

بررسی ژنوتیپ های ویروس سینسیشیال تنفسی انسان در کودکان زیر 5 سال مبتلا به عفونت حاد تنفسی در سال های 1386 و 1388

ابراهیم فقیه لو¹، فرهاد رضایی¹، وحید سلیمی¹، مریم ناصری¹، ستاره ممیشی²، محمود محمودی³، طلعت مختاری آزاد^{1*}

- 1) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
 2) مرکز تحقیقات بیماری های عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران
 3) گروه آمار حیاتی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ پذیرش: 89/4/20

تاریخ دریافت: 89/1/27

چکیده

مقدمه: ویروس سینسیشیال تنفسی انسان (HRSV) مهم ترین عامل ویروسی عفونت های حاد تنفسی کودکان زیر 5 سال در سرتاسر دنیا شناخته شده است. این ویروس عامل بروز 50 درصد برونشیت و 25 درصد پنومونی در نوزادان می باشد. با این وجود، اطلاعات اندکی در رابطه با ژنوتیپ های در حال گردش این ویروس در کشورهای در حال توسعه وجود دارد. از این رو، هدف این مطالعه بررسی ژنوتیپ های HRSV در سال های 1386 و 1388 در ایران بوده است.

مواد و روش ها: به ترتیب تعداد 72 و 107 نمونه تنفسی از کودکان کمتر از 5 سال مبتلا به علائم حاد تنفسی در سال های 1386 و 1388 از چندین شهر ایران جمع آوری و با استفاده از روش RT-PCR برای ژن گلیکوپروتئین G ویروس HRSV مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته های پژوهش: از تعداد 72 نمونه تنفسی آزمایش شده در سال 1386، تعداد 14 نمونه (19/44 درصد) مثبت تشخیص داده شد که در 3 ژنوتیپ از زیرگروه A قرار داشتند: 12 سویه در ژنوتیپ GA²، 1 سویه در ژنوتیپ GA¹ و 1 سویه در ژنوتیپ GA⁵. در حالی که از 107 نمونه تنفسی آزمایش شده در سال 1388، تعداد 24 (22/44 درصد) نمونه از لحاظ HRSV مثبت بودند که 16 نمونه (67 درصد) در زیرگروه A یعنی 15 سویه در ژنوتیپ GA¹ و 1 سویه در ژنوتیپ GA² قرار گرفتند و 8 نمونه (34 درصد) در زیرگروه B و ژنوتیپ BA طبقه بندی شدند.

بحث و نتیجه گیری: این مطالعه گردش هم زمان چندین ژنوتیپ از ویروس HRSV را در سال های 1386 و 1388 نشان داد. هم چنین یافته های ما شیوع بیشتر ژنوتیپ های زیرگروه A نسبت به زیرگروه B را نشان داد. در این مطالعه GA¹ و GA² به ترتیب ژنوتیپ های غالب در سال های 1386 و 1388 بودند.

واژه های کلیدی: ویروس سینسیشیال تنفسی انسان، ژنوتیپ، عفونت حاد تنفسی

* نویسنده مسئول: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

مقدمه

عفونت های حاد دستگاه تنفسی از عوامل مهم مرگ و میر کودکان زیر 5 سال در سطح دنیا محسوب می شوند، (1). به طوری که، این عفونت ها در کشور های در حال توسعه مسئول 30 درصد تمام موارد مرگ در کودکان هستند، (2). در این میان، ویروس ها نقش مهمی در ایجاد عفونت های حاد تنفسی ایفا می کنند و ویروس سینسیشیال تنفسی انسان (HRSV) مهم ترین عامل ویروسی عفونت های حاد تنفسی کودکان در دنیا شناخته می شود. (3,4,5)

ویروس HRSV از طریق ترشحات تنفسی آلوده انتقال می یابد و در 40-25 درصد عفونت های اولیه، مجاری تحتانی را درگیر می کند. این ویروس عامل 50 درصد برونشیت و 25 درصد پنومونی ایجاد شده در نوزادان است و سالیانه به بستری شدن 1-2 درصد کودکان زیر یک سال منجر می شود، (6). عفونت های حاد ناشی از HRSV کشنده می باشند و مرگ در یک درصد کودکان بستری شده رخ می دهد. کودکانی که از برونشیت و پنومونی ناشی از HRSV جان سالم به در می برند، اغلب به مدت چندین سال به نارسایی ریوی مبتلا می باشند. عفونت HRSV در کودکان مبتلا به بیماری زمینه ای به افزایش میزان مرگ و میر تا 35 درصد منجر می شود، (6). هم چنین، این ویروس عاملی خطرناک در سالمندان و افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی نیز محسوب می شود. (7)

HRSV ویروسی پوشش دار با ژنوم RNA تک رشته ای با پلاریته منفی است که در جنس پنوموویروس در خانواده پارامیکسوویریده طبقه بندی می شود، (8). 11 پروتئین توسط ژنوم HRSV بیان می شود که در این میان گلیکوپروتئین G و پروتئین F مهم ترین آنتی ژن های این ویروس محسوب می شوند که به تولید پاسخ های ایمنی بدن بر علیه این ویروس می انجامد. (9)

سویه های ویروس HRSV بر اساس واکنش های آنتی بادی های مونوکلونال بر علیه گلیکوپروتئین G به دو زیرگروه آنتی ژنی B و A تقسیم می شوند، (8,10). گلیکوپروتئین G آنتی رسپتور ویروس HRSV و نیز متغیرترین پروتئین این ویروس محسوب می شود، (11).

