



## بررسی فراوانی عفونت همزمان ویروس های تنفسی در نمونه های تنفسی افراد مشکوک به بیماری کووید-۱۹

پارسا ویسی: کارشناس ارشد ویروس شناسی، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران  
سمیه شاطی زاده ملک شاهي: استادیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران (\* نویسنده مسئول)  
s.shatizadeh@modares.ac.ir

### چکیده

#### کلیدواژه ها

کووید-۱۹،  
کروناویروس سارس ۲،  
عفونت همزمان،  
متاپنوموویروس،  
ویروس تنفسی

**زمینه و هدف:** در اواخر سال ۲۰۱۹ میلادی کروناویروس سارس ۲ (SARS-CoV-2) به عنوان عامل ایجاد کننده سندرم حاد تنفسی موسوم به کووید-۱۹ (COVID-19) شناسایی گردید. از آنجایی که ویژگی های بالینی عفونت های تنفسی ویروسی غیر قابل افتراق است، تشخیص عفونت های دوگانه در نمونه های بالینی می تواند حائز اهمیت باشد. این مطالعه، با هدف بررسی فراوانی عفونت همزمان با ویروس های تنفسی بین دو گروه افراد SARS-CoV-2 ± در ایران انجام شد.

**روش کار:** مطالعه حاضر به صورت مقطعی در اوایل پاندمی در بازه آذر ۱۳۹۹ تا اسفند ۱۳۹۹ انجام گرفت. نمونه های سوآب اوروفارنکس / نازوفارنکس افراد مشکوک به بیماری COVID-19 از آزمایشگاه بیمارستان لیبافی نژاد تهران، جمع آوری گردید. تعداد ۱۹۷ نمونه (۹۱ مورد SARS-CoV-2 مثبت و ۱۰۶ مورد منفی) وارد مطالعه شدند. محصول استخراج نمونه های منتخب جهت تشخیص عفونت های همزمان با سایر ویروس های تنفسی با استفاده از کیت ژنووا با نام (HiTeq 17 Viro Respiratory Pathogen One Step) Geneova (RT-PCR Kit) بررسی شدند.

**یافته ها:** در مجموع ۳۷ ویروس (۱۸/۷۸ درصد) در ۱۹۷ جمعیت مورد مطالعه شناسایی شد. ۱۴ نفر (۷/۱ درصد) عفونت با متاپنوموویروس انسانی، ۴ نفر (۲ درصد) عفونت RSV، ۳ نفر (۱/۵ درصد) آنفلوآنزای A، B، ۲ نفر (۱ درصد) عفونت با ویروس پارانفلوآنزای ۸ نفر (۴/۱ درصد) عفونت NL63، ۳ نفر (۱/۵ درصد) عفونت HKU1، ۲ نفر (۱ درصد) عفونت آدنووایروس، و ۱ نفر (۰/۵ درصد) عفونت بوکاوایروس داشتند. متاپنوموویروس انسانی شایع ترین پاتوژن هم در بیماران SARS-CoV-2 مثبت (۷/۷ درصد) و هم SARS-CoV-2 منفی (۶/۶ درصد) بود.

**نتیجه گیری:** این داده ها به درک ما از اپیدمیولوژی انواع مختلف پاتوژن های تنفسی ویروسی در بیماران مشکوک به COVID-19 در ایران کمک نمود. کاهش شیوع ویروس های تنفسی در طول پاندمی کووید-۱۹ در ایران ممکن است به دلیل رعایت پروتکل های بهداشتی، رعایت فاصله اجتماعی، استفاده از ماسک و تعطیلی مدارس اتفاق افتاده باشد.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت کننده:** حامی مالی ندارد.

شيوه استناد به این مقاله:

Veisi P, Shatizadeh Malekshahi S. Investigation of the Frequency of Respiratory Viral Co-Infection in Respiratory Samples of Suspected COVID-19 Patients. Razi J Med Sci. 2023(2 Dec);30.135.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 4.0 صورت گرفته است.

## Investigation of the Frequency of Respiratory Viral Co-Infection in Respiratory Samples of Suspected COVID-19 Patients

**Parsa Veisi:** MSc in Virology, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

**Somayeh Shatizadeh Malekshahi:** PhD, Department of Virology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (\*Corresponding Author) [s.shatizadeh@modares.ac.ir](mailto:s.shatizadeh@modares.ac.ir)

### Abstract

**Background & Aims:** Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a pathogenic coronavirus that emerged in late 2019 and has caused a pandemic of acute respiratory disease, named ‘coronavirus disease 2019’ (COVID-19), which threatens human health and public safety. This virus has spread fast all over the world and declared a pandemic by the World Health Organization (WHO) (1). In early 2020 and recent literature has shown that co-infection of SARS-CoV-2 with other respiratory viruses might occur (2-4). The most common viral agents causing respiratory tract infection are influenza viruses (IFVs), adenoviruses (AdVs), parainfluenza viruses (PIVs), respiratory syncytial virus (RSV), and rhinoviruses (RVs). In addition, intensive investigations have led to the identification of new human respiratory viruses, including human metapneumovirus (hMPV) and human bocavirus (HBoV) (5). Therefore, identifying the epidemiological patterns of respiratory pathogens may be useful for stopping the epidemic spread of COVID-19, providing information for the development of optimal diagnosis (7). In this study, the presence of the respiratory syncytial virus, human metapneumovirus virus, adeno, boca, parainfluenza, influenza A and B, endemic coronaviruses including NL63, OC43, 229E, and HKU-1 among specimens with positive and negative SARS-CoV-2 tests was investigated.

