

## دارای رتبه علمی - پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

### ملکولار اپیدمیولوژی آدنووایروس ها در بیماران مبتلا به عفونت تنفسی

#### چکیده

**زمینه و هدف:** عفونت های دستگاه تنفسی از شایع ترین بیماری های عفونی دنیا در بزرگسالان و کودکان بوده و حدود ۸۰ تا ۹۰ درصد از آن ها توسط ۴ ویروس از جمله آدنووایروس ایجاد می گردند. تا کنون ۵۱ سروتیپ از آدنووایروس ها در عفونت های مختلف ناشی از آن معرفی شده است. امروزه روش های ملکولی حساس ترین روش برای تشخیص آدنووایروس در نمونه های بالینی است. هدف از انجام این پژوهش، تعیین شیوع آدنووایروس در بیماران مبتلا به عفونت تنفسی در استان گلستان با روش PCR بود.

**روش بررسی:** این مطالعه توصیفی- مقطعی بر روی ۴۰۰ بیمار طی سال های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۱ با تشخیص بالینی عفونت تنفسی که به مراکز خدمات بهداشتی درمانی استان گلستان با علائم شبیه آنفلوآنزا، مراجعه کرده اند انجام شد. ضمن ثبت اطلاعات فردی و بالینی، نمونه ها از نازوفارنکس بیماران به وسیله سواب داکرون گرفته شده و درون محیط انتقال VTM به آزمایشگاه ویروس شناسی منتقل شد. پس از تخلیص ژنوم با استفاده از روش PCR نمونه ها از نظر وجود آدنووایروس مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** از ۴۰۰ نمونه مورد بررسی، ۳۷ مورد (۹/۲٪) از نظر حضور آدنووایروس مثبت بودند. هیچ رابطه معنی داری بین سن، جنس و فصل با موارد مثبت یافت نشد. از نظر علائم بالینی، سرفه در ۲۷ مورد (۷۳٪)، بدن درد در ۲۵ مورد (۶۷/۶ درصد) و تب در ۲۴ مورد (۶۴/۹ درصد) یافت شد. همچنین ۳۵ نفر (۹۴/۵٪) از بیماران دارای حداقل یک علامت بوده و در ۲ نفر (۱۵/۵ درصد) هیچ گونه علائمی گزارش نشد.

**نتیجه گیری:** با توجه به محدود مطالعات انجام شده در زمینه فراوانی عفونت آدنووایروسی در بزرگسالان، نتایج مطالعه حاضر هم تراز دیگر مطالعات در ایران و کشورهای دیگر می باشد.

**واژه های کلیدی:** عفونت تنفسی، آدنووایروس، PCR، گلستان، ایران

#### زکبه نظری

دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی،  
دانشگاه آزاد اسلامی آذربایجان شرقی، اهر،  
ایران

#### علیجان تبرائی

استادیار ویروس شناسی، مرکز تحقیقات بیماری  
های عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان،  
گرگان، ایران

#### جعفر اکبرمهر

استادیار میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی  
آذربایجان شرقی، اهر، ایران

#### نویسنده مسئول: علیجان تبرائی

پست الکترونیک: aligant@yahoo.com

**آدرس:** گرگان، بلوار هیرکان، ابتدای جاده شصت  
کلا، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی

دریافت: ۹۱/۱۲/۲۰

ویرایش پایانی: ۹۲/۰۱/۱۹

پذیرش: ۹۲/۰۱/۲۱

#### آدرس مقاله:

نظری ز، تبرائی ع، اکبرمهر ج "ملکولار اپیدمیولوژی آدنووایروس ها در بیماران مبتلا به عفونت تنفسی" مجله علوم آزمایشگاهی،