بیشتر تنوع این گلیکوپروتئین به دامن خارجی آن مربوط است که شامل دو ناحیه متغیر می باشد که به وسیله یک منطقه مرکزی حفاظت شده 13 اسید آمینه ای از هم جدا می شود، (12). ناحیه متغیر دوم دامن خارجی که مطابق با انتهای کربوکسیلی گلیکوپروتئین G است منعکس کننده تنوع کلی این گلیکوپروتئین می باشد، (13)، از این رو، بررسی توالی نوکلئوتیدی این ناحیه برای تعیین ژنوتیپ ویروس HRSV در اکثر مطالعات در دنیا مورد استفاده قرار می گیرد. (13,14,15).

با وجود انجام مجموعه ای مطالعات در مورد شیوع ویروس HRSV در ایران، هیچ مطالعه ای در ارتباط با تعیین ژنوتیپ های این ویروس انجام نشده و این مطالعه با تعیین توالی نوکلئوتیدی ناحیه متغیر دوم ژن G ویروس HRSV به بررسی تنوع ژنوتیپ های این ویروس در سال های 1386 و 1388 در ایران پرداخته است. لازم به ذکر است که اطلاعات مربوط به ژنوتیپ های ویروس HRSV در هر جامعه در طراحی برنامه های واکسیناسیون مربوطه و استفاده از واکسن های مناسب، در صورت تولید، بسیار ارزشمند می باشد و به شناسایی روند تکامل این ویروس و نحوه تغییر ژنوتیپ های غالب آن منجر می شود.

مواد و روش ها

در این مطالعه مقطعی، تعداد 179 سوآپ گلو از کودکان زیر 5 سال مبتلا به عفونت های حاد تنفسی با علایمی مانند سرفه، خس خس و تب از چندین شهر: از جمله تهران، کرج، اصفهان، بندرعباس، کرمان، زنجان، قزوین، الیگودرز، همدان، شاهین دژ و میاندوآب جمع آوری گردید. از این تعداد 72 نمونه تنفسی به سال 1386 و 107 نمونه به سال 1388 مربوط می گردید. نمونه های تنفسی تا انجام مراحل بعدی مطالعه در 80°C - نگهداری شدند. تمام مراحل این مطالعه در بخش ویروس شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. بدین ترتیب که RNA ویروس HRSV از نمونه های تنفسی توسط High Pure Nucleic Extraction Kit (Roche Diagnostics, Germany) استخراج گردید. سپس جهت ساخت cDNA، $17/5 \mu\text{l}$ از RNA استخراج

پذیرفته،(13،14). که مشخصات و توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول 1 ذکر شده است. روش Hemi-nested PCR به علت به کار گرفتن آغازگرهای درونی از حساسیت بالاتری نسبت به PCR معمولی برخوردار است، ولی همانند سایر روش های PCR به تجهیزات خاص و محیط مناسب جهت جلوگیری از ایجاد آلودگی احتیاج دارد.

شده به تیوپ حاوی $2/5 \mu\text{l}$ dNTP، $2/5 \mu\text{l}$ random primers، 200 U ، $2/5 \mu\text{l}$ RNase inhibitor و آنزیم ترانسکریپتاز وارونه و $0/5$ اضافه گردید و به مدت 45 دقیقه در دمای 50°C قرار داده شد. این مطالعه به روش Hemi-nested PCR جهت تکثیر ناحیه متغییر دوم ژن G ویروس HRSV با استفاده از 5 پرایمر انجام

جدول 1. توالی پرایمر های مورد استفاده جهت واکنش PCR

primer	polarity	Gene	Position (nt)	Size (bp)	Sequence ($5' - 3'$)
GPA	+	G	511-530	20	GAAGTGTTCAACTTTGTAC C
GPB	+	G	494-515	22	AAGATGATTACCATTTGA AGT
nRSA G	+	G	539-558	20	TATGCAGCAACAATCCAAC C
nRSB G	+	G	512-531	20	GTGGCAACAATCAACTCTG C
F1	-	F	3-22	20	CAACTCCATTGTTATTTGCC

جدول 2 ذکر شده است،(14). در ادامه Hemi-nested PCR با استفاده از 5 میکرولیتر محصول مرحله اول PCR تحت پروفایل حرارتی ذکر شده در جدول 1 و با استفاده از پرایمر های درونی اختصاصی F1 و nRSAG برای زیرگروه A و پرایمرهای F1 و nRSBG برای زیرگروه B انجام گردید.