**Methods:** This cross-sectional study was conducted at the beginning of the pandemic between December 2019 and March 2020. In this study, oropharyngeal/nasopharyngeal swab samples of patients suspected of COVID-19 were collected from the laboratory of Labafinejad Hospital in Tehran. A total of 197 samples (91 positive for SARS-CoV-2 and 106 negative) were included in the study. Total nucleic acids (DNA and RNA) were extracted from 200 µL oropharyngeal/nasopharyngeal swab specimens by GeneAll Ribospin vRD DNA/RNA Extraction Kit (Seoul, South Korea) according to the manufacturer’s instruction. The extracted specimens were tested by real-time reverse transcription PCR (rRT-PCR) with novel coronavirus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit (PCR-Fluorescence Probing) (Sansure Biotech Inc.) using the Rotor-Gene® Q instrument targeting the ORF1ab and N genes of SARSCoV-2 RNA. Internal control targeting the RNase P gene was used to monitor the sample collection and rRT-PCR process to avoid false-negative results. Afterward, the remaining total nucleic acids were stored at -80°C for analysis of viral respiratory pathogens. The residual total nucleic acids were subjected to the real-time PCR assay for the detection of respiratory viral pathogens using the real-time thermal cycler Mic qPCR instrument (BioMolecular Systems). In this study, Geneova HiTeq 17 Viro Respiratory Pathogen One-step RT-PCR Kit as a multiplex TaqMan one-step real-time PCR method was used. It can detect various respiratory viral pathogens including SARS-CoV-2, Flu/A, Flu/B, Flu H1N1, HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-HKU1, HCoV-229E, HCoV-OC43, PIV1/2/3, AdV, hRV, HBoV1/2/3, hMPV, and RSV. The reactions were named as an unknown sample, positive control, and negative control. Tube 1: Fam channel (SARS-CoV-2 virus), HEX channel

### Keywords

COVID-19,  
Coinfection,  
Metapneumovirus,  
Respiratory tract  
infection,  
SARS-CoV-2

Received: 05/08/2023

Published: 02/12/2023

(RNase P gene as internal control), Texas Red channel (Influenza A virus), and CY5 channel (Influenza B virus) were selected. Tube 2: channel FAM (influenza H1N1 virus), channel HEX (HCoV-NL63 and HCoV-229E viruses), channel Texas Red (metapneumovirus), and channel CY5 (respiratory syncytial virus) were selected. Tube 3: FAM channel (HKU-1 and OC-43 viruses), HEX channel (parainfluenza viruses 2, 1 and 3), Texas Red channel (bocavirus 2, 1 and 3), and CY5 channel (adenovirus) were selected.

**Results:** In this study, the presence of several respiratory viruses on 197 nasopharyngeal/oropharyngeal swab samples collected from suspected COVID-19 patients was investigated. Among the 197 people who entered the study, 88 people (45%) were women and 109 people (55%) were men. The average age of the subjects was  $58 \pm 13$  years. The most common clinical symptoms found in these patients were fever in 169 people (86%), cough in 133 people (68%), sore throat in 111 people (56%), shortness of breath in 51 people (26%), headache in 47 people (24%), diarrhea in 38 people (19%), and asthma in 18 people (9.1%). Among 197 patients, 64 (32%) had diabetes, 70 (36%) had high blood pressure, 49 (25%) had kidney disease, 24 (12%) had heart disease, and 9.1% had asthma. Therefore, high blood pressure was considered as the most common underlying disease. In general, there was no difference in basic characteristics including age, gender, underlying disease, and clinical manifestations between the two groups. Among 197 patients, 14 people (7.1 percent) were infected with human metapneumovirus, 4 people (2 percent) with RSV infection, 3 people (1.5 percent) with influenza A, B, 2 people (1 percent) with parainfluenza virus, 8 people (1 NL63,229E infection, 3 people (5.1%) had HKU1, OC43 infection, 2 people (1%) had adenovirus infection, and 1 person (0.5%) had bocavirus infection. In this study, a total of 37 viruses (18.78%) were detected in oropharyngeal/nasopharyngeal swab samples from 197 subjects suspected of COVID-19. The results showed that human metapneumovirus was the most common cause of the disease in both groups of SARS-CoV-2 positive people [7 (7.7%)] and SARS-CoV-2 negative people [7 (6.6%)]. In addition, the rate of viral co-infection in SARS-CoV-2 positive (18.68%) and SARS-CoV-2 negative (18.86%) patients was almost the same. In 91 people with positive SARS-CoV-2 test, the infection with other viral infections was in the following order: 7 people (7.7%) infection with metapneumovirus, 2 people (2.2%) with RSV, 1 person (1.1%) influenza A/B, 1 person (1.1%) parainfluenza, 3 people (3.3 NL-63,229E, 1 person (1.1%) HKU1, OC43, 1 person (1.1%) adenovirus, and 1 person (1.1%) also had co-infection with bocavirus.

