

بررسی فراوانی ادنو ویروس ها در عفونت های حاد سیستم تنفسی تحتانی کودکان در تهران طی سال های ۷۷-۷۸

شهاب مدرس (M.D.)*

علی اکبر رهبری منش (M.D.)**

سابقه و هدف : از آنجایی که ادنو ویروس ها می توانند یکی از مشکلات عمده بهداشتی کودکان را تشکیل دهند، و نیز به سبب عدم دسترسی به الگوی اپیدمیولوژیکی این عفونت که در بسیاری از مواقع به تصور باکتریایی بی جهت تحت درمان آنتی بیوتیکی قرار می گیرد، این پژوهش با هدف بررسی فراوانی ادنو ویروس ها در عفونت های حاد سیستم تنفسی تحتانی کودکان زیر ۱۴ سال در ۶ مرکز آموزشی و درمانی کودکان در تهران طی سال های ۷۷ الی ۷۸ طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش ها : به منظور انجام این مطالعه، از حلق و بینی ۲۳۱ کودک مراجعه کننده به مرکز آموزشی و درمانی کودکان تهران و با تشخیص کلینیکی عفونت های حاد سیستم تنفسی تحتانی توسط سواب پنبه ای نمونه تهیه و در محیط ترانسپورت Hank's جمع آوری گردید. نمونه ها پس از نگهداری در شرایط ۲۰- درجه سانتی گراد، در بخش ویروس شناسی انستیتو پاستور ایران با روش فلورسانت آنتی بادی جهت تفکیک ویروس مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته ها : در این بررسی ۹/۵ درصد از نمونه ها مثبت بودند. همچنین بیشترین اشکال بالینی عفونت تنفسی به

پنومونی (۶۸/۲ درصد) اختصاص داشت. بیشترین میزان عفونت (۶۳/۷ درصد) نیز در کودکان ۱ تا ۴ سال مشاهده شد که آزمون های آماری بین متغیر سن و ابتلا به عفونت ارتباط نشان دادند ($P < 0/005$). میزان عفونت در پسران بیش از دختران بوده و فاقد اختلاف معنی دار بود، اما میزان عفونت تنفسی در فصل سرد بیش از سایر فصول سال با اختلاف آماری معنی دار مشاهده گردید ($P < 0/001$).

استنتاج : با توجه به یافته های این تحقیق مبنی بر شایع تر بودن عفونت حاد تنفسی در کودکان ۱ تا ۴ سال و فصول سرد سال، پیشنهاد می شود پزشکان و پرستاران به ارایه آموزش به مادران جهت پیشگیری توجه بیشتری مبذول نموده، مسئولین امر و سیاست گزاران تأمین سلامت جامعه جهت فراهم نمودن امکانات پیشگیری و درمان عفونت مذکور سعی و تلاش وافری مصروف دارند.

واژه های کلیدی : عفونت دستگاه تنفسی، کودکان، ادنو ویروس

مقدمه

دالتون و عفونت زا است، که تکثیر آن در هسته انجام می گیرد. در طبقه بندی، ادنو ویروس های انسانی به ۶ گروه A تا F تقسیم می شوند که حدود $\frac{1}{3}$ سروتیپ های شناخته شده با بیماری های انسانی مرتبط می باشند.

ادنو ویروس ها با ویروس ۲۰ وجهی و قطر ۷۰ تا ۹۰ نانومتر دارای ۲۵۲ کپسومر بوده که از نظر ترکیب شامل ۱۳ درصد DNA و ۸۷ درصد پروتئین می باشند. ژنوم آنها DNA دو رشته ای با وزن مولکولی ۲۰ تا ۳۰ میلیون