جهت انجام external PCR، 10 میکرولیتر از cDNA ساخته شده به دو تیوپ مجزا که حاوی $23 \mu\text{l}$ $10 \times$ PCR buffer، $5 \mu\text{l}$ dNTP، $2 \mu\text{l}$ MgCl₂، $4 \mu\text{l}$ Taq DNA Polymerase و 2 U و 20 pM از پرایمرهای F1، GPA، برای زیرگروه A و پرایمرهای F1، GPB، برای زیرگروه B بودند، اضافه گردید. مشخصات چرخه های حرارتی جهت انجام PCR در

جدول 2. پروفایل حرارتی مورد استفاده جهت external and heminested PCR

Temperature	Time	Cycle
95°C	2 min	1
94°C	1 min	30
50°C	1 min	30
72°C	2 min	30
72°C	7 min	1

HM063447-، GU329396-GU329408
GenBank در GQ209100 و HM063447
database ثبت گردید.

یافته های پژوهش

از تعداد 179 نمونه بررسی شده از کودکان زیر 5 سال مبتلا به علائم حاد تنفسی، تعداد 72 نمونه تنفسی در سال 1386 و تعداد 107 نمونه در سال 1388 جمع آوری گردید. در این مطالعه از 72 نمونه تنفسی بررسی شده در سال 1386 تعداد 14 نمونه (19/44 درصد) از لحاظ HRSV مثبت تشخیص داده شدند که همگی به زیرگروه A تعلق داشتند و هیچ ژنوتیپی از زیرگروه B در این سال شناسایی نگردید. در حالی که، از 107 نمونه تنفسی آزمایش شده در سال 1388 تعداد 24 نمونه (22/42 درصد) از لحاظ HRSV مثبت بودند که از این تعداد 16 نمونه (67 درصد) مربوط به زیرگروه A و 8 نمونه (33 درصد) به زیرگروه B تعلق داشتند. (جدول 3)

سپس 10 میکرولیتر از محصول نهایی PCR به وسیله ژل آگارز 1/5 درصد حاوی اتیدیوم برمایید زیر نور فرابنفش و با استفاده از 100 bp DNA size marker مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که محصول نهایی PCR برای هر دو زیرگروه A و B حدود 400 bp بود. محصولات نهایی PCR با استفاده از پرایمرهای داخلی و به وسیله 310 ABI PRISM genetic analyzer و ABI PRISM BigDye Terminator cycle sequencing ready reaction kit تعیین توالی نوکلئوتیدی گردید.

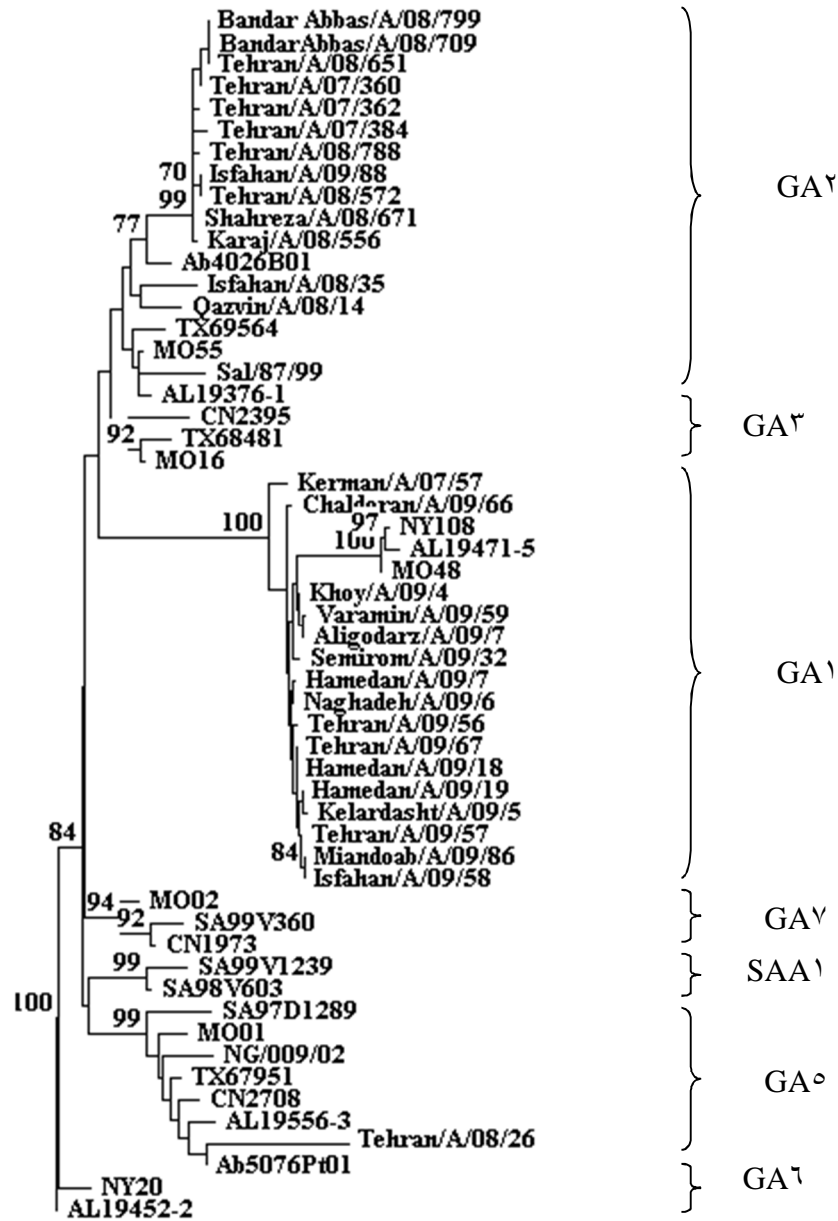
توالی های نوکلئوتیدی به دست آمده در این مطالعه با توالی های موجود در GenBank database به وسیله نرم افزار CLUSTAL X (version 1/83) مورد بررسی قرار گرفت و درخت فیلوژنی با استفاده از روش neighbor-joining در نرم افزار TREECON رسم گردید. تمام توالی های نوکلئوتیدی به دست آمده از ناحیه متغییر دوم ژن G ویروس HRSV در این مطالعه با شماره های