**Conclusion:** The data presented in this study strengthened our understanding of the epidemiology of different types of viral respiratory pathogens in suspected patients with COVID-19 during the fall and winter of 2019 in Iran. Using the multiplex PCR method, we reported the rate of simultaneous viral respiratory infections of 18.78%, which was mainly human metapneumovirus. Therefore, simultaneous screening of other viral respiratory pathogens will be useful for clinicians and researchers interested in the treatment and control of viral respiratory tract infections. It seems that the reduction of the prevalence of the respiratory syncytial virus, influenza virus, and other respiratory viruses during the COVID-19 pandemic in Iran happened due to public health measures, maintaining social distancing, and wearing masks.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

#### Cite this article as:

Veisi P, Shatizadeh Malekshahi S. Investigation of the Frequency of Respiratory Viral Co-Infection in Respiratory Samples of Suspected COVID-19 Patients. Razi J Med Sci. 2023(2 Dec);30.135.

\*This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.

## مقدمه

در اواخر سال ۲۰۱۹ میلادی کروناویروس سارس ۲ (SARS-CoV-2) به عنوان عامل ایجاد کننده سندرم حاد تنفسی موسوم به کووید-۱۹ (COVID-19) شنا سایی گردید و سازمان بهداشت جهانی آن را یک معضل بهداشتی در جهان مطرح نمود. از اوایل سال ۲۰۲۰ میلادی، این عفونت ویروسی به عنوان عفونت غالب تنفسی در سرتاسر دنیا گسترش پیدا کرد (۱). با توجه به اینکه همه ساله در فصول سرد عفونت های ویروسی تنفسی مانند رینوویروس، ویروس انفلوانزا، ویروس پارانفلوانزا، آدنوویروس و پنوموویروس ها در ایجاد سندرم های تنفسی دخیل بودند، از این رو، امکان ایجاد عفونت همزمان (Co-infection) با SARS-CoV-2 قابل تصور بود. به طوری که در اوایل سال ۲۰۲۰ که عفونت ویروسی SARS-CoV-2 به حالت پاندمیک درآمد، گزارش های اولیه از چین نشان داد که عفونت همزمان با سایر ویروس های تنفسی رخ می دهد (۲-۴). شایع ترین عوامل ویروسی ایجاد کننده عفونت دستگاه تنفسی ویروس انفلوانزا، ویروس سینسیشیال تنفسی، ویروس پارانفلوانزا، رینوویروس، کروناویروس های اندمیک و آدنوویروس می باشند. علاوه بر این، تحقیقات گسترده منجر به شناسایی ویروس های تنفسی جدید از قبیل متاپنوموویروس انسانی و بوکاوویروس شد (۵). علائم بالینی SARS-CoV-2 و سایر ویروس های تنفسی شامل تب، سرفه، پنومونی و سندرم دیسترس تنفسی مشابه یکدیگر می باشد و در بافت های یکسان مانند مجاری تنفسی، برونشیول و سلول های اپیتلیال بیماری ایجاد می کنند (۶). لذا، همزمانی پاندمی کووید-۱۹ ممکن است جمعیت بیشتری را در معرض عفونت با این ویروس و سایر ویروس های تنفسی قرار بدهد. بنابراین تشخیص صحیح برای مدیریت مناسب و به موقع (جلوگیری از مصرف بی رویه آنتی بیوتیک، انتخاب درمان مناسب و کمک به پزشکان و مسئولان حوزه سلامت جهت فهم پروفایل بالینی و اپیدمیولوژیکی عفونت های تنفسی) از اهمیت زیادی برخوردار است (۷). به طور کلی با توجه به اینکه ویژگی های بالینی عفونت های تنفسی ویروسی غیر قابل افتراق است (۸). تشخیص عفونت های دیگر در نمونه های بالینی جهت ارزیابی عواقب بالینی حضور

چندین پاتوژن در دستگاه تنفسی می تواند بسیار حائز اهمیت باشد. در این مطالعه حضور ویروس هایی از قبیل سینسیشیال تنفسی، متاپنوموویروس انسانی، آدنوویروس، بوکاوویروس، پارانفلوانزا، انفلوانزای A و B، کرونا ویروس های اندمیک شامل NL63، OC43، 229E و HKU-1 در دو گروه نمونه های تنفسی مثبت و منفی از نظر SARS-CoV-2 مورد بررسی قرار گرفت.

## روش کار

**نوع مطالعه و جمع آوری نمونه:** مطالعه حاضر به صورت مقطعی طی پاندمی کووید-۱۹ در بازه آذر تا اسفند ۱۳۹۹ انجام گرفت. معیار ورود نمونه ها به مطالعه بدین قرار بود: الف) نمونه های تنفسی مربوط به افرادی که با تشخیص پزشک مشکوک به ابتلا به بیماری COVID-19 در نظر گرفته شده بودند؛ ب) آزمون Real time PCR برای SARS-CoV-2 روی نمونه ها انجام شده بود. از بین این ها تعداد ۱۹۷ نمونه وارد مطالعه شدند که ۹۱ مورد از نظر SARS-CoV-2 مثبت بودند. در این مطالعه، نمونه های سواب اوروفارنکس/نازوفارنکس مربوط به مراجعه کنندگانی که با تشخیص پزشک مشکوک به بیماری COVID-19 بودند از آزمایشگاه بیمارستان لبافی نژاد تهران، جمع آوری گردید. تعداد ۱۹۷ نمونه (۹۱ مورد از نظر SARS-CoV-2 مثبت و ۱۰۶ مورد منفی) وارد مطالعه شدند و تا زمان انجام آزمایش در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. همچنین اطلاعات بالینی و دموگرافیک بیماران از قبیل سن، جنس، علائم بالینی و بیماری های زمینه ای در سیستم بانک اطلاعاتی بیمارستان با مشخصات پذیرش آن ها تطابق داده شده و جمع آوری گردید.

