئیناز را به تیوپ‌های سانتریفیوژ استریل اضافه گردید و سپس ۲۰۰ µl از نمونه بیمار و هم حجم آن محلول Lysis Buffer به آن اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه با ورتکس مخلوط شد. محلول فوق را در دمای ۵۶ °C به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه و سپس به مدت ۳-۲ ثانیه سانتریفیوژ گردید تا تمام نمونه در انتهای تیوپ قرار گیرد. به محلول فوق ۲۵۰ µl الکل ۱۰۰-۹۶ درصد اضافه شد و سپس به مدت ۱۵ ثانیه با ورتکس آن را مخلوط و محلول فوق به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵۶ °C انکوبه گردید. ۶۷۵ µl از محلول حاصل را به تیوپ‌های Viral Spin C که حاوی فیلتر مخصوص است اضافه شد و سپس در دور ۶۸۰۰ g به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ گردید. ستون حاوی فیلتر مخصوص را به میکروتیوپ دیگر منتقل و با استفاده از محلول Wash Buffer به میزان ۵۰۰ µl دو بار عمل شستشو انجام شد و در دور ۶۸۰۰ g به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس محلول داخل تیوپ را دور ریخته و با استفاده از سانتریفیوژ و با دور بالا خشک گردید. فیلتر مخصوص Viral Spin C را در تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری موجود در کیت قرار داده و سپس به میزان ۵۰ µl آب مقطر استریل یا RNase free water به مرکز ستون حاوی فیلتر مخصوص اضافه شد، و به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق انکوبه و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور بالا سانتریفیوژ گردید. محلول حاصله که حاوی ژنوم می باشد با استفاده از اسپکتوفتومتر میزان ژنوم مشخص گردید و سپس در دمای ۸۰°C - جهت استفاده از تست Real Time PCR نگهداری شد.

انجام تست Real Time PCR

جهت تشخیص ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1، هر یک از نمونه های بیماران مراجعه کننده به مراکز درمانی استان مازندران به وسیله کیت‌های مخصوص Quantitive Real Time PCR System، SuperScript III Platinum از شرکت Invitrogen و دستگاه Rotorgenes System 6000 از کشور استرالیا، و با استفاده از پروتکل خاص و پروب و پرایمرهای اختصاصی تست Real Time PCR انجام شد. پروب و

پرایمرهای استفاده شده همگی از شرکت Metabion آلمان و با سفارش مرکز آنفلوآنزای ایران بوده است (جدول شماره ۱). در این روش، مقدار ۱۰ µl از محلول 2x Reaction Mix، ۰/۴ µl از محلول Forward primer (40 UM)، ۰/۴ µl از محلول Reverse primer (40 UM)، ۰/۴ µl از محلول Probe (10 UM)، ۰/۴µl ازمحلول Super Script III RT/Platinum-Taq mix و ۵/۴ µl از محلول RNase-DNase Free water با هم مخلوط گردید و مقدار ۱۶ µl از محلول میکس شده به همراه ۴ µl ژنوم استخراج شده هر نمونه مخلوط شد. سپس حجم نهایی ۲۰ µl را با استفاده از دستگاه Rotorgenes System 6000 و پروتکل خاص تست Real Time PCR: ۱)- ۵۰°c به مدت ۳۰ دقیقه، ۲)- ۹۵°c به مدت ۲ دقیقه و ۳)- ۴۵ سیکل شامل، ۹۵°c به مدت ۱۵ ثانیه، ۵۵°c به مدت ۳۰ ثانیه در آزمایشگاه تشخیصی آنفلوآنزا در دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. پس از اتمام تست توسط دستگاه، نتایج حاصل با استفاده از برنامه خاص کامپیوتری مثبت و منفی بودن نمونه‌های بیماران به همراه نمونه‌های کنترل مورد ارزیابی قرار گرفت که CT زیر ۴۰ مثبت تلقی می‌گردد.