بهار ۱۳۹۳، دوره هشتم (شماره ۱): ۱-۶

هستند. با این حال سروتیپ های خاص مانند سروتیپ ۳،۷ و ۱۴ نیز می توانند ضمن ایجاد عفونت تنفسی، باعث مرگ و میر نیز شوند (۷). شیوع بیماری تنفسی حاد، در سال ۲۰۰۷ گزارش شده که توسط یک سویه جدید از آدنوویروس ۱۴ ایجاد شد همه سنین حتی جوانان سالم نیز به این بیماری مبتلا شدند. شیوعی از بیماری حاد تنفسی آدنوویروسی، به وسیله تیپ ۱۱ در سال ۱۹۹۷ بین بزرگسالان که در مرکز کارآموزی کار می کردند گزارش شده است (۵). روش های شناسائی متعددی برای این ویروس معرفی گردیده که شامل، فلورسنت مستقیم، الایزا، کشت سلول، تکنیک shell vial، آزمون های CF، آگلوتیناسیون لاتکس و واکنش های زنجیره پلی مرز می باشد (۸-۱۰). امروزه روش های ملکولی به عنوان حساس ترین روش برای تشخیص آدنوویروس در نمونه های بالینی معرفی شده است (۱۱). در بسیاری از این روش ها، نواحی مختلفی از ژنوم آدنوویروس از جمله، HEXON، VA-RNA و Fiber در طراحی پرایمرها مورد استفاده قرار گرفته است و لیکن نشان داده شده که نواحی حفاظت شده از ژن هگزون در شناسائی این ویروس و همه تیپ های آن توسعه بیشتری یافته است. برخی مطالعات نشان داد که روش VA-RNA نیاز به میزان نمونه کمتری داشته و می تواند به عنوان ردیابی اولیه برای تشخیص و تعیین ژنوتیپ مورد استفاده قرار گیرد. همچنین روش HEXON برای تایید و شناسایی دقیق ژنوتیپ و زیر گروه ها به طور اختصاصی می تواند مورد استفاده قرار گیرد در نهایت روش Fiber برای تایید عفونت گاستروآنتریت وابسته به آدنوویروس مورد استفاده قرار می گیرد (۱۲). با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی در خصوص عفونت تنفسی ناشی از آدنوویروس ها در منطقه و مشکلات مربوط به مصرف بی مورد آنتی بیوتیک ها و تعداد بسیار کم بررسی ها بر روی جمعیت بزرگسالان در این مطالعه توزیع فراوانی آدنوویروس ها در بیماران مبتلا به عفونت های تنفسی شبه آنفلوآنزا در استان گلستان مورد بررسی قرار گرفت.

عفونت های تنفسی با توجه به انتشار بسیار گسترده و سریع شان از اهمیت بالایی برخوردارند و می توانند نقش بسیار مهمی در مرگ و میر کودکان و بزرگسالان داشته باشند. به طوری که سالانه تقریباً ۴/۵ میلیون مرگ در کودکان به علت عفونت تنفسی گزارش می گردد (۱). شدت این بیماری متفاوت بوده و به صورت عفونت های بدون عارضه، تحت حاد، حاد و مزمن بروز می کند (۲). ویروس ها از مهمترین عوامل بیماری های تنفسی هستند و آدنوویروس ها یکی از چهار عامل ویروسی مهم به همراه آنفلوآنزا، پاراآنفلوآنزا و سینشیشیال ویروس در عفونت تنفسی می باشند. آدنوویروس ها علاوه بر بیماری های حاد تنفسی عامل بیماری های دیگر همچون سیستم هموراژیک حاد، هپاتیت، اسهال و استفراغ، کونژنکتیویت و میوکاردیت می باشد (۳). با توجه به بررسی های انجام شده در منچستر انگلستان، ۶۱/۳ درصد از بیماران مبتلا به عفونت های آدنوویروسی زیر ۵ سال، ۲۴/۲ درصد بزرگسالان و ۵/۶ درصد کودکان بین ۵ تا ۱۸ سال سن داشتند (۳). عفونت های تنفسی آدنوویروسی می تواند به صورت اپیدمیک، آندمیک یا اسپورادیک ایجاد بیماری نماید (۴). ۲-۵ درصد کل بیماری های تنفسی جامعه توسط آدنوویروس ها ایجاد می شود (۵). در بررسی های انجام شده در ایران، آدنوویروس ها عامل ۱۰/۴ درصد عفونت های تنفسی کودکان بوده و پاییز شایع ترین فصل بروز آن بوده است. عفونت آدنوویروسی با سن نسبت معکوس داشته، به طوری که با افزایش سن بیماران، میزان بروز آن کاهش می یابد (۶). تا کنون ۵۱ سروتیپ از آدنوویروس ها در قالب ۶ گروه شناسائی و معرفی گردیده است. عفونت های تنفسی آدنوویروسی معمولاً در نوزادان و کودکان تظاهر پیدا می کند و عامل آن معمولاً در گروه C آدنوویروس ها به ویژه تیپ های ۱، ۲ و ۵ می باشد. عفونت با تیپ های ۳، ۴ و ۷ غالباً در بزرگسالان و بالغین دیده می شود (۵). سروتیپ های ۱، ۲، ۵ و ۶ در گروه C و سروتیپ ۴ در گروه E از علل شایع عفونت تنفسی فوقانی و تحتانی