**استخراج ژنوم:** برای استخراج ژنوم ویروسی (SARS-CoV-2) از کیت GeneAll Ribospin vRD DNA/RNA Extraction Kit (Seoul, south Korea) که به طور همزمان RNA و DNA ویروسی را استخراج می کند، طبق پروتکل شرکت سازنده استفاده گردید. ردیابی حضور SARS-CoV-2 در نمونه ها با روش Real time PCR بعد از آماده شدن محصول استخراج، از کیت Novel Coronavirus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit (PCR-Fluorescence

**جدول ۱- برنامه دمایی و زمانی واکنش کیت ژنوا جهت تشخیص عفونت همزمان ویروس های تنفسی**

ترتیب واکنش	مرحله	دما (سانتی گراد)	زمان	تعداد سیکل
۱	cdNA synthesis	۵۰	۱۵ دقیقه	۱
۲	Holding	۹۴	۳ دقیقه	۱
۳	Denaturation	۹۴	۵ ثانیه	۴۶
۴	Annealing, Extension and fluorescence measurement	۶۰	۳۰ ثانیه	۴۶

Step RT-PCR به فرمت ۳۰ تستی می باشد. تیوب‌ها را در داخل دستگاه Real-time thermal cycler Mic qPCR (Bio Molecular Systems) قرار داده و هر کدام از واکنش‌ها (نمونه مجهول، کنترل مثبت، و کنترل منفی) نام گذاری شدند. تیوب ۱: کانال های Fam (ویروس SARS-CoV-2)، کانال HEX (ژن Rnase P به عنوان کنترل داخلی)، کانال Texas Red (ویروس انفلوانزا A) و کانال CY5 (ویروس انفلوانزای B) انتخاب شدند. تیوب ۲: کانال های FAM (ویروس influenza H1N1)، کانال HEX (ویروس های NL63 و HCov-229E)، کانال Texas Red (متاپنوموویروس) و کانال CY5 (ویروس سینسیشال تنفسی) انتخاب شدند. تیوب ۳: کانال های FAM (ویروس های HKU-1 و OC-43)، کانال HEX (ویروس های پارانفلوانزای ۱، ۲، ۳)، کانال Texas Red (بوکاوویروس ۱، ۲، ۳) و کانال CY5 (آدنووویروس) انتخاب شدند. سپس طبق برنامه دمایی و زمان ذکر شده در جدول ۱ واکنش Real time PCR راه اندازی شد.

**آنالیز آماری:** در پایان پس از حصول نتایج، آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار R version 4.1.1 پکیج gtsummary انجام گرفت. p value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

اطلاعات دموگرافیک و بالینی بیماران مشکوک به COVID-19 در این مطالعه، حضور چندین ویروس تنفسی روی ۱۹۷ نمونه سواب نازوفارنکس/اوروفارنکس جمع آوری شده از افراد مشکوک به بیماری COVID-19 مورد بررسی قرار گرفت. از بین ۱۹۷ فردی که وارد مطالعه شدند ۸۸ نفر (۴۵ درصد) را زنان و ۱۰۹ نفر

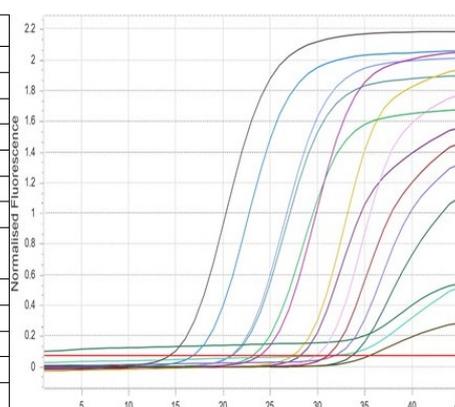
(Sansure Biotech Inc.) (Probing) که بر اساس نواحی ORF1ab و N ژنوم SARS-CoV-2 طراحی شده است، برای بررسی حضور این ویروس در نمونه‌ها با کمک دستگاه Rotor-Gene® Q استفاده شد. همچنین از RNase P به منظور اطمینان از صحت فرایند استخراج و عملکرد دستگاه به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. سپس مابقی ژنوم به فریزر منفی ۷۰ درجه ی سانتی گراد منتقل گردید.

انجام Multiplex Real time RT-PCR جهت شناسایی عفونت همزمان ویروس های تنفسی در افراد مشکوک به بیماری COVID-19 محصول استخراج نمونه های منتخب جهت تشخیص عفونت‌های همزمان با ویروس های تنفسی بررسی شدند. در این مطالعه با استفاده از کیت ژنوا با نام HiTeq 17 GeneovA (Viro Respiratory Pathogen One Step RT-PCR Kit) حضور همزمان پاتوژن های تنفسی دیگر از جمله متاپنوموویروس انسانی، ویروس سن سیشیال تنفسی، کروناویروس های اندمیک (HCoV-OC43، HCoV-HKU-1، HCoV-NL63، HCoV-229E)، Human Influenza B، Influenza A، Bocavirus 1,2,3، Parainfluenza Virus 1,2,3، Influenza H1N1 و Adenovirus مورد بررسی قرار گرفت. این کیت با استفاده از روش TaqMan Real Time PCR قادر به تشخیص همزمان ۱۷ ویروس تنفسی می باشد که نتایج این کیت می تواند به عنوان یک عامل کمک کننده برای تشخیص افتراقی عوامل بیماری زای تنفسی باشد. مخلوط پرایمر، پروب و مسترمیکس این کیت در ۳ مخلوط واکنش جداگانه طراحی شده است که نواحی حفاظت شده ویروس های فوق الذکر را شناسایی می کند. این کیت حاوی موارد مورد نیاز آزمایش One