جدول شماره ۱: پروب و پرایمرهای ویروس آنفلوآنزای تایپ A و ساب تایپ A/H1N1 جهت انجام تست RT PCR

رفرنس استخراج شده	سکانس	نام پروب و پرایمر
Metabion آلمان	3'- GAC CAA TCC TGT CAC CTC TGA C -5'	Inf A Forward
Metabionآلمان	3'- AGG GCA TTC TGG ACA AAT CGT CTA -5'	Inf A Reverse
Metabionآلمان	3'-TGC AGT CCT CGC TCA CTG GGC ACG- 5'	Inf A Probe
Metabion آلمان	3'- GTG CTA TAA ACA CCA GCC TYC CA -5'	Inf H1 Forward
Metabionآلمان	3'- CGG GAT ATT CCT TAA TCC TGT RGC -5'	Inf H1 Reverse
Metabionآلمان	3'- CA GAA TAT ACA TCC RGT CAC AAT TGG ARA A -5'	Inf H1 Probe

یافته ها

در بررسی حاضر که طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۲ انجام شده است، از مجموع ۳۰۳۷ نمونه‌های بیمار با علائم آنفلوآنزا که از نقاط مختلف استان مازندران به آزمایشگاه آنفلوآنزا ارسال شده است، ۱۱۸۷ نفر (۳۹/۰۸ درصد) مرد و ۱۸۵۰ نفر (۶۰/۹۲ درصد) زن بوده است که در محدوده سنی ۱ سال تا ۹۱ سال بوده است. در این مطالعه تعداد ۴۴۲ نمونه (۱۴/۵۵ درصد) از نظر آنفلوآنزای تایپ A و ساب تایپ H1N1 مثبت گزارش گردید که از تعداد موارد مثبت، ۲۱۶ نمونه (۴۸/۸۷ درصد) مرد و ۲۲۶ نمونه (۵۱/۱۳ درصد) زن بوده‌اند (جدول شماره ۲). توزیع بین دو جنس از نظر میزان شیوع آنفلوآنزای A ساب تایپ H1N1 تفاوت آماری معنی‌دار نبوده است (P = ۰/۷۲۱).

جدول شماره ۲: فراوانی بیماران با علائم آنفلوآنزا و میزان شیوع آنفلوآنزای A/H1N1 بر حسب جنس در مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی استان مازندران طی سال های ۱۳۹۶-۱۳۹۲

جنس	A/H1N1 Positive تعداد (درصد)	A/H1N1 Negative تعداد (درصد)	کل تعداد (درصد)
مرد	۲۱۶ (۷/۱۱)	۹۶۶ (۳۲/۸۰)	۱۱۸۷ (۳۹/۰۸)
زن	۲۲۶ (۷/۴۴)	۱۶۲۹ (۵۳/۶۴)	۱۸۵۰ (۶۰/۹۲)
کل	۴۴۲ (۱۴/۵۵)	۲۵۹۵ (۸۵/۴۵)	۳۰۳۷ (۱۰۰)

بیش‌ترین نمونه‌های بیماران ارسالی به آزمایشگاه آنفلوآنزا مربوط به گروه سنی ۴۰-۳۱ سال ۱۸/۳۱ درصد و گروه‌های سنی ۳۰-۲۱ سال با ۱۷/۸۱ درصد و کم‌ترین نمونه‌های بیماران مربوط به گروه‌های سنی بالای ۸۰ سال با ۵/۵۰ درصد و سپس کم‌تر از ۱۰ سال با ۸/۶۹ درصد بوده است. در این بررسی بیش‌ترین نمونه از نظر آنفلوآنزای تایپ A ساب تایپ H1N1 مثبت مربوط به گروه‌های سنی ۷۰-۶۱ با ۲۳/۵۶ درصد و سپس گروه‌های سنی ۳۰-۲۱ سال با ۱۷/۱۹ درصد و کم‌ترین نمونه‌های بیماران مربوط به گروه‌های سنی بالای ۸۰ سال با ۳/۵۹ درصد و سپس کم‌تر از ۱۰ سال با ۸/۶۹ درصد بوده است (جدول شماره ۳).

بیش‌ترین نمونه‌های بیماران با علائم آنفلوآنزا به ترتیب مربوط به شهرستان بابل با ۲۱/۳۰ درصد، آمل با ۱۳/۲۰ درصد، قائم‌شهر با ۱۲/۹۱ درصد و ساری با ۱۰/۶۷ درصد بوده است در حالی‌که بیش‌ترین موارد مثبت ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 نسبت به نمونه‌های هر شهرستان به ترتیب مربوط به مناطق قائم‌شهر با ۲۴/۲۳ درصد، زیراب با ۱۹/۵۹ درصد، رامسر با ۱۹/۰۹

درصد و ساری با ۱۸/۵۲ درصد بوده است. بیش‌ترین موارد مثبت ویروس آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 نسبت به کل نمونه های مثبت آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 به ترتیب مربوط به شهرستان های قائمشهر با ۲۱/۴۹ درصد، بابل با ۱۷/۸۷ درصد، ساری با ۱۳/۵۷ درصد و آمل با ۹/۵۰ درصد بوده است (جدول شماره ۴).