جدول 3. توزیع زیرگروه و ژنوتیپ های ویروس HRSV در سال های 1386 و 1388 در ایران

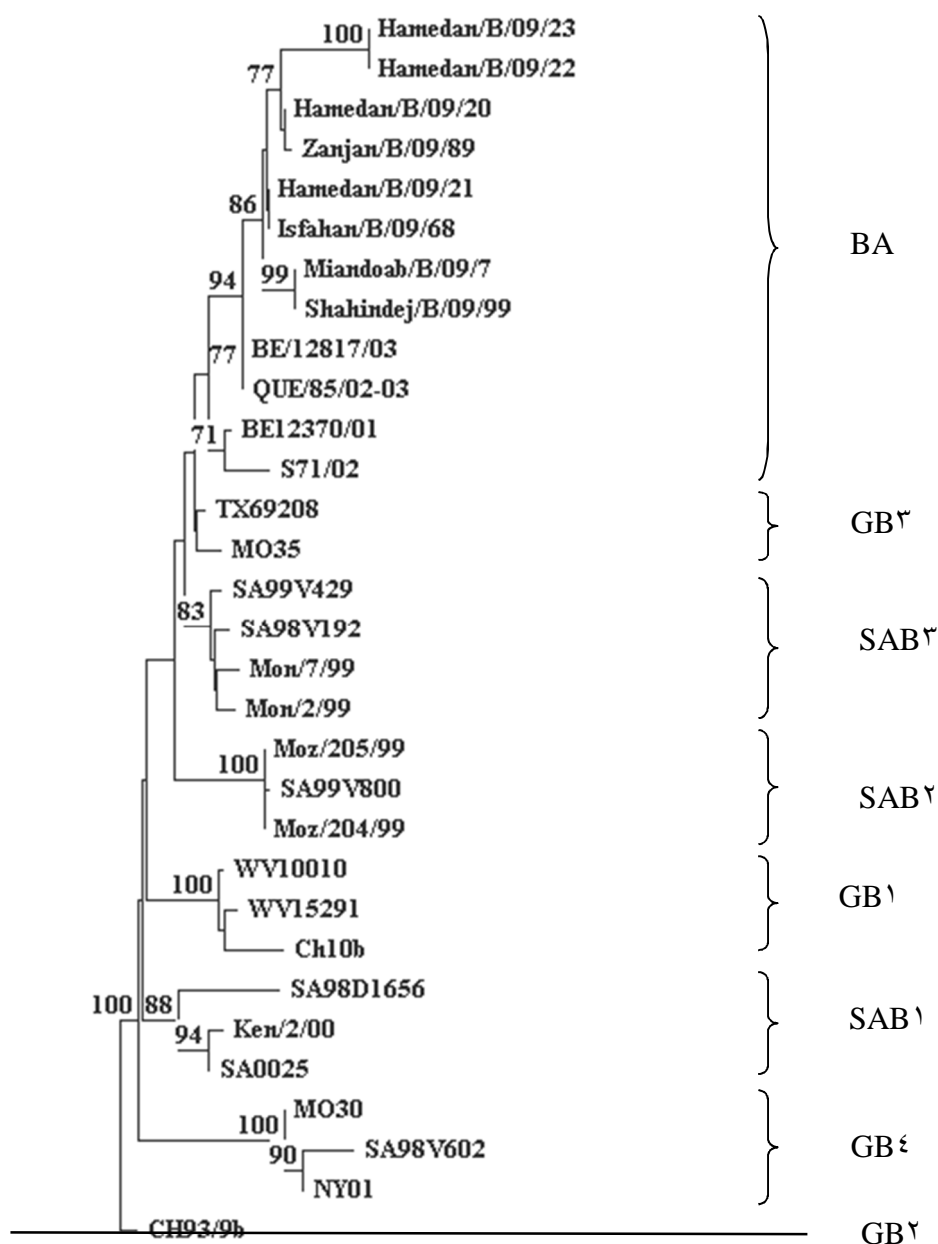
ژنوتیپ	زیرگروه	سال 1386		سال 1388	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
GA ¹	A	1	7	15	63
GA ²	A	12	86	1	4
GA ⁵	A	1	7	-	-
BA	B	-	-	8	33
جمع		14	100	24	100