جدول ۲- میزان کواینفکشن ویروس های مختلف تنفسی در افراد مثبت از نظر SARS-CoV-2

ویروس تنفسی	نتیجه آزمون بررسی SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 (+), N = ۹۱
متاپنوموویروس (۱۹۷)	مثبت	۷ (%۷,۷)
ویروس سینسیشیال تنفسی (۱۹۷)	مثبت	۲ (%۲,۲)
ویروس انفلوانزا (۱۹۷)	مثبت	۱ (%۱,۱)
ویروس پارانفلوانزا (۱۹۷)	مثبت	۱ (%۱,۰۹)
NL63.229E کرونا ویروس (۱۹۷)	مثبت	۳ (%۳,۲۹)
HKU1.OC43 کرونا ویروس (۱۹۷)	مثبت	۱ (%۱,۰۹)
آدنوویروس (۱۹۷)	مثبت	۱ (%۱,۰۹)
بوکاوویروس (۱۹۷)	مثبت	۱ (%۱,۰۹)

Well	Colour	Sample Name	Cq	Efficiency	Efficiency R <sup>2</sup>	Result
1	9/12+		28.26	0.96	0.99996	
2	80		-	-	-	Excluded
3	80		-	-	-	Excluded
4	9/12+		21.08	0.80	0.99999	
5	76		-	-	-	Excluded
6	76		-	-	-	Excluded
7	9/12+		20.97	0.86	0.99958	
8	77		-	-	-	Excluded
9	77		-	-	-	Excluded
10	9/12+		27.46	0.79	0.99988	
11	79		-	-	-	Excluded
12	79		-	-	-	Excluded
13	9/12+		32.35	0.03	0.99640	
14	12		-	-	-	Excluded



شکل ۱- نمودار تکثیر محصولات تعدادی از نمونه های تنفسی مورد مطالعه بر حسب سیکل

(۱۱٪) بیماری قلبی و ۹ نفر (۹,۹٪) آسم داشتند. از بین ۱۰۶ نفر با آزمون SARS-CoV-2 منفی، ۳۳ نفر (۳۱٪) دیابتی، ۳۹ نفر (۳۷٪) فشارخون بالا، ۲۳ نفر (۲۲٪) مشکلات کلیوی، ۱۴ نفر (۱۳٪) بیماری قلبی و ۹ نفر (۸,۵٪) آسم داشتند. لذا، فشار خون بالا به عنوان شایع ترین بیماری زمینه ای در نظر گرفته شد.

در مجموع تفاوتی در ویژگی های پایه شامل سن ( $p=0/1$ )، جنس ( $p=0/5$ )، بیماری زمینه ای (دیابت، فشارخون و آسم ( $p=0/7$ ))، مشکلات کلیوی ( $p=0/3$ ) و بیماری قلبی ( $p=0/6$ )، و تظاهرات بالینی (تب، تنگی نفس و سردرد ( $p=0/7$ ))، گلودرد ( $p=0/53$ ))، اسهال ( $p=0/8$ )، سرفه ( $p=0/9$ ))، بین دو گروه وجود نداشت ( $p>0/05$ ).

**فراوانی عفونت های تنفسی ویروسی:** شیوع عفونت های تنفسی ویروسی متعددی در این مطالعه

(۵۵ درصد) را مردان تشکیل دادند. میانگین سنی افراد  $13 \pm 58$  سال بود. میانگین سنی ۹۱ فرد با آزمون SARS-CoV-2 مثبت ۵۵ (۴۶-۶۴) سال بود و ۴۳ مورد (۴۷٪) از آنان را زنان و ۴۸ مورد (۵۳٪) را مردان تشکیل دادند. میانگین سنی ۱۰۶ فرد با آزمون SARS-CoV-2 منفی ۶۱ (۴۵-۷۱) سال بود و ۴۵ مورد (۴۲٪) از آنان را زنان و ۶۱ مورد (۵۸٪) را مردان تشکیل دادند. شایع ترین علائم بالینی یافت شده در افراد مشکوک به بیماری کووید-۱۹ به ترتیب: تب ۱۶۹ نفر (۸۶ درصد)، سرفه ۱۳۳ نفر (۶۸ درصد)، گلودرد ۱۱۱ نفر (۵۶ درصد)، تنگی تنفس ۵۱ نفر (۲۶ درصد)، سردرد ۴۷ نفر (۲۴ درصد)، اسهال ۳۸ نفر (۱۹ درصد)، و آسم ۱۸ نفر (۹/۱ درصد) بود. از بین ۹۱ بیمار با آزمون SARS-CoV-2 مثبت، ۳۱ نفر (۳۴٪) دیابتی، ۳۱ نفر (۳۴٪) فشارخون بالا، ۲۶ نفر (۲۹٪) مشکلات کلیوی، ۱۰ نفر