## روش بررسی

در این مطالعه توصیفی مقطعی از میان بیماران مبتلا به عفونت تنفسی شبه انفلوانزا مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی استان گلستان در محدوده زمانی فروردین ۸۹ تا پایان آذر ۹۱ به طور تصادفی ۴۰۰ نمونه انتخاب گردید. با اخذ رضایت از بیماران ثبت اطلاعات فردی و بالینی صورت گرفت و نمونه از ترشحات نازوفارنکس به وسیله سوپ داکرون گرفته شد و درون محیط انتقال (VTM) قرار داده شد. نمونه ها حداکثر ۱۲ ساعت به آزمایشگاه ویروس شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان منتقل و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۷۰-درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای استخراج ژنوم ویروس از کیت استفاده شد. DNA ویروسی پس از استخراج تحت آزمایش PCR قرار گرفتند. در این آزمایش یک جفت پرایمر مناسب Forward: (ADHEXF 5'CAACACCTAYGASTACATGAA3') و  $\mu\text{l}$  پرایمر Revers (5' ADHEXR KATGGGGTARAGCATGTT3') از ژن HEXON انتخاب شد که قطعه ای به اندازه ۴۷۵ جفت باز را تکثیر می کند (۱۳). تکثیر ناحیه مورد نظر از DNA ویروس طی ۳۰ مرحله در دستگاه ترمو سایکلر (شرکت Peqlab) انجام شد و هر مرحله شامل: دناتوراسیون DNA در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد برای مدت ۱ دقیقه، جفت شدن پرایمرها با ناحیه مورد نظر در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد برای مدت ۱ دقیقه، سنتز DNA در ۶۸ درجه سانتی گراد برای مدت ۱ دقیقه بود (۱۳). سپس محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شده وبا اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی گردید و نمونه های آدنوویروس مثبت شناسایی شدند که برای شناسایی باندها در این مطالعه از Ladder ۱۰۰ جفت بازی استفاده شد. داده ها در نرم افزار SPSS وارد شد و آزمون آماری Chi Square برای تجزیه و تحلیل داده ها مورد استفاده قرار گرفت و در تمامی موارد P Value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته ها