* تهران: انستیتو پاستور ایران - بخش ویروس شناسی

* دانشیار بخش ویروس شناسی انستیتو پاستور ایران

** استادیار گروه بیماری های کودکان دانشگاه علوم پزشکی تهران

به منظور بررسی و تعیین نقش ادنو ویروس‌ها در بروز عفونت‌های حاد سیستم تنفسی تحتانی از ۲۳۱ کودک (پسر و دختر) در گروه سنی زیر ۱۴ سال که با تابلوی بالینی عفونت‌های حاد تنفسی تحتانی در فاصله دی ماه ۱۳۷۷ تا اسفند ماه ۱۳۷۸ به ۶ مرکز آموزشی و درمانی کودکان در تهران مراجعه نموده بودند، پس از تنظیم پرسشنامه نمونه‌گیری با استفاده از دو سواب (حلقی - بینی) به‌طور جداگانه به عمل آمد. همچنین در موارد معدودی با توجه به پنومونی، جهت کسب نمونه قسمت‌های تحتانی از طریق آسپیراسیون براساس روش‌های استاندارد متداول توسط متخصصین مراکز آموزشی و درمانی تحت مطالعه، نمونه‌ها در حجم ۱ تا ۲ میلی‌لیتر از محیط توانسپورت Hank's جمع‌آوری و در ظروف حاوی یخ حمل شدند. سپس نمونه‌ها در بخش ویروس‌شناسی انستیتو پاستور ایران به‌طور روزانه جهت شناسایی ادنو ویروس‌ها با روش حساس فلورسانت آنتی‌بادی و با استفاده از میکروسکوپ ایمونوفلورسانس مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه، کیت تشخیصی از شرکت DAKO (دانمارک) تهیه شده و حاوی آنتی‌بادی ادنو ویروس است که با فلورسنتین ایزوتیوسیانات (FITC) کوئروگه شده و به آنتی ژن ویروسی موجود در سویه ادنو ویروس انسانی متصل می‌شوند. جهت انجام این روش به هر نمونه دو میلی‌لیتر بافر فسفات (PBS) اختصاصی دارای $\text{pH}=7.2$ اضافه نموده تا ویسکوزیته کاهش یافته و آن را به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ می‌نماییم تا سلول‌های اپی‌تلیال ته‌نشین گردند. سپس سلول‌ها را مجدداً در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ می‌کنیم، بعد از دور ریختن محلول رویی، بافر فسفات به آن افزوده تا توده سلولی افزایش یابد. آنگاه ۲۵ میکرولیتر از سوسپانسیون آماده شده را بر روی لام قرار داده تا خشک شود. چنانچه

معمولاً سروتیپ‌های (۴،۳،۲،۱) از گروه C برای مدت طولانی در بافت‌های لنفوییدی نظیر ادنویید و لوزه‌ها باقی می‌مانند و نیز سروتیپ‌های (۵،۳) ویروس در ایجاد عفونت‌های نازوفارنگس یا عفونت حاد سیستم تنفسی کودکان و بالغین نقش دارند (۶،۲،۱).

از نظر پاتوژنز، ادنو ویروس‌ها سلول‌های اپی‌تلیال تنفسی را آلوده می‌کنند. به همین جهت در شروع عفونت‌های حاد، نخستین بافت درگیر، غشاء‌های مخاطی یا سلول‌های اپی‌تلیال ناحیه دهانی - حلقی (اوروفارنگس) و ناحیه بینی - حلقی (نازوفارنگس) می‌باشند (۶،۱). تظاهرات بالینی ادنو ویروس‌ها معمولاً در ملتحمه چشم، مجاری تنفسی، گوارشی و ادراری ایجاد می‌گردند، به‌طوری‌که فارنژیت و پنومونی از شایعترین علائم کلینیکی عفونت‌های ادنو ویروسی محسوب شده و به وفور در کودکان گرفتار تانسلیت اگزوداتیو و عفونت‌های حاد تنفسی تحتانی مشاهده می‌شوند (۶،۲،۱). ادنو ویروس‌ها بر روی کشت‌های سلولی انسانی مشتق از اپی‌تلیال مانند سلول‌های کلیه جنین انسان (HeK)، یا تیره سلولی مداوم (HeLa) یا سلول‌های کارسینومای اپیدرم انسانی (HeP-2) رشد و تکثیر یافته و آثار سیتوپاتیک (CPE) ایجاد می‌کنند (۷،۲،۱). با توجه به شیوع بالای عفونت‌های تنفسی در بین کودکان تهران، به ویژه در طی بعضی از فصول سال که برحسب تابلوی بالینی بیماران در بررسی‌های تشخیصی روزانه، احتمال وجود ادنو ویروس‌ها را دارند و نیز به سبب عدم دسترسی به الگوی اپیدمیولوژیکی این عفونت که در بسیاری از مواقع به تصور باکتریایی بی‌جهت تحت درمان آنتی‌بیوتیک قرار می‌گیرد، مبادرت به انجام این پژوهش گردید تا علاوه بر شناسایی ادنو ویروس‌ها و میزان شیوع آنها در بین کودکان مورد مطالعه، نقش متغیرهایی چون جنس، سن و خصوصاً فصل در این رابطه مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