1388 به ژنوتیپ BA تعلق دارند، (شکل 2). از آن جایی که در سال 1386 ژنوتیپ GA² در 12 نمونه (86 درصد) مثبت شناسایی گردید، GA² ژنوتیپ غالب در این سال محسوب می شود، در حالی که 15 نمونه (63 درصد) مثبت از لحاظ HRSV در سال 1388 متعلق به ژنوتیپ GA¹ می باشد که از این رو GA¹ ژنوتیپ غالب در سال 1388 تلقی می شود.

بررسی های فیلوژنیک نشان می دهد که نمونه های مثبت HRSV در سال 1386 در 3 ژنوتیپ قرار می گیرند: 12 سویه در ژنوتیپ GA²، 1 سویه در ژنوتیپ GA¹ و 1 سویه در ژنوتیپ GA⁵؛ در حالی که، سویه های زیرگروه A در سال 1388 در 2 ژنوتیپ یعنی 15 سویه در ژنوتیپ GA¹ و 1 سویه در ژنوتیپ GA² طبقه بندی می شوند، (شکل 1). هم چنین تمامی سویه های زیرگروه B ویروس HRSV در سال



شکل 1. توالی های نوکلئوتیدی سویه های زیر گروه A ویروس HRSV به دست آمده در این مطالعه با توالی های موجود در GenBank database به وسیله نرم افزار CLUSTAL X (version 1/83) مرتب شده و درخت فیلوژنی با استفاده از روش neighbor-joining در نرم افزار TREECON رسم گردید. سویه های HRSV به دست آمده در ایران با ترتیب شماره نمونه/سال میلادی/زیرگروه/شهر مشخص شده است. هم چنین سکانس های رفرانس جهت رسم درخت فیلوژنی عبارتند از: (GA¹); MO48, AL19452-2, and NY108; (GA²); Ab4026B01, TX69564, MO55, and Sal/87/99; (GA³); MO16, CN2395, and TX68481; (GA⁴); Kerman/A/07/57, Chaharmahal/A/09/66, NY108, AL19471-5, MO48, Koy/A/09/4, Varamin/A/09/59, Aligodarz/A/09/7, Semrom/A/09/32, Hamedan/A/09/7, Naghadeh/A/09/6, Tehran/A/09/56, Tehran/A/09/67, Hamedan/A/09/18, Hamedan/A/09/19, Kelardash/A/09/5, Tehran/A/09/57, Miandoab/A/09/86, and Isfahan/A/09/58; (GA⁵); Ab5076Pt01; (GA⁶); NY20 and AL19452-2; (GA⁷); MO02, SA99V360, CN1973, SA99V1239, SA98V603, SA97D1289, MO01, NG/009/02, TX67951, CN2708, AL19556-3, and Tehran/A/08/26; (SAA¹); SA99V1239 and SA99V1239 (SAA¹).



شکل 2. توالی های نوکلئوتیدی سویه های زیر گروه B ویروس HRSV به دست آمده در این مطالعه با توالی های موجود در GenBank database بوسیله نرم افزار CLUSTAL X (version 1/83) مرتب شده و درخت فیلوژنی با استفاده از روش neighbor-joining در نرم افزار TREECON رسم گردید. سویه های HRSV به دست آمده در ایران با ترتیب شماره نمونه/سال میلادی/زیرگروه/شهر مشخص شده است. هم چنین سکانس های فرانس جهت رسم درخت فیلوژنی عبارتند از: WV10010, WV15291, and CH10b (GB¹); CH93-9b (GB²); MO35, and TX69208(GB³); MO30, NY01, and SA98V602 (GB⁴); SA98D1656, SA0025, and Ken/2/00 (SAB¹); SA99V800, Moz/204/99, and Moz/205/99 (SAB²); SA99V429, SA98V192, Mon/7/99, and Mon/2/99 (SAB³); S71/02, QUE/85/02-03, BE/12370/01, and BE/12817/03 (BA).

بحث و نتیجه گیری

ویروس سینسیشیال تنفسی انسان (HRSV) مهم ترین عامل ویروسی عفونت های حاد دستگاه تنفسی کودکان در دنیا شناخته شده است، (3,4,5). این ویروس سالیانه به بستری شدن 18000-75000 و مرگ 90-1900 مورد در ایالات متحده منجر می شود، (16). هم چنین HRSV عامل 27 تا 96 درصد کودکان بستری شده به علت از عفونت های تنفسی در کشورهای در حال توسعه می باشد، (17). از این رو، مطالعات متعددی جهت تعیین ژنوتیپ های این ویروس در کشورهای مختلف از جمله ژاپن (14)، کره جنوبی (18)، هند (19)، آرژانتین (20)، بلژیک (21)، و افریقای جنوبی (22) صورت گرفته است.