از تعداد ۴۰۰ نمونه بررسی شده در این مطالعه، ۳۷ نمونه

## نظری و همکاران/۳

(۹/۲٪) از نظر حضور آدنوویروس مثبت شد. از این تعداد ۳۶۹ نفر (۹۲/۲٪) از بیماران زن و ۳۱ نفر (۷/۸٪) از آنان مرد بودند. در بین موارد مثبت ۳۳ نفر (۸۹/۱۸ درصد) زن و ۴ نفر (۱۰/۸۲٪) مرد بودند که طبق برآورد ۹ درصد زن ها و ۱۲/۹ درصد مردها از نظر آلودگی با آدنوویروس مثبت بودند. از بین زنان آدنوویروس مثبت نیز ۱۴ نفر (۴۲/۴٪) باردار بودند. افراد مورد مطالعه در دامنه سنی از ۱ سال تا ۸۵ سال قرار داشتند. بیشترین تعداد افراد مراجعه کننده بین ۲۰ تا ۳۰ سال بودند. توزیع فراوانی نمونه های مثبت از نظر محل سکونت نیز نشان داد که ۲۴ نفر از بیماران از روستا و ۱۳ نفر از شهر بود. از نظر علائم بالینی ۲۴۷ نفر، ۲۹۹ نفر و ۲۵۴ نفر به ترتیب دارای تب، سرفه و بدن درد بود. توزیع این علائم در موارد مثبت از نظر آدنوویروس به تعداد ۲۴ مورد (۶۴/۹٪) دارای تب، ۲۷ مورد (۷۳٪) دارای سرفه و ۲۵ مورد (۶۷/۶٪) دارای بدن درد بود. از بین موارد مثبت ۲ نفر بدون هیچ یک از علائم و ۳۵ نفر حداقل دارای ۱ علامت بالینی بوده اند که موارد مثبت با دارا بودن علائم بالینی رابطه معنی داری را نشان داد ( $P=۰/۰۴$ ). تجزیه و تحلیل نتایج ارتباط معنی داری را بین جنسیت، سن، باردار بودن زنان و سال و فصل شیوع عفونت آدنوویروسی و نتایج حاصل نشان نداد.

## بحث

میزان فراوانی آدنوویروس ها در ایران، در محدوده ۶ تا ۱۱ درصد و در سایر کشورها در محدوده ۲/۱ تا ۱۰ درصد بوده است (۱۴-۱۶). در این مطالعه با استفاده از روش PCR، گزارش شد که ۹/۲ درصد از بیماران مبتلا به عفونت تنفسی از نظر آدنوویروس مثبت بودند که با عمده مطالعات انجام شده در ایران و جهان تقریباً منطبق است. در مطالعه حاضر بیشترین موارد مثبت در فصل سرد سال اتفاق افتاده ولی از آنجایی که تعداد نمونه گیری انجام شده در فصول مختلف سال مساوی نبوده واکثرأ در فصل سرد سال نمونه گیری انجام شده، بین موارد مثبت آدنوویروس و

علائم بالینی نشان نداده اند و این نتایج حاکی از آن است که بین موارد مثبت و دارا بودن حداقل یک علامت بالینی رابطه معنی داری وجود دارد (P=۰/۰۴). نتایج این بررسی با برخی مطالعات انجام شده که شایع ترین علامت بالینی آن در بیماران، سرفه بود (مطابقت دارد (۱،۲۲).

### نتیجه گیری

در این مطالعه فراوانی آدنووایروس در عفونت تنفسی در استان گلستان ۹/۲ درصد بوده است و با مطالعات پیشین در ایران و جهان مطابقت دارد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن آوری و مرکز تحقیقات بیماری های عفونی دانشگاه علوم پزشکی گلستان به شماره قرارداد ۹۱۱۱۰۳۱۹۶ در تاریخ ۱۳۹۱/۱۱/۳ و همکاری معاونت بهداشتی دانشگاه و آزمایشگاه مرجع آنفلوانزا دانشگاه علوم پزشکی گلستان سپاسگزاری می نمایند.

### References

1. Hamkar R, Mirmurollahi M, Naseri M, Noruzbabai Z, Rezaei F, Adibi L, et al. *Prevalence of acute respiratory viral infections in 2005-2006* : Journal of Infectious Diseases Infectious Disease Specialists Association . 2007; 12 (38) : 32-27.[Persian]
2. Abd-Jamil J, Teoh B, Hassan EH, Roslan N, Abubakar S. *Molecular Identification Of Adenovirus Causing Respiratory Tract Infection In Pediatric Patient at The University Of Malaya Medical Center*. BMC Pediatrics . 2010. 10(46): 1471-2431.
3. Knie DM, Howley P M. *Fields virology*. 5<sup>th</sup> ed. 2007; Lippincott Williams & Wilkins.p: 2396-2436.
4. Tabatabai P, Faghani A, Bonakdar Hashemi F, Mamishi S, Purakbari B, Siysdsti B, et al. *Evaluation of patient with acut respiratory infection with adenovirus infection Immunofluorescence Antibody*: Journal of Pediatrics , Iran. 2004; 14 (2) : 132-138.[Persian]
5. Brooks GF , Carroll KC , Butel JS , Morse SA , Mietzner TA . *Medical Microbiology* , Atlanta , Chapter 32. 2013.
6. Barati M, Nourbakhsh TH, Tabatabai A, Ebrahimi taj F, Talebi Taher M. *Prevalence of onfection by adenovirus , influenza A and B and syncytial throat secretions of children 3 months to 15 years diagnosed with upper respiratory tract infection with rapid chromatographic immunoassay* : Iran University of Medical Sciences Journal .2009; 16 (62). 81-88.[Persian]