2 منفی (۱۰۶ بیمار) در ایران انجام گرفت. به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه مقطعی نشان داد که در مجموع ۳۷ ویروس (۱۸/۷۸ درصد) در ۱۹۷ جمعیت مورد مطالعه شناسایی شد. این نتیجه نشان می‌دهد که میزان عفونت همزمان بین SARS-CoV-2 و سایر پاتوژن‌های تنفسی نسبت به سایر مطالعات انجام گرفته در کانادا (۹) و فرانسه (۱۰) بیشتر، اما از میزان گزارش شده در کالیفرنیا (۱۱) و چین (۱۲) کمتر است. متاپنوموویروس انسانی شایع‌ترین پاتوژن هم در بیماران SARS-CoV-2 مثبت و هم در بیماران SARS-CoV-2 منفی در این مطالعه بود.

لازم به ذکر است اولین مورد عفونت با SARS-CoV-2 در ایران، در آقای ۶۷ ساله اهل قم مبتلا به عفونت حاد تنفسی در تاریخ ۱۳ فوریه سال ۲۰۱۹ توسط دکتر یاوریان و همکاران در مرکز ملی انفلوآنزای ایران شناسایی گردید (۱۳). بعد از آن مطالعات محدودی در خصوص عفونت همزمان SARS-CoV-2 با سایر ویروس‌های تنفسی در ایران گزارش شد. در ماه‌های اولیه پاندمی در ایران هاشمی و همکارانش میزان بالای ابتلا به SARS-CoV-2 (۲۲/۳ درصد) با ویروس انفلوآنزای A در بین ۱۰۵ بیمار فوت شده COVID-19 در شمال شرق ایران (بجنورد) را گزارش نمودند. در این ۱۰۵ نمونه، ۲۲/۳٪ عفونت همزمان با ویروس انفلوآنزای H1N1، ۹/۷٪ با RSV، ۹/۷٪ با بوکاوویروس، ۳/۹٪ با ویروس انفلوآنزای A/B با آدنووایروس و ۲/۹٪ با متاپنوموویروس گزارش شد (۱۴). آن‌ها به این نتیجه رسیدند که این حالت ممکن است مربوط به گردش بالای ویروس انفلوآنزای فصلی در طول زمان مطالعه از اوایل مارس تا اواخر آوریل ۲۰۲۰ باشد. همچنین مطالعه‌ای در شیراز توسط زهره خدامرادی و همکاران عفونت همزمان ۴ فرد مبتلا به SARS-CoV-2 و ویروس انفلوآنزا را گزارش نمودند. آن‌ها نیز دلیل این مسئله را همپوشانی بین ظهور SARS-CoV-2 و انفلوآنزای فصلی اعلام نمودند (۱۵). بر اساس نتایج مقالات مرور سیستماتیک و متآنالیز، در دوره قبل از پاندمی COVID-19 در ایران که توسط داداشی و همکارانش در سال ۲۰۱۸ انجام شد نشان داد که شیوع

مورد بررسی قرار گرفت. از بین ۱۹۷ بیمار، ۹۱ نفر (۴۶/۲ درصد) از نظر عفونت SARS-CoV-2 مثبت و ۱۰۶ نفر (۵۳/۸ درصد) از نظر SARS-CoV-2 منفی شدند. ۱۴ نفر (۷/۱ درصد) عفونت با متاپنوموویروس انسانی، ۴ نفر (۲ درصد) عفونت RSV، ۳ نفر (۱/۵ درصد) انفلوآنزای A, B، ۲ نفر (۱ درصد) عفونت ویروس پارانفلوآنزا، ۸ نفر (۴/۱ درصد) عفونت NL63,229E، ۳ نفر (۵/۱ درصد) عفونت HKU1,OC43، ۲ نفر (۱ درصد) عفونت آدنووایروس و ۱ نفر (۰/۵ درصد) عفونت بوکاوویروس داشتند.

نتایج عفونت همزمان SARS-CoV-2 با سایر ویروس‌های تنفسی در این مطالعه در مجموع ۳۷ ویروس (۱۸/۷۸ درصد) در نمونه‌های سواب اوروفارنکس/نازوفارنکس از ۱۹۷ فرد مورد مطالعه مشکوک به بیماری COVID-19 شناسایی شد. نتایج حاصل نشان داد که در مجموع متاپنوموویروس انسانی شایع‌ترین عامل بیماری در هر دو گروه افراد SARS-CoV-2 مثبت [۷/۷ (۷ درصد)] و افراد SARS-CoV-2 منفی [۶/۶ (۶ درصد)] بود. علاوه بر این، میزان عفونت همزمان ویروسی در بیماران SARS-CoV-2 مثبت (۱۸/۶۸ درصد) و SARS-CoV-2 منفی (۱۸/۸۶) تقریباً یکسان بود. در ۹۱ نفر از افراد با عفونت SARS-CoV-2 مثبت عفونت همزمان با سایر عفونت‌های ویروسی به ترتیب زیر بود. ۷ نفر (۷/۷ درصد) عفونت با متاپنوموویروس، ۲ نفر (۲/۲ درصد) با RSV، ۱ نفر انفلوآنزای A/B (۱/۱ درصد)، ۱ نفر پارانفلوآنزا، ۳ نفر (۳/۳ درصد) NL-63,229E، ۱ نفر (۱/۱ درصد) HKU1,OC43، ۱ نفر (۱/۱ درصد) آدنووایروس، و ۱ نفر (۱/۱ درصد) نیز عفونت همزمان با بوکاوویروس داشتند (جدول ۲). نمونه‌ای از نتیجه به دست آمده از دستگاه Real time PCR در شکل ۱ قابل مشاهده است.