مطالعات مختلف روی تنوع ژنتیکی ویروس HRSV نشان می دهد که ویروس های HRSV مربوط به زیرگروه A به 8 ژنوتیپ (SAA¹) و GA¹⁻⁷) و ویروس های زیرگروه B نیز به 8 ژنوتیپ (BA) و SAB¹⁻³ و GB¹⁻⁴) طبقه بندی می شوند. (23)

اگر چه مطالعاتی در مورد شیوع ویروس HRSV در ایران صورت گرفته است، اما این مطالعه به بررسی تنوع ژنوتیپ های این ویروس در سال های 1386 و 1388 در ایران پرداخته که به نتایج زیر انجامید: به ترتیب از تعداد 72 و 107 نمونه تنفسی آزمایش شده در سال های 1386 و 1388، تعداد 14 (19/44 درصد) و 24 (22/42 درصد) نمونه از لحاظ HRSV مثبت بودند. درصد شیوع HRSV در این دو سال مشابه مطالعات دیگر در سایر مناطق دنیا از جمله 18/4 درصد در مالزی (24)، 16/2 درصد در آلمان (25)، 25/56 درصد در اردن (26) و 21 درصد در اتریش (27) و 19/18 درصد در مطالعه میلانی در ایران (28) می باشد.

تمام نمونه های مثبت HRSV در سال 1386 به زیرگروه A تعلق داشته و هیچ ژنوتیپی از زیرگروه B در این سال یافت نشده است. هم چنین از 24 نمونه مثبت در سال 1388 تعداد 16 نمونه (67 درصد) به زیرگروه A مربوط می شود و 8 نمونه (33 درصد) به زیرگروه B تعلق دارد. در نتیجه، این مطالعه شیوع کمتر سویه های زیرگروه B را نسبت به سویه های زیرگروه A نشان

می دهد که این امر می تواند در اثر تغییرات ژنتیکی و موتاسیون های کمتر سویه های زیرگروه B نسبت به زیرگروه A باشد که منجر به کاهش قابلیت فرار این ویروس ها از سیستم ایمنی بدن و شیوع کمتر آن ها می گردد. مطالعات نشان می دهد کودکانی که به سویه های زیرگروه B آلوده می شوند ایمنی پایدارتری نسبت به سویه های زیرگروه A ایجاد می کنند که به کاهش شیوع این ویروس ها منجر می شود. (29)

بررسی های فیلوژنیک نشان می دهد نمونه های مثبت HRSV در سال 1386 در 3 ژنوتیپ GA¹، GA² و GA⁵ از زیرگروه A قرار می گیرند. در حالی که، نمونه های مثبت زیرگروه A در سال 1388 به دو ژنوتیپ GA¹ و GA² تعلق دارند. هم چنین تمام نمونه های مثبت زیرگروه B در سال 1388 در ژنوتیپ BA قرار می گیرند.

بنابراین، این مطالعه گردش هم زمان چندین ژنوتیپ از ویروس HRSV در سال های 1386 و 1388 را در ایران نشان می دهد. از طرفی، با توجه به شناسایی ژنوتیپ GA² در 12 نمونه (86 درصد) مثبت در سال 1386 و ژنوتیپ GA¹ در 15 نمونه (63 درصد) در سال 1388، ژنوتیپ های GA² و GA¹ به ترتیب به عنوان ژنوتیپ غالب در سال 1386 و 1388 گزارش می شوند. از این رو، این مطالعه تغییر ژنوتیپ های غالب ویروس HRSV در دو سال 1386 و 1388 را نشان داد که این امر می تواند با چندین فاکتور از جمله عفونت زایی ویروس، ایمنی گروهی در جامعه و تغییرات آنتی ژنی در اثر موتاسیون های خود به خودی مرتبط باشد. (9)

در پایان مطالعات بیشتر جهت تعیین ژنوتیپ های HRSV و چگونگی تغییر ژنوتیپ های شایع زیرگروه های A و B این ویروس در ایران پیشنهاد می کنیم، چرا که درک صحیح از این مقوله می تواند در پیش بینی ژنوتیپ های غالب و طراحی برنامه های پیش گیرانه در مقابل این ویروس بسیار مفید واقع شود.

سپاس گذاری

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران به شماره قرارداد 9011 می باشد. و

برخود لازم می دانیم از مرکز تحقیقات بیماری های عفونی کودکان جهت تأمین نمونه های تنفسی تشکر و قدردانی نمائیم.