فصل اختلاف معنی داری مشاهده نشد. ضمن آنکه برخی مطالعات هیچ الگوی فصلی برای شیوع آدنووایروس نشان ندادند(۱۸،۱۷،۶). در عین حال برخی تابستان را فصل شایع (۴،۱۹) و برخی دیگر زمستان را شایع ترین فصل عفونت های آدنووایروسی معرفی نموده اند (۲۰،۱۵). اگر چه در تعدادی از بررسی ها پسران به طور معنی داری بیشتر از دختران آلوده به آدنووایروس بودند (۲۱،۱۶) اما عمده نتایج ارائه شده در ایران و برخی کشورها الگوی جنسیتی خاصی را همانند مطالعه حاضر معرفی نمی نمایند (۱۹،۱۵). از نکات قابل بحث دیگر در عفونت های تنفسی آدنووایروسی توجه به علائم بالینی می باشد که می تواند با تظاهرات سیستمیک مثل ضعف عمومی، تب، لرز، درد عضلانی، سردرد، سرفه و احتقان بینی همراه باشد (۳). در مطالعه حاضر شایع ترین علائم به ترتیب سرفه، بدن درد و تب بود. از بین موارد مثبت ۳۵ بیمار دارای حداقل یک علامت بالینی بوده و ۲ بیمار هیچ گونه

7. Alharbi S, Van Caesele P, Consunji-Araneta R, Zoubeidi T, Fanella S, Souid AK, et al. *Epidemiology of severe pediatric adenovirus lower respiratory tract infections in Manitoba, Canada, 1991-2005*. BMC Infectious Diseases. 2012; 12(55): 1-8.
8. Noruzi J. *Medical Virology*. International publishing and promoting human. 1990. 366-377. [Persian]
9. Murray RP, Rosenthal SK, Pfaner MA. *Review of Medical Microbiology*. Philadelphia. PA. USA. 5<sup>th</sup> ed, 2005; 533-540.
10. Terletskaia-Ladwig E, Leinmüller M, Schneider F, Meier S, Enders M. *Laboratory Approaches to the Diagnosis of Adenovirus Infection Depending on Clinical Manifestations*. Infection. 2007, 35(6): 438-443.
11. Kanerva A. *Adenovirus Gene Therapy For Ovarian Cancer* [Dissertation].[University Of Helsinki. Finland]. 2004; 73.
12. Casas I, Avellon A, Mosquera M, Jabado O, Echevarria JE, Campos RH, et al. *Molecular Identification of Adenoviruses in Clinical Samples by Analyzing a Partial Hexon Genomic Region*. JCM. 2005; 43(12): 6176-6182.
13. Casas I, Avellon A, Mosquera M, Jabado O, Echevarria JE, Campos RH, et al. *Molecular Identification of Adenoviruses in Clinical Samples by Analyzing a Partial Hexon Genomic Region*. JCM. 2005; 43(12): 6176-6182.