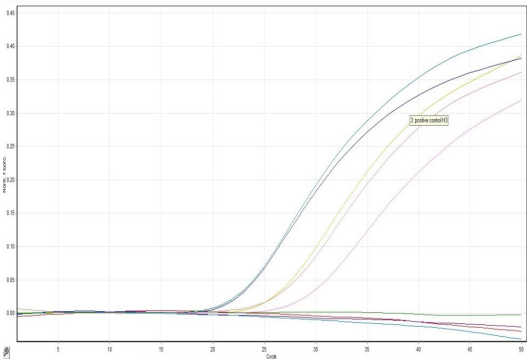
جدول شماره ۳: فراوانی بیماران با علائم آنفلوآنزا و میزان شیوع آنفلوآنزای A/H1N1 برحسب سن درمراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی درمانی استان مازندران طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۲

سن	بیمار با علائم آنفلوآنزا تعداد (درصد)	موارد مثبت آنفلوآنزای A/H1N1 نسبت به همان گروه تعداد (درصد)	موارد مثبت آنفلوآنزای A/H1N1 نسبت به کل نمونه های مثبت درصد
تا ۱۰ سال	(۸/۶۹)۲۶۴	(۹/۸۵)۲۶	۵/۸۸
۱۱-۲۰ سال	(۴/۱۲)۱۲۵	(۱۶/۸۰)۲۱	۴/۷۵
۲۱-۳۰ سال	(۱۷/۸۱)۵۴۱	(۱۷/۱۹)۹۳	۲۱/۰۴
۳۱-۴۰ سال	(۱۸/۳۱)۵۵۶	(۱۵/۱۱)۸۴	۱۹/۰۰
۴۱-۵۰ سال	(۸/۵۹)۲۶۱	(۱۱/۱۱)۲۹	۶/۵۶
۵۱-۶۰ سال	(۱۴/۶۸)۴۴۶	(۱۲/۱۱)۵۴	۱۲/۲۲
۶۱-۷۰ سال	(۱۳/۷۰)۴۱۶	(۲۳/۵۶)۹۸	۲۲/۱۷
۷۱-۸۰ سال	(۹/۱۹)۲۷۹	(۱۱/۱۱)۳۱	۷/۰۱
بالای ۸۰ سال	(۵/۵۰)۱۶۷	(۳/۵۹)۶	۱/۳۶
جمع	(۱۰۰)۳۰۳۷	(۱۴/۵۵)۴۴۲	۱۰۰

جدول شماره ۴: فراوانی بیماران با علائم آنفلوآنزا و میزان شیوع آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 به تفکیک شهرستان در مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی استان مازندران طی سال های ۱۳۹۶-۱۳۹۲