References

- ۱-Hijazi Z, Pacsa A, Eisa S, el Shazli A, Abd el-Salam RA. Laboratory diagnosis of acute lower respiratory tract viral infections in children. *J Trop Pediatr* ۱۹۹۶; ۴۲(۵): ۲۷۶-۸۰.
- ۲-Hinman AR. Global progress in infectious disease control. *Vaccine* ۱۹۹۸; ۱۶: ۱۱۱۶-۲۱.
- ۳-Holberg CA, Wright AL, Martinez FD, Ray CG, Taussig LM, Lebowitz MD. Risk factors for respiratory syncytial illnesses in the first year of life. *Am J Epidemiol* ۱۹۹۱; ۱۳۳: ۱۱۳۵-۵۱.
- ۴-Brandt CD, Kim HW, Arrobio JO, Jefferies BC, Wood SC, Chanock RH, Parrott RH. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington DC. Composite analysis of eleven consecutive yearly epidemics. *Am J Epidemiol* ۱۹۷۳; ۹۸: ۳۵۵-۶۴.
- ۵-Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Jeffries BC, Pyles G, Reid JL, Chanock RM, Parrott RH. Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington DC. Importance of the virus in different respiratory tract disease syndromes and temporal distribution of infection. *Am J Epidemiol* ۱۹۷۳; ۹۸: ۲۱۶-۲۵.
- ۶-Brooks GF, Butel JS, Mores SA. Jawetz, Melnick & Adelbergs medical microbiology. ۲۱st ed. Connecticut: Appleton & Lange ۱۹۹۸. p.۵۱۵-۱۷.
- ۷-Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of the primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child* ۱۹۸۶; ۱۴۰: ۵۴۳-۶.
- ۸-Anderson LJ, Hierholzer JC, Tsou C, Hendry RM, Fernie BF, Stone Y, et al. Antigenic characterization of respiratory syncytial virus strains with monoclonal antibodies. *J Infect Dis* ۱۹۸۵; ۱۵۱: ۶۲۶-۳۳.
- ۹-Sullender WM. Respiratory syncytial virus genetic and antigenic diversity. *Clin Microbiol* ۲۰۰۰; ۱۳: ۱۱-۱۵.
- ۱۰-Coates, HV, Alling DW, Chanock RM. An antigenic analysis of respiratory syncytial virus isolates by a plaque reduction neutralization test. *Am J Epidemiol* ۱۹۶۶; ۸۳: ۲۹۹-۳۱۳.
- ۱۱-Johnson PR, Spriggs MK, Olmsted RA, Collins PL. The G glycoprotein of human respiratory syncytial viruses of subgroups A and B: Extensive sequence divergence between antigenically related proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* ۱۹۸۷; ۸۴: ۵۶۲۵-۵۶۲۹.
- ۱۲-Peret TC, Hall CB, Hammond GW, Piedra PA, Storch GA, Sullender WM, Tsou C, Anderson LJ. Circulation patterns of group A and B human respiratory syncytial virus genotypes in communities in North America. *J Infect Dis* ۲۰۰۰; ۱۸۱: ۱۸۹۱-۱۸۹۶.
- ۱۳-Peret TC, Hall CB, Schnabel KC, Golub JA, Anderson LJ. Circulation patterns of genetically distinct group A and B strains of human respiratory syncytial virus in a community. *J Gen Virol* ۱۹۹۸; ۷۹: ۲۲۲۱-۲۲۲۹.
- ۱۴-Sato M, Saito R, Sakai T, Sano Y, Nishikawa M, Sasaki A, Shobugawa Y, Gejyo F, Suzuki H. Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus infections among children with acute respiratory symptoms in a community over three seasons. *J Clin Microbiol* ۲۰۰۵; ۴۳: ۳۶-۴۰.
- ۱۵-Venter M, Madhi SA, Tiemessen CT, Schoub BD. Genetic diversity and molecular epidemiology of respiratory syncytial virus over four consecutive seasons in South Africa: Identification of new subgroup A and B genotypes. *J Gen Virol* ۲۰۰۱; ۸۲: ۲۱۱۷-۲۱۲۴.
- ۱۶-Anderson L, Parker R, Strikas R. Association between respiratory syncytial virus outbreaks and lower respiratory tract deaths of infants and young children. *J Infect Dis* ۱۹۹۰; ۱۶۱: ۶۴۰-۶۴۶.

