Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 33, No. 1, Spring 2023 ORIGINAL ARTICLE

Molecular detection of human parechovirus by real-time PCR in cerebrospinal fluid samples of pediatric patients with meningitis and meningoencephalitis

Farnoosh Sarkhani Moghaddam[1], Mostafa Ghaderi[2], Reza Arjmand [3] Masoud Parsania[4], Sayed-Hamidreza Mozhgani[5],

[1] Ph.D student ,Department of Microbiology, Faculty of Advanced Sciences and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[2] Assistant Professor, Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

[3] Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, Imam Ali Hospital, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

[4] Associate Professor, Department of Microbiology, Faculty of medicine, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[5] Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Abstract

Background: Human parechoviruses (HPeV) are rapidly evolving picornaviruses that may cause sepsis-/meningitis-like illness in infants. The present study aimed to evaluate the occurrence and quantity of human parechovirus in 160 cerebrospinal fluid samples of children under 5 years old with meningitis and meningoencephalitis hospitalized at Karaj Imam Ali Hospital.

Materials and methods: 160 CSF samples were collected during September 2019 to October 2020 in karaj province, Iran from hospitalized children with meningitis and meningoencephalitis. They were subject to detect HPeV using consensus primers targeted to their 5′UTR s.

Results: Out of 160 samples of cerebrospinal fluid, two samples (1.25%) were positive for human parechovirus. The maximum viral load of HPeV was 5.6×10^6 copies / ml in December and in a 3.5 years old female patient and the minimum viral load was 3.2×10^4 copies / ml in February in a 4.5 years old female patient.

Conclusion: In this study for the first time, the presence of human parecovirus in the cerebrospinal fluid samples of children under 5 years of age with meningitis and meningoencephalitis hospitalized in Imam Ali Karaj Hospital reported. Two samples out of 160 cerebrospinal fluid samples were positive. It indicates the relationship between human parechovirus and neurological disorders.

Keywords: Human parechovirus, Cerebrospinal fluid, Meningitis, Meningoencephalitis.

Cited as: Sarkhani Moghaddam F, Ghaderi M, Parsania M, Arjoman Teymori R, Mozhgani HR molecular detection of human parechovirus by real-time PCR in cerebrospinal fluid samples of pediatric patients with meningitis and meningoencephalitis. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2023; 33(1): **99-106.**

Correspondence to: Mostafa Ghaderi
Tel: *+98 9122507455*
E-mail: ghaderi_viro@yahoo.com
ORCID ID: 0000-0002-8249-1231
Received: 4 Sep 2022 ; **Accepted:** 3 Jan 2023

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.1.11.3]
[DOI: 10.52547/iau.33.1.99]

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۳، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۹۹ تا ۱۰۶

Original Article

جداسازی پاراکوویروس انسانی از نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی کودکان مبتلا به مننژیت و مننگوانسفالیت در ایران

فرنوش سرخانی مقدم[۱]، مصطفی قادری[۲]، رضا ارجمند[۳]مسعود پارسانیا[۴]، سید حمیدرضا مژگانی[۵]،

[۱]دانشجوی دکتری تخصصی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فن آوری های نوین، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران
[۲]استادیار، گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
[۳] استادیار، دپارتمان کودکان، بیمارستان امام علی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
[۴] دانشیار،گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۵]استادیار،گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی،دانشکده پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی البرز،کرج،ایران

چکیده

سابقه و هدف: *پاراکوویروس‌های انسانی عضوی از خانواده پیکورناویروس ها بوده که به سرعت در حال تکامل هستند و می‌توانند باعث بیماری‌هایی شبه سپسیس/ مننژیت در نوزادان شوند. مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان بروز و کمیت پاراکوویروس انسانی در ۱۶۰ نمونه مایع مغزی - نخاعی در کودکان زیر ۵ سال مبتلا به مننژیت و مننگوانسفالیت بستری در بیمارستان امام علی کرج انجام شد.*

روش بررسی: *۱۶۰ نمونه مایع مغزی- نخاعی در فاصله زمانی ۱۲ ماه، از شهریور ۹۸ تا مهر ۹۹، از کودکان زیر ۵ سال مبتلا به مننژیت و مننگوانسفالیت بستری در بیمارستان امام علی شهر کرج جهت جداسازی HPeV با استفاده از پرایمرهایی که ناحیه 5′UTR ویروس را مورد هدف قرار می دهند، تهیه و تشخیص به روش Real-time PCR انجام شد.*

یافته‌ها: *از میان ۱۶۰ نمونه مایع مغزی- نخاعی، دو مورد از نمونه‌ها (۱/۲۵ ٪) برای پاراکوویروس مثبت گزارش شد. حداکثر بار ویروس $۵/۶\times۱۰^{۶}$ کپی/ میکرولیتر مربوط به ماه آذر و در کودک دختر بیمار ۳/۵ ساله و حداقل بار ویروسی $۳/۲\times۱۰^{۴}$ کپی/ میکرولیتر مربوط به ماه بهمن و در کودک دختر بیمار ۴/۵ ساله بود.*