## بحث

مطالعه حاضر به منظور بررسی عفونت‌های همزمان در افراد مشکوک به بیماری COVID-19 در دو گروه افراد SARS-CoV-2 مثبت (۹۱ بیمار) و SARS-CoV-

CoV-2 احتمالاً تأثیر زیادی در گسترش پاتوژن‌های تنفسی داشته است (۲۷).

یکی از محدودیت‌های این مطالعه، محدودیت حجم نمونه بود. مورد دوم با توجه به اینکه این مطالعه تنها در یک بیمارستان استان تهران انجام شده است، تعمیم نتایج آن به مناطق دیگر باید با احتیاط صورت گیرد.

### نتیجه‌گیری

داده‌های ارائه شده در این مطالعه به درک ما از اپیدمیولوژی انواع مختلف پاتوژن‌های تنفسی ویروسی در بیماران مشکوک به COVID-19 در طی پاییز و زمستان ۱۳۹۹ در ایران کمک نمود. میزان عفونت‌های تنفسی همزمان ویروسی ۱۸/۷۸٪ که عمدتاً متاپنوموویروس انسانی بود، را گزارش نمودیم. بنظر می‌رسد کاهش شیوع ویروس سینسیشیال تنفسی، ویروس انفلوانزا و سایر ویروس‌های تنفسی در طول پاندمی کوید ۱۹ در ایران به دلیل رعایت پروتکل‌های بهداشتی، رعایت فاصله اجتماعی، استفاده از ماسک و تعطیلی مدارس اتفاق افتاده باشد.

### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاری بیمارستان لبافی نژاد در جهت کمک به این تحقیق تشکر می‌نماییم. این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی می‌باشد. این تحقیق با تایید کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس و با کد IR.MODARES.REC.1399.011 به تصویب رسید.

### References

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 Feb 20;382(8):727-733.
2. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395(10223):507-13.
3. Lai CC, Wang CY, Hsueh PR. Co-infections among patients with COVID-19: The need for

عفونت ویروس سینسیشیال تنفسی در ایران ۱۸/۷ درصد می‌باشد (۱۶). در این راستا میزان عفونت ویروس انفلوانزا به میزان ۱۰/۵ درصد توسط مژگانی و همکاران در سال ۲۰۱۸ (۱۷) و میزان عفونت متاپنوموویروس انسانی به میزان ۸/۹٪ توسط شاطی زاده ملک شاهی و همکاران در سال ۲۰۱۹ برآورد شد (۱۸). آنالیز پاتوژن‌های مورد بررسی در این مطالعه نشان داد که همه عفونت‌های ویروسی با فراوانی کمتر از ۵ درصد به جز متاپنوموویروس انسانی در نمونه‌های SARS-CoV-2 شناسایی شدند. این یافته برخلاف نتیجه مرور سیستماتیک اخیر است که ویروس‌های انفلوانزای A و B و سینسیشیال تنفسی را به عنوان شایع‌ترین ویروس‌های شناسایی شده در بین بیماران مبتلا به COVID-19 گزارش کرده است (۱۹).

با ادامه اپیدمی کاهش فعالیت ویروس انفلوانزا و سایر ویروس‌های تنفسی در ایتالیا (۲۰)، فرانسه (۲۱)، برزیل (۲۲) و تایوان (۲۳) گزارش شد. به نظر می‌رسد اجرای استراتژی‌های کنترلی برای کاهش شیوع SARS-CoV-2 ممکن است بر روی کاهش شیوع سایر ویروس‌های تنفسی نیز تأثیرگذار بوده است. به علاوه، این امکان وجود دارد که پدیده تداخل ویروسی (Viral interference) گسترش ویروس‌های تنفسی را در طول همه‌گیری مختل نموده باشد. به طوری که همین پدیده بر روند همه‌گیری ویروس انفلوانزای H1N1 pdm09 در اروپا در سال ۲۰۰۹ تأثیر گذاشت که طی آن رینوویروس گسترش آن را مختل نمود (۲۴ و ۲۵). طبق این فرضیه عفونت توسط یک ویروس تنفسی تکثیر ویروس دیگر را محدود خواهد کرد (۲۶). در مطالعه حاضر نیز می‌توان این‌طور در نظر گرفت که به دلیل رعایت پروتکل‌های بهداشتی و فاصله‌گذاری اجتماعی شیوع سایر عفونت‌های ویروسی در مقایسه با دوران قبل از پاندمی در ایران کاهش یافته است. در مطالعه وارلا و همکارانش در برزیل مشخص شد که شیوع SARS-CoV-2 در بیماران ۳۲/۷ درصد (۴۶۹/۱۴۳۵) می‌باشد ولی هیچ موردی از عفونت انفلوانزا و RSV شناسایی نگردید. لذا، نتیجه مطالعه آن‌ها نشان داد که اقدامات برای کاهش انتقال SARS-

combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents? *J Microbiol Immunol Infect.* 2020 Aug;53(4):505-512.