- ۱۷-Weber M, Mulholland E, Greenwood B. Respiratory syncytial virus infection in tropical and developing countries. *Trop Med Int Health* ۱۹۹۸; ۳: ۲۶۸-۲۸۰.
- ۱۸-Choi EH, Lee HJ. Genetic diversity and molecular epidemiology of the G protein of subgroups A and B of respiratory syncytial viruses isolated over ۹ consecutive epidemics in Korea. *J Infect Dis* ۲۰۰۰; ۱۸: ۱۵۴۷-۵۶.
- ۱۹-Parveen S, Sullender WM, Fowler K, Lefkowitz EJ, Kapoor SK, Broor S. Genetic variability in the G protein gene of group A and B respiratory syncytial viruses from India. *J Clin Microbiol* ۲۰۰۶; ۴۴: ۳۰۵۵-۶۴.
- ۲۰-Galiano MC, Palomo C, Videla CM, Arbiza J, Melero JA, Carballal G. Genetic and antigenic variability of human respiratory syncytial virus (groups a and b) isolated over seven consecutive seasons in Argentina (۱۹۹۵ to ۲۰۰۱). *J Clin Microbiol* ۲۰۰۵; ۴۳: ۲۲۶۶-۷۳.
- ۲۱-Zlateva KT, Lemey P, Moes E, Vandamme AM, Van Ranst M. Genetic variability and molecular evolution of the human respiratory syncytial virus subgroup B attachment G protein. *J Virol* ۲۰۰۵; ۷۹: ۹۱۵۷-۶۷.
- ۲۲-Venter M, Madhi SA, Tiemessen CT, Schoub BD. Genetic diversity and molecular epidemiology of respiratory syncytial virus over four consecutive seasons in South Africa: identification of new subgroup A and B genotypes. *J Gen Virol* ۲۰۰۱; ۸۲: ۲۱۱۷-۲۴.
- ۲۳-Ostlund MR, Lindell AT, Stenler S, Riedel HM, Wirgart BZ, Grillner L. Molecular epidemiology and genetic variability of respiratory syncytial virus (RSV) in Stockholm, ۲۰۰۲-۲۰۰۳. *J Med Virol* ۲۰۰۸; ۸۰(۱): ۱۵۹-۶۷.
- ۲۴-Chan PW, Chew FT, Tan TN, Chua KB, Hooi PS. Seasonal variation in respiratory syncytial virus chest infection in the tropics. *Pediatr Pulmonol* ۲۰۰۲; ۳۴: ۴۷-۵۱.
- ۲۵-Weigl JA, Puppe W, Schmitt HJ. Seasonality of respiratory syncytial virus-positive hospitalizations in children in Kiel, Germany, over a ۷-year period. *Infection* ۲۰۰۲; ۳۰: ۱۸۶-۹۲.
- ۲۶-Bdour S. Respiratory syncytial virus subgroup A in hospitalized children in Zarqa, Jordan. *Ann Trop Paediatr* ۲۰۰۱; ۲۱: ۲۵۳-۶۱.
- ۲۷-Resch B, Gusenleitner W, Muller W. The impact of respiratory syncytial virus infection: a prospective study in hospitalised infants younger than ۲ years. *Infection* ۲۰۰۲; ۳۰: ۱۹۳-۷.
- ۲۸-Milani M. [Respiratory syncytial virus infection among young children with acute respiratory infection]. *Acta Medica Iranica* ۲۰۰۳; ۴۱(۴): ۲۶۹-۷۲. (Persian)
- ۲۹-Hall CB, Walsh EE, Schnabel KC, Long CE, McConnochie KM, Hildreth SW, et al. Occurrence of groups A and B of respiratory syncytial virus over ۱۵ years: associated epidemiologic and clinical characteristics in hospitalized and ambulatory children. *J Infect Dis* ۱۹۹۰; ۱۶۲: ۱۲۸۳-۹۰.

A Study of Human Respiratory Syncytial Virus Genotypes in Children Less Than 5 Years of Age with Acute Respiratory Symptoms in 2007 and 2009

Faghihloo E¹, Rezaei F¹, Salimi V¹, Naseri M¹, Mamishi S², Mahmoodi M³, Mokhtari-Azad T^{1*}

(Received: 16 April. 2010 Accepted: 11 July. 2010)

Abstract

Introduction: Human respiratory syncytial virus (HRSV) is the most important viral agent of acute respiratory infection in children less than 5 years age worldwide. HRSV is responsible for 50% bronchiolitis and 25% pneumonia in infants. There are limited data of HRSV genotypes from developing countries. The aim of this study was to investigate HRSV genotypes in 2007 and 2009 in Iran.

Materials & Methods: 72 and 107 respiratory samples were collected from children less than 5 years of age with acute respiratory infection in 2007 and 2009, respectively, whom were tested for G glycoprotein gene of HRSV by RT-PCR.

Findings: Of the 72 respiratory samples tested in 2007, 14 samples (19,44%) were positive for HRSV and fell on three

genotypes: 12 strains in GA2, 1 strain in GA1, and 1 strain in GA5. Whereas, of the 107 respiratory samples tested in 2009, 24 samples (22,24%) were positive that 16 (67%) belonged to subgroup A genotypes: 15 strains in GA1, and 1 strain in GA2, whereas, 8 (33%) clustered in genotype BA in subgroup B.

Discussion & Conclusion: This study revealed that multiple genotypes of HRSV were cocirculated on years 2007 and 2009 in Iran. Also our results showed that subgroup A strains were more prevalent than subgroup B viruses, GA2 and GA1 genotypes were predominant genotypes on years 2007 and 2009, respectively.

Keywords: human respiratory syncytial virus, genotype, acute respiratory infection

1. Dept of Pathobiology, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Dept of Infectious Diseases Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Dept of Biostatic & Epidemiology, Faculty of Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*(corresponding author)