شهر	نمونه های مشکوک آنفلوآنزا تعداد (درصد)	تایپ A/H1N1 مثبت نسبت به نمونه های هر شهرستان تعداد (درصد)	تایپ A/H1N1 مثبت نسبت به کل نمونه های A/H1N1 مثبت (درصد)
گلوگاه	(۱/۹۸)۶۰	(۱۸/۳۳)۱۱	۲/۴۹
بهشهر	(۸/۵۹)۲۶۱	(۱۳/۰۳)۳۴	۷/۶۹
نکا	(۳/۰۳)۹۲	(۹/۷۸)۹	۲/۰۴
ساری	(۱۰/۶۷)۳۲۴	(۱۸/۵۲)۶۰	۱۳/۵۷
قائمشهر	(۱۲/۹۱)۳۹۲	(۲۴/۲۳)۹۵	۲۱/۴۹
جویبار	(۰/۴۹)۱۵	(۰)۰	۰
زیراب	(۴/۸۷)۱۴۸	(۱۹/۵۹)۲۹	۶/۵۶
پل سفید	(۲/۱۱)۶۴	(۱۴/۰۶)۹	۲/۰۴
بابل	(۲۱/۳۰)۶۴۷	(۱۲/۲۱)۷۹	۱۷/۸۷
بابلسر	(۱/۵۱)۴۶	(۶/۵۲)۳	۰/۶۸
آمل	(۱۳/۲۰)۴۰۱	(۱۰/۴۷)۴۲	۹/۵۰
محمودآباد	(۱/۸۴)۵۶	(۷/۱۴)۴	۰/۹۱
فریدونکنار	(۲/۵۷)۷۸	(۷/۶۹)۶	۱/۳۶
نور	(۲/۸۳)۸۶	(۱۰/۴۷)۹	۲/۰۴
نوشهر	(۱/۰۵)۳۲	(۶/۲۵)۲	۰/۴۵
چالوس	(۳/۱۶)۹۶	(۱۱/۴۶)۱۱	۲/۴۹
تنکابن	(۴/۲۵)۱۲۹	(۱۳/۹۵)۱۸	۴/۰۷
رامسر	(۳/۶۲)۱۱۰	(۱۹/۰۹)۲۱	۴/۷۵
جمع	(۱۰۰)۳۰۳۷	(۱۴/۵۵)۴۴۲	۱۰۰

در این بررسی، با استفاده از تست Real Time PCR و پروب‌های مناسب که از اولیگونوکلئوتیدهای رنگی فلورسینه و FAM بوده اند، استفاده شد. پس از شروع همانندسازی و قرار گرفتن پروب بر روی زنجیره که در دو طرف آن Quencher و Reporter قرار گرفته بود و با استفاده از آنزیم و بر اساس پروتکل مناسب قسمت Reporter شکسته شده که قبل از آن، از ساتع شدن نور فلورسانس جلوگیری می‌شد ولی پس از شکسته شدن توسط آنزیم و رها شدن آن نور فلورسانس ساتع می شود که به صورت نمودار بر روی مانیتور مشخص شده است. در این نمودار نمودارهای که قبل از سیکل ۴۰ ایجاد شده باشند مثبت و بعد از آن منفی گزارش شده است. نمودار شماره ۱، تست Real Time PCR در بیماران آنفلوآنزای A/H1N1 مثبت با استفاده از پروب‌های نشاندار را نشان می‌دهد.



نمودار شماره ۱: نمودارتست Real Time PCR در بیماران آنفلوآنزای A/H1N1 مثبت با استفاده از پروب های نشاندار

بحث

ویروس آنفلوآنزا عامل عفونت حاد تنفسی است که هر ساله همه‌گیری‌هایی با شدت متفاوت در سراسر دنیا ایجاد می‌کند(۱). این ویروس سالانه با آلوده کردن با ۱۵- ۵ درصد از جمعیت، منجر به مرگ هزاران نفر و گاهی در موارد پاندمی منجر مرگ میلیون‌ها نفر در دنیا می‌شود(۲). ویروس آنفلوانزای تایپ A دارای ساب تایپ‌های متفاوت بوده که انسان، حیوانات و پرندگان به عنوان میزبانان این ویروس می‌باشند(۷،۳). این ویروس دارای ژنوم RNA تک رشته‌ای بوده که ساختمان ژنتیکی

آن مدام در حال تغییر می‌باشد و به دلیل تغییر در ساختمان پروتئین‌های سطحی هر ساله تایپ‌های جدیدی از آن پدید می‌آید که می‌تواند خصوصیات متفاوتی داشته باشد(۸).