4. Chen X, Liao B, Cheng L, Peng X, Xu X, Li Y, et al. The microbial coinfection in COVID-19. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020 Sep;104(18):7777-7785.

5. Gandhi L, Maisnam D, Rathore D, Chauhan P, Bonagiri A, Venkataramana M. Respiratory illness virus infections with special emphasis on COVID-19. *Eur J Med Res.* 2022;27(1):1-21.

6. Eifan SA, Hanif A, AlJohani SM, Atif M. Respiratory tract viral infections and coinfections identified by Anyplex™ II RV16 detection kit in pediatric patients at a riyadh tertiary care hospital. *Biomed Res Int.* 2017;2017.

7. Zhang N, Wang L, Deng X, Liang R, Su M, He C, et al. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans. *J Med Virol.* 2020;92(4):408-17.

8. Kuchar E, Miśkiewicz K, Nitsch-Osuch A, Szenborn L. Pathophysiology of clinical symptoms in acute viral respiratory tract infections. *Pulmonary Infection.* 2015:25-38.

9. Peci A, Tran V, Guthrie JL, Li Y, Nelson P, Schwartz KL, et al. Prevalence of co-infections with respiratory viruses in individuals investigated for SARS-CoV-2 in Ontario, Canada. *Viruses.* 2021;13(1):130.

10. Burrell S, Hausfater P, Dres M, Pourcher V, Luyt C-E, Teyssou E, et al. Co-infection of SARS-CoV-2 with other respiratory viruses and performance of lower respiratory tract samples for the diagnosis of COVID-19. *Int J Infect Dis.* 2021;102:10-3.

11. Kim D, Quinn J, Pinsky B, Shah NH, Brown I. Rates of co-infection between SARS-CoV-2 and other respiratory pathogens. *JAMA.* 2020;323(20):2085-6.

12. Zhu X, Ge Y, Wu T, Zhao K, Chen Y, Wu B, et al. Co-infection with respiratory pathogens among COVID-2019 cases. *Virus Res.* 2020;285:198005.

13. Yavarian J, Shafiei-Jandaghi NZ, Sadeghi K, Malekshahi SS, Salimi V, Nejati A, et al. First cases of SARS-CoV-2 in Iran, 2020: case series report. *Iran J Public Health.* 2020;49(8):1564.

14. Hashemi SA, Safamanesh S, Ghasemzadeh-moghaddam H, Ghafouri M, Azimian A. High prevalence of SARS-CoV-2 and influenza A virus (H1N1) coinfection in dead patients in Northeastern Iran. *J Med Virol.* 2021;93(2):1008-12.

15. Khodamoradi Z, Moghadami M, Lotfi M. Co-infection of coronavirus disease 2019 and influenza: a report from Iran. *Arch Iran Med.* 2020.

16. Dadashi M, Goudarzi H, Owlia P, Faghihloo E. Prevalence of human respiratory syncytial virus in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Future Virol.* 2018;13(1):61-72.

17. Mozhgani SH, Ghobadi MZ, Moeini S, Pakzad R, Kananizadeh P, Behzadian F. Prevalence of human influenza virus in Iran: Evidence from a systematic

review and meta-analysis. *Microb Pathog.* 2018;115:168-74.

18. Malekshahi SS, Yavarian J, Shafiei-Jandaghi N-Z, Mokhtari-Azad T, Farahmand M. Prevalence of human metapneumovirus infections in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Fetal Pediatr Pathol.* 2021;40(6):663-73.

19. Musuuza JS, Watson L, Parmasad V, Putman-Buehler N, Christensen L, Safdar N. Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2021;16(5):e0251170.

20. Calcagno A, Ghesetti V, Burdino E, Trunfio M, Alice T, Boglione L, et al. Co-infection with other respiratory pathogens in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(2):297-8.

21. Boschi C, Giraud-Gatineau A, Ninove L, Lagier JC, La Scola B, Gautret P, et al. Coinfections with SARS-CoV-2 and other respiratory viruses in Southeastern France: A matter of sampling time. *J Med Virol.* 2021;93(4):1878.

22. de Souza Luna LK, Perosa AH, Conte DD, Carvalho JMA, Alves VRG, Cruz JS, et al. Different patterns of influenza A and B detected during early stages of COVID-19 in a university hospital in São Paulo, Brazil. *J Infect.* 2020;81(2):e104-e5.

23. Kuo SC, Shih SM, Chien LH, Hsiung CA. Collateral benefit of COVID-19 control measures on influenza activity, Taiwan. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(8):1928.

24. Ånestad G, Nordbø SA. Virus interference. Did rhinoviruses activity hamper the progress of the 2009 influenza A (H1N1) pandemic in Norway? *Med Hypotheses.* 2011;77(6):1132-4.

25. Casalegno J, Ottmann M, Bouscambert Duchamp M, Escuret V, Billaud G, Frobert E, et al. Rhinoviruses delayed the circulation of the pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus in France. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16(4):326-9.

26. Wu A, Mihaylova VT, Landry ML, Foxman EF. Interference between rhinovirus and influenza A virus: a clinical data analysis and experimental infection study. *Lancet Microbe.* 2020;1(6):e254-e62.

27. Varela FH, Scotta MC, Polese-Bonato M, Sartor ITS, Ferreira CF, Fernandes IR, et al. Absence of detection of RSV and influenza during the COVID-19 pandemic in a Brazilian cohort: likely role of lower transmission in the community. *J Glob Health.* 2021;11.