نتیجه‌گیری: *در این بررسی برای اولین بار به حضور پاراکوویروس انسانی در نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی کودکان زیر ۵ سال مبتلا به مننژیت و مننگوانسفالیت بستری در بیمارستان امام علی کرج پرداخته شد که دو نمونه از ۱۶۰ نمونه مایع مغزی- نخاعی مورد بررسی مثبت گزارش شد که می‌تواند بیانگر ارتباط بین پاراکوویروس و اختلالات عصبی باشد.*

واژگان کلیدی: *پاراکوویروس انسانی، مایع مغزی- نخاعی، مننژیت، مننگوانسفالیت.*

مقدمه[۱]

خانواده پیکورناویریده یکی از بزرگترین خانواده‌های ویروسی است. کپسید ویروس بدون پوشینه است و یک مولکول RNA ژنومی تک رشته با سنس مثبت را احاطه کرده است. با پیشرفت علم توالی یابی با کارایی بالا، تعداد رو به افزایشی از پیکورناویروس های جدید توصیف شده اند. خانواده پیکورنا ویریده بر اساس کمیته بین المللی رده بندی ویروس‌ها دارای ۳۵ جنس است که هر کدام دارای چندین پاتوژن هستند که سلامتی انسان و حیواناتی مانند شامپانزه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱). یکی از ویروس‌های خانواده پیکورناویریده،

آدرس نویسنده مسئول: کرج، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، مصطفی قادری
(**email**: ghaderi_viro@yahoo.com)
ORCID ID:0000-0002-8249-1231
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۶/۱۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۱۳

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.1.11.3]
[DOI: 10.52547/iau.33.1.99]

ویروسی به نام پاراکوویروس انسانی است. عفونت‌های حاصل از پاراکوویروس انسانی دومین علت شایع مننژیت آسپتیک از نوع ویروسی در کودکان است (۲). البته مننژیت آسپتیک اغلب توسط انتروویروس‌ها و پاراکوویروس‌های انسانی و گاهی توسط هرپس سیمپلکس ویروس‌های تیپ ۱ و ۲، واریسلازوستر ویروس، آدنوویروس، رینوویروس، اپشتین بار ویروس، سایتومگالوویروس، ویروس HIV و ویروس اوریون هم می‌تواند ایجاد شود. ما در این پژوهش به بررسی مننژیت آسپتیک ناشی از پاراکوویروس پرداختیم.

عفونت‌های ناشی از پاراکوویروس‌ها عمدتا در نوزادان زیر ۹۰ روز دیده می‌شوند. تظاهرات بالینی شامل انسفالیت، مننژیت، میوکاردیت و سپسیس است که می‌تواند منجر به عواقب جدی در رشد عصبی نوزادان شود (۲). ویریون پاراکوویروس انسانی قطر ۲۸ نانومتر دارد و یک ژنوم ssRNA با سنس مثبت به طول تقریبا ۷۳۰۰ نوکلئوتید دارد (۳). کپسید پاراکوویروس‌های انسانی متشکل از ۶۰ پروتومر تشکیل شده از سه پروتئین غیر مشابه شامل پروتئین های VP۰، VP۱و VP۳ است. پاراکوویروس‌های انسانی نخستین بار شامل دو ویروس متفاوت بودند که در سال ۱۹۵۶ به عنوان اکوویروس‌های ۲۲ و ۲۳ در جنس انتروویروس از خانواده پیکورناویریده شناخته می‌شدند (۴). بر اساس بررسی فیلوژنیک ناحیه کد کننده مربوط به پروتئین VP۱، ۱۹ تیپ از پاراکوویروس‌های انسانی در گونه پاراکوویروس A، چهار تیپ در گونه ی پاراکوویروس B و ژنوتیپ‌های ۱ تا ۴ در گروه ویروس‌های آلوده کننده جوندگان قرار دارند. پاراکوویروس انسانی تیپ ۱ و ۲ در حقیقت همان ویروس‌هایی هستند که در سال ۱۹۵۶ به عنوان اکوویروس‌های ۲۲ و ۲۳ معرفی شده بودند (۵، ۶).