جدول شماره ۱: فراوانی عفونت ادنووایروس در کودکان زیر ۱۴ سال مراجعه کننده به ۶ مرکز آموزشی، درمانی کودکان در تهران طی سالهای ۷۷-۷۸

سن (سال)	موارد مثبت (درصد)
<۱	۳(۱۳/۶)
۱-۴	۱۴(۶۳/۷)
۵-۹	۳(۱۳/۶)
۱۰-۱۴	۲(۹/۱)
جمع	۲۲(۱۰۰)

در این بررسی میزان عفونت حاد تنفسی تحتانی در دو گروه مذکر و مؤنث فاقد اختلاف معنی دار بود، اما میزان عفونت در فصل سرد بیشتر از سایر فصول سال تعیین گردید که دارای اختلاف معنی دار آماری می باشد ($P < 0.0001$) (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲: فراوانی عفونت ادنووایروس در کودکان زیر ۱۴ سال مراجعه کننده به ۶ مرکز آموزشی، درمانی کودکان در تهران طی سالهای ۷۷-۷۸

فصل	موارد مثبت (درصد)
سرد	۱۳(۵۹/۱)
نیمه سرد	۷(۳۱/۸)
گرم	۲(۹/۱)

همچنین در این مطالعه، پنومونی شایعترین تظاهر بالینی (۶۸/۲ درصد) در کودکان دچار عفونت حاد تنفسی تحتانی بوده است. به عنوان یکی دیگر از تظاهرات بالینی مهم می توان به تب بالای ۳۹/۵ درجه سانتی گراد

نمونه ها سریع رنگ نشوند، می توان آنها را در یخچال معمولی تا روز بعد نگهداری نمود. لام های خشک شده به مدت ۱۰ دقیقه در استون سرد (۲ تا ۸ درجه سانتی گراد) قرار خواهند گرفت تا کاملاً فیکس گردند، آنگاه لام ها را خارج کرده تا خشک شوند.

در این مرحله به کمک Sampler ۱۰ تا ۲۰ میکرولیتر از محلول رنگ آمیزی که حاوی آنتی بادی ادنووایروس است و به فلورسئین ایزوتیوسیانات (FITC) کوئزوگه گردیده و در محلول Evan's blue قرار گرفته اضافه می نماییم و لام ها را در داخل اتاقک مرطوب به مدت ۲۰ دقیقه همراه با لام های کنترل مثبت در گرم خانه ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می دهیم. در خاتمه، لام ها را حداقل سه بار و هر بار به مدت ۳ دقیقه توسط بافر فسفات شستشوداده و خشک می کنیم، آنگاه با استفاده از محلول گلیسرول به عنوان Monunting fluid و یک لامل Cover slip لام را جهت بررسی میکروسکوپی آماده و توسط میکروسکوپ ایمونوفلورسانس (UV) مشاهده می کنیم (۵،۴).