14. Saffar MJ, Naghshwar F, Eshghi MR. *Study on the prevalence of parainfluenza and adenovirus lower respiratory tract infections in patients admitted in mazandaran hospitals during 2001- 2002*. J Mazandaran Univ Med Sci. 2003; 13(38): 40-48. [Persian]
15. Modarres SH, Rahbarimanesh AA. *Study of adenoviruses in lower respiratory tract acute infection in children in Tehran 1999-2000*. J Mazandaran Univ Med Sci. 2002; 12(34): 32-37.[Persian]
16. Hong JY, Lee HJ, Piedra PA, Choi EH, Park KH, Koh YY, et al. *Lower Respiratory Tract Infection due to Adenovirus in Hospitalized Korean Children*. Clin Infect Dis. 2001; 32(10): 1423-1429.
17. Tohma K, Bayasgalan N, Suzuki A, Darma B, Oshitani H, Nimadawa P. *Detection and Serotyping of Human Adenoviruses from Patients with Influenza-Like Illness in Mongolia*. Jpn. J. Infect Dis. 2012; 65(4): 289-294.
18. Ampuero JS ,Ocaña V , Gómez J, Gamero ME , Garcia J, Halsey ES, et al. *Adenovirus Respiratory Tract Infections in Peru*. PLOS ONE. 2012; 7(10): 1-14.
19. Zou L, Zhou J, Li H, Wu J, Mo Y, Chen Q, et al. *Human adenovirus infection in children with acute respiratory tract disease in Guangzhou, China*. AMPIS. 2012; 120(8): 683-688.
20. Cheng CC, Huang LM, Kao CL, Lee PI, Chen JM, Lu CY, et al. *Molecular and clinical characteristics of adenoviral infections in Taiwanese children in 2004–2005*. Eur J Pediatr. 2008; 167(6): 633-640.
21. Hsieh WY, Chiu NC, Chi H, Huang FY, Hung CC. *Respiratory adenoviral infections in Taiwanese children: a hospital-based study*. J Microbiol Immunol Infect. 2009. 42(5): 371-377.
22. Stroparo E, Cruz CR, Debur Mdo C, Vidal LR, Nogueira MB, Almeida SM, et al. *Adenovirus respiratory infection: significant increase in diagnosis using PCR comparing with antigen detection and cultur methods*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2010; 53(6): 317-321.

## Molecular Epidemiology of Adenoviruses among Respiratory Infected Patients

**Nazari, N. (BSc)**

MSc Student of Microbiology,  
Islamic Azad University, Ahar,  
Iran

**Tabarraei, E. (PhD)**

Assistant Professor of Virology,  
Infectious Diseases Research  
Centre, Department of  
Microbiology, Golestan University  
of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Akbarmehr, J. (PhD)**

Assistant Professor of  
Microbiology, Islamic Azad  
University, Ahar, Iran

**Corresponding Author:**

Tabarraei, E.

**Email:** [alijant@yahoo.com](mailto:alijant@yahoo.com)

Received: 10 Mar 2013

Revised: 8 Apr 2013

Accepted: 10 Apr 2013

### Abstract

**Background and Objective:** Respiratory tract infections (RTI) are the most common infectious disorders, worldwide. About 80%-90% of RTI are caused by four viruses such as Adenoviruses, 51 serotypes have been introduced so far. The aim of this survey was to evaluate the frequency of Adenovirus in respiratory infected patients by PCR method in Golestan province, Iran.

**Material and Methods:** This descriptive cross-sectional study was conducted on 400 patients with clinical diagnosis of flu-like respiratory infection, 2010-2012. In addition to collecting demographic and clinical data, nasopharyngeal swabs were taken and transferred to the virology laboratory in viral transport medium (VTM), and evaluated by PCR method for Adenovirus after genomic extraction. Using SPSS v.11 software, we analyzed the data.

**Results:** Thirty-seven (9.2 %) were positive for Adenovirus. No significant correlation was found between being positive for Adenovirus and the variables such as age, gender and season. Clinical signs were coughing (27; 73%), body pain (25; 67.6%), and fever (24; 64.9%). Thirty-five of the patients (94.5%) had at least one symptom.

**Conclusion:** Our findings are consistent with other research conducted in Iran and other countries. There is a significant correlation between Adenovirus infection and clinical symptoms.

**Keywords:** Respiratory Infection, Adenovirus, PCR, Golestan, Iran