در بررسی حاضر که طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۲ انجام شده است، از مجموع ۳۰۳۷ نمونه‌های بیمار با علائم آنفلوآنزا که از شهرهای مختلف استان مازندران به آزمایشگاه آنفلوآنزا ارسال شده، ۱۱۸۷ نفر (۳۹/۰۸ درصد) مرد و ۱۸۵۰ نفر (۶۰/۹۲ درصد) زن بوده است. براساس مطالعات متعدد، تعداد افراد مراجعه کننده به مراکز بهداشتی و درمانی و همچنین نمونه‌های ارسالی به آزمایشگاه، آنفلوآنزا در زنان بیش‌تر از مردان بوده است. در مطالعه حاضر نیز همانند مطالعات قبلی فراوانی ابتلای زنان بیش‌تر از مردان بوده است(۲۳-۲۱). در این مطالعه تعداد۴۴۲ نمونه (۱۴/۵۵ درصد) از نظر ویروس آنفلوآنزای تایپ A و ساب تایپ H1N1 مثبت گزارش شد که از تعداد موارد مثبت، ۲۱۶ نمونه (۴۸/۸۷ درصد) مرد و ۲۲۶ نمونه (۵۱/۱۳ درصد) زن بوده‌اند. در بررسی‌های انجام شده میزان شیوع آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 در پرتغال ۵۴/۴ درصد، عربستان ۲۸/۴ درصد بیش از یافته‌های مطالعه حاضر بوده است که به‌نظر می‌رسد دلیل انتشار بیش‌تر این ویروس، در نتیجه مسافرت‌های بیش‌تر باشد(۱۹،۲۰). در بررسی‌هایی که انجام پذیرفت، میزان شیوع آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 در ایران ۱۵/۰۴ درصد بوده است که مشابه یافته‌های مطالعه حاضر می‌باشد(۲۱). علت این تشابه، شباهت انتشار و برنامه‌های زندگی افراد می‌باشد. در بررسی‌های انجام شده میزان شیوع آنفلوآنزای تایپ A/H1N1 در تایوان ۸/۴۳ درصد بود که کم‌تر از یافته‌های به‌دست آمده در مطالعه‌ی حاضر بوده است(۱۹). در بررسی‌های انجام شده در عربستان و ایران، ویروس آنفلوآنزای تایپ A ساب تایپ H1N1 باعث مرگ و میر در افراد آلوده شده است که مشابه یافته‌های مطالعه حاضر بوده، و میزان آن در گزارش‌ها متفاوت بوده است(۲۰،۲۲). در بررسی‌های انجام شده در تایوان متفاوت با مطالعه حاضر، هیچ مورد مرگ و میر در اثر ابتلا به ویروس آنفلوآنزای تایپ A ساب تایپ H1N1، گزارش نشد(۲۴). بیماری آنفلوآنزا، با ایجاد مشکلات حاد در سلامت افراد، و به خاطر عواقب وخیم به ویژه در سالخوردگان و افراد مبتلا به ناراحتی‌های مزمن، باید جدی تلقی گردد و با رعایت نکات بهداشتی فردی از سوی بیماران از جمله اجتناب از حضور در اماکن در موقع اپیدمی، شستشوی مداوم دست‌ها، استفاده از دستمال هنگام سرفه و عطسه و آموزش‌های لازم به افراد درگیر، که مهم‌ترین راه برای جلوگیری از شیوع آنفلوآنزا می‌باشد، ازمیزان شیوع آن کاست. ویروس‌های آنفلوآنزای تایپ A به علت آن که امکان تغییرات ژنتیکی در ساختمان آن فراوان می‌باشد و هر ساله می‌تواند باعث ایجاد اپیدمی و برخی از زمان‌ها ایجاد پاندمی در جامعه گردد، در نتیجه برای ایجاد ایمنی فعال در برابر آلودگی به این ویروس، می‌توان از واکسن‌های مناسب بر علیه تایپ‌های جدید و از داروهای مناسب برای درمان بیماری استفاده نمود.

سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و کارکنان زحمتکش مراکز بهداشتی درمانی استان که در انجام این مطالعه یاری نموده‌اند، متشکریم. این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی آقای پدرام موسی نژاد دانشجوی پزشکی (طرح تحقیقاتی شماره ۱۲۴۷) می‌باشد.

References

1. Brankston G, Gitterman L, Hirji Z, Lemieux C, Gardam M. Transmission of influenza Ain human beings. Lancet Infect Dis 2007; 7(4): 257-265.
2. World Health Organization. Influenza (Seasonal), Ask the expert: Influenza Q&A. Nov. 2018. Available from: https://www. who.int/news-room/fact-sheets/detail/influen za-(seasonal).

Accessed May 2, 2019.