یافته ها

در این مطالعه از ۲۳۱ کودک زیر ۱۴ سال دارای علایم بالینی عفونت حاد سیستم تنفسی تحتانی که با انجام تست اختصاصی فلورسانت آنتی بادی (ایمونوفلورسانس مستقیم) مورد بررسی و تحقیق قرار گرفتند، در ۲۲ کودک (۹/۵ درصد) ادنووایروس شناسایی شد.

بیشترین میزان عفونت تنفسی در گروه سنی ۱ تا ۴ سال مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معنی درای را در مقایسه با سایر گروه های سنی نشان می دهد ($P < 0.005$) (جدول شماره ۱).

می‌توان از ادنو ویروس‌ها نام برد که در اکثر موارد با پُر خونی و آبریزش بینی، سرفه، تب و خصوصاً پنومونی همراه هستند (۶،۱). در مطالعه انجام شده با توجه به تابلوی بالینی کودکان دچار عفونت حاد سیستم تنفسی ۹/۵ درصد ادنو ویروس شناسایی گردید. در بررسی تحقیقاتی که بر روی کودکان دچار عفونت حاد سیستم تنفسی در فاصله سال‌های ۱۹۹۴ تا ۱۹۹۵ توسط Bruno و همکاران (۱۹۸۶) در فرانسه انجام گرفت و همچنین طبق مطالعه Monte و همکاران (۱۹۹۳) که در زمینه تعیین فراوانی عوامل ویروسی در ایجاد عفونت‌های حاد تنفسی انجام پذیرفت، ادنو ویروس‌ها به عنوان یکی از عوامل مهم در ایجاد این نوع عفونت‌ها معرفی شده‌اند (۸،۵). طبق گزارش Winter و همکاران (۱۹۹۶) در جریان چند اپیدمی عفونت حاد تنفسی تحتانی در کودکان، در فاصله سال‌های ۱۹۸۵ تا ۱۹۹۴ در ادینبورگ، ادنو ویروس‌ها بیش از ۱۰ درصد عوامل ویروسی ایجاد کننده عفونت تنفسی را تشکیل می‌دادند (۹). مقایسه نتایج به دست آمده در این بررسی با مطالعات انجام شده از نظر شیوع عفونت تنفسی ادنو ویروسی نشانگر همسویی کامل می‌باشد. در مطالعه Bruno و همکاران (۱۹۸۶) بیشترین میزان عفونت حاد تنفسی ادنو ویروسی در کودکان زیر ۵ سال گزارش گردیده است (۵). در مطالعه حاضر بیشترین میزان شیوع عفونت حاد تنفسی تحتانی در کودکان گروه سنی ۱ تا ۴ سال ۶۳/۷ درصد مشخص گردید که با مطالعه Bruno و همکاران مطابقت دارد.

در این مطالعه، شیوع فصلی عفونت حاد تنفسی در کودکان بیشتر در ماه‌های سرد سال تعیین شد. در مطالعات مشابهی که در السالوادور و هندوراس بر روی عفونت‌های حاد تنفسی کودکان توسط Rey و همکاران انجام یافت (۱۰)، همچنین مطالعه‌ای که Chew و همکاران در زمینه فصل شیوع عفونت حاد تنفسی ناشی از ادنو ویروس‌ها انجام دادند (۱۱)، مشخص گردید که

اشاره کرد که در ۷۱/۸ درصد کودکان مبتلا مشاهده شده است (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: فراوانی اشکال بالینی در عفونت حاد تنفسی تحتانی ناشی از ادنو ویروس‌ها در کودکان مراجعه کننده به ۶ مرکز آموزشی، درمانی کودکان در تهران در سال‌های ۷۷-۷۸