3. Christman MC, Kedwaii A, Xu J, Donis RO, Lu G. Pandemic (H1N1) 2009 virus revisited: an evolutionary retrospective. Infect Genet Evol 2011; 11(5): 803-811.
4. Osterhaus AD, Rimmelzwaan GF, Martina BE, Bestebroer TM, FouchierRA. Influenza B virus in seals. Science 2000; 288(5468): 1051-1053.
5. Taubenberger JK, Morens DM. The pathology of influenza virus infections. Annu Rev Pathol 2008; 3: 499-522.
6. 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): 2814-2822.
7. Crawford PC, Dubovi EJ, Castleman WL, Stephenson I, Gibbs EP, Chen L, et al. Transmission of equine influenza virus to dogs. Science 2005; 310(5747): 482-485.
8. Roxas M, Jurenka J. Colds and influenza: a review of diagnosis and conventional, botanical, and nutritional considerations. Altern Med Rev 2007; 12(1): 25-48.
9. Kilbourne ED. Influenza pandemics of the 20th century. Emerg Infect Dis 2006; 12(1): 9-14.
10. Neumann G, Noda T, Kawaoka Y. Emergence and pandemic potential of swineorigin H1N1 influenza virus. Nature 2009; 459(7249): 931-939.
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Evaluation of rapid influenza diagnostic tests for detection of novel influenza A (H1N1) Virus-United States, 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58(30): 826-829.
12. Lange E, Kalthoff D, Blohm U, Teifke JP, Breithaupt A, Maresch C, et al. Pathogenesis and transmission of the novel swine-origin influenza virus A/H1N1 after experimental infection of pigs. J Gen Virol 2009; 90(Pt 9): 2119-2123.
13. Babamahmoodi F, Ahangarkani F, Davoudi AR, Afzalian Ashkezari E, Davoodi L. Survey of Mortality Due to Influenza A in North of Iran, 2015-2016. Cur Respirat Med Rev 2017; 13(2): 110-114.
14. Gouya MM, Nabavi M, Soroush M, Haghdoust AA, Ghalehee S, Hemmati P, et al. Mortality from Pandemic Influenza A (H1N1) in Iran. Iran Red Crescent Med J 2011; 13(10): 698-701 (Persian).
15. Beigel JH. Influenza. Crit Care Med 2008; 36(9): 2660-2666.
16. Shorman M, Moorman JP. Clinical manifestations and diagnosis of influenza. South Med J 2003; 96(8): 737-739.
17. Crum-Cianflone NF, Blair PJ, Faix D, Arnold J, Echols S, Sherman SS, et al. Clinical and epidemiologic characteristics of an outbreak of novel H1N1 (swine origin) influenza A virus among United States military beneficiaries. Clin Infect Dis 2009; 49(12): 1801-1810.
18. Drexler JF, Helmer A, Kirberg H, Reber U, Panning M, Müller M, et al. Poor clinical sensitivity of rapid antigen test for influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus. Emerg Infect Dis 2009; 15(10): 1662-1664.
19. Malveiro D, Flores P, Sousa E, Guimarães JC. The 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection: experience of a paediatric service at a third-level hospital in Lisbon, Portugal. Rev Port Pneumol 2012; 18(4): 175-181.
20. Al-Tawfiq JA, Abed M, Saadeh BM, Ghandour J, Shaltaf M, Babiker MM. Pandemic influenza A (2009 H1N1) in hospitalized patients in a Saudi Arabian hospital: epidemiology and

clinical comparison with H1N1-negative patients. J Infect Public Health 2011; 4(5-6): 228-234.

21. Haghshenas MR, Asgari A, Babamahmoodi F, Rezai MS, Tabrizee A, Nandoost Kenari S. Prevalence of Influenza A/H1N1 Virus in North of Iran (Mazandaran), 2009-2011. J Mazandaran Univ Med Sci.2013; 22(96): 50-57 (Persian).
22. Nandost Kenari S, Haghshenas M, Mirzaei M, Rezai MS, Tabrizee A. Prevalence of Influenza A Viruses in Patients with Flu Symptoms Attending Mazandaran Provinces Health Centers, 2009-2013. J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(119): 1-10 (Persian).
23. Haghshenas MR, Babamahmoodi F, Jafarian E, Tabrizi A, Nandoost Kenari S, Alizadeh-Navaei AR. Prevalence of Influenza A/H3N2 in the North of Iran (Mazandaran) During 2011-2013. Caspian J Intern Med 2015; 6(2): 116-119 (Persian).
24. Yang TH, Chu D, Hu BS, Hung YT, Chou P. Early experience of the pandemic influenza H1N1 2009 epidemic in Taiwan. J Chin Med Assoc 2011; 74(7): 298-304.