اشکال بالینی	موارد (درصد)
ترشحات بینی	۱۹ (۸۶/۴)
سرفه	۱۴ (۶۳/۳)
تب ۳۸/۵ تا ۳۹/۵	۴ (۱۸/۲)
درجه سانتی گراد	
تب بالای ۳۹/۵	۱۸ (۷۱/۸)
درجه سانتی گراد	
برونشیت	۲ (۹/۱)
پنومونی	۱۵ (۶۸/۲)
فارنژیت	۱۳ (۵۹/۱)
کرامپ شکمی	۶ (۲۷/۳)
درد عضلانی	۸ (۳۶/۴)
سردرد	۱۲ (۴۵/۵)
ضعف و ناتوانی	۴ (۱۸/۲)

بحث

عفونت‌های حاد سیستم تنفسی نقش مهمی در ایجاد بیماری و مرگ و میر کودکان دارند. براساس گزارش‌های سازمان جهانی بهداشت، مرگ و میر حدود ۴ میلیون کودک زیر ۵ سال و ۲۰ تا ۴۰ درصد موارد بستری کودکان در مراکز درمانی در ارتباط با عفونت‌های حاد سیستم تنفسی می‌باشد (۴). طبق بررسی‌های به عمل آمده، ۵ تا ۸ درصد عفونت‌های ویروسی تنفسی کودکان زیر ۵ سال را ادنو ویروس‌ها تشکیل می‌دهند، به‌طوری که بیش از ۱۰ درصد پنومونی کودکان، متعاقب عفونت حاد سیستم تنفسی تحتانی، ناشی از این ویروس‌ها می‌باشد (۶،۳). عوامل ویروسی بسیاری در بروز این عفونت‌ها خصوصاً عفونت‌های سیستم تنفسی تحتانی کودکان شناسایی شده‌اند که از مهمترین آنها

مشابه می باشد.

بیشترین میزان شیوع فصلی این نوع عفونت های ویروسی در فصل سرما می باشد که با مطالعه انجام شده در تهران

فهرست منابع

1. Fields B.N, Kuiper D.M. *Virology*. 3rd edition. Newyourk: Raven Press; 1996.
2. Jawetz E, Melnick J.L, Adelberg E.A. *Medical Microbiology*. 21th ed. California: Appleton and Lange; 1998.
3. Shen K, Zhaori G. Detection of respiratory viruses in nasopharyngeal secretions with Immunofluorescence technique for multiplex screening. *Eur Respir J*. 1998; 12 (28): 26-28.
4. World Health Organization. Program for the control of acute respiratory infection. *Weekly Epidemiol Rec*. 1993; 87(68): 353-357.
5. Bruno L, Martine V, Sophie F, Jaques L. Surveillance of community-acquired viral infection due to respiratory viruses in Rhone-Alpes (France) during winter 1994 to 1995. *J. Clin. Microbiol*. 1996; 34(12): 3007-3011.
6. Behrman R.E, Kliegman R.M. *Nelson's textBook of pediatrics*. 15th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1996.
7. Zeina H, MRCP A.P, Sahar E, Amani E.S, Randa A.E. Laboratory diagnosis of acute lower respiratory tract viral infection in children. *J Trop Pediatr*. 1996; 68(42): 276-279.
8. Monte A.S, Sullivan K.M. Acute respiratory illness in the community, frequency of illness and the agents involved. *Epidemiol infect*. 1993; 111(36): 145-160.
9. Winter G.F, Romo H. Respiratory viruses in a hospitalized pediatrics in Edinburgh (1985-1994). *J. Infect. Dis*. 1996; 33(18): 207-211.
10. Reys M, Hedlund K.O, Lorenzana I, Ehrnst A. Respiratory infection and iatrogenic diarrhea in Honduras and Elsalvador during the 1991-1991 seasons. *Am J Trop Med*. 1996; 54(23): 260-263.
11. Chew F.P, Doraisingham S, Ling A.E, Kumarasinghe G, Lee B.W. Seasonal trends of viral respiratory tract infections in the tropics. *Epidemiol Infect*. 1998; 121(52): 121-128.