پاراکوویروس انسانی اغلب باعث گاستروانتریت و عفونت‌های دستگاه تنفسی در نوزادان و گاهی در بالغین و بزرگسالان میشود (۷، ۸). در نوزادان این ویروس اغلب با درگیری سیستم عصبی مرکزی و علایمی مشابه سپسیس همراه است که تشخیص آن از سپسیس باکتریایی مشکل است (۱۱-۹). در کودکان بیمار، پاراکوویروس‌های تیپ ۱ و ۲ سبب بیماریهای گاستروانتریتی و تنفسی خفیف می‌شوند، ولی گاهی بیماری‌های وخیم‌تر شامل میوکاردیت، انسفالیت، پنومونی، فلج شل حاد، مننژیت، عفونت کشنده نوزادان و سندرم ری گزارش شده است. پاراکوویروس انسانی تیپ ۳ نه تنها بیماری‌های گاستروانتریتی و تنفسی خفیف ایجاد می‌کند، بلکه همچنین می‌تواند بیماری‌های شدیدی مانند بیماری شبه سپسیس و شرایطی که سیستم اعصاب مرکزی را درگیر می‌کند ایجاد کند. پاراکوویروس‌های انسانی تیپ ۴ تا ۸ بیماری‌های شبیه به پاراکوویروس‌های انسانی تیپ ۱ و ۳ را ایجاد می‌کنند. پارکوویروس‌های انسانی ۹ تا ۱۶ به نظر می‌رسند که به ندرت در انسان ایجاد بیماری کنند. پاراکوویروس‌های انسانی ۱ و ۳ دارای شیوع‌های اجتماعی و بیمارستانی هستند. در بین پاراکوویروس‌های انسانی، ژنوتیپ ۱ غالب‌ترین ژنوتیپ یافت شده است (۱۲). در یک مطالعه در ژاپن شیوع پاراکوویروس انسانی تیپ ۳ اغلب مرتبط با میالژیا هر دو تا سه سال در طی ماه‌های تابستان نشان داده شد. در مطالعه دیگر از همین کشور در یک منطقه دیگر یک سندروم شبیه به سپسیس و انسفالیت را در نوزادان با سن کمتر از ۴ ماه در تابستان نشان داد (۱۴-۱۲). Rahimi و همکارانش در سال ۲۰۱۳ به بررسی ارتباط بین پاراکوویروس انسانی با مننژیت آسپتیک و بیماری شبیه به سپسیس، پس از استخراج RNA از ۱۴۸ نمونه مایع مغزی نخاعی از کودکان زیر ۸ سال پرداختند (۱۵).

بنابراین، با توجه به اهمیت پاراکوویروس انسانی در ایجاد گاستروانتریت و فلج شل حاد و به دلیل فقدان سابقه تحقیقاتی برای بررسی وجود این ویروس در نمونه‌های (مایع مغزی- نخاعی) کودکان مبتلا به مننژیت و مننگوانسفالیت در شهر کرج بر آن شدیم تا حضور این ویروس رابرای اولین بار در نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی کودکان مبتلا به مننژیت و مننگوانسفالیت بستری در بیمارستان امام علی کرج بررسی کنیم.

مواد و روشها

نمونه گیری

در مجموع ۱۶۰ نمونه مایع مغزی- نخاعی در طول ۱۲ ماه از شهریور ۹۸ تا مهرماه ۹۹، از کودکان زیر ۵ سال مبتلا به مننژیت آسپتیک و مننگواسفالیت بستری در بیمارستان امام علی کرج با کد اخلاق به شماره ی IR.IAU.PS.REC.1399.059 تهیه شد. نمونه‌ها در یک یخ حمل و به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج جهت بررسی منتقل شدند و تا زمان استفاده در فریزر ۸۰- درجه نگهداری شدند.

استخراج RNA

ژنوم RNA ویروسی از ۲۰۰ میکرولیتر نمونه مایع مغزی- نخاعی توسط کیت استخراج Biofact ساخت کشور کره و بر اساس پروتوکل درون کیت استخراج شد: ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر نمونه و ۲۰۰ میکرولیتر بافر PB به همراه ۱۰ میکرولیتر پروتئیناز K و ۲

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.1.11.3]
[DOI: 10.52547/iau.33.1.99]

میکرولیتر Carrier درون یک تیوب ریخته شد. سپس مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در Hot plate با دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در ادامه ۲۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به مخلوط درون تیوب اضافه شده و سپس با ورتکس میکس شد. درمرحله بعد تیوب های۱/۵ میلی لیتری درون سانتریفیوژ به مدت ۱ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ قرار گرفت. بعد از آن ستون های استخراج درون ویال های جدید قرار گرفته و مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ توسط سمپلر به درون ستون‌ها منتقل شدند. در مرحله بعدی ۵۰۰ میکرولیتر محلول شستشوی IRB به محلول درون ستون افزوده شده و سپس ۵۰۰ میکرولیتر محلول شستشوی WB به محلول درون ستون اضافه شد. در مرحله بعد ستون‌های همراه تیوب درون سانتریفیوژ به مدت ۲ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ قرار گرفته و در نهایت محلول زیری ستون دور ریخته شد. در ادامه، افزودن دوباره ۵۰۰ میکرولیتر محلول شستشوی WB به درون ستون انجام گرفت و بعد از آن ستون همراه تیوب زیر آن، درون سانتریفیوژ به مدت ۲ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ قرار گرفت و بعد از آن محلول زیری ستون دور ریخته شد. سپس ۱ میکرولیتر بافر شستشوی EB در Hot plate با دمای ۵۶ درجه سلسیوس به مدت ۳ دقیقه قرار داده شد و بعد از آن ۵۰ میکرولیتر بافر EB به درون ستون اضافه شد و در نهایت ستون همراه تیوب در دمای محیط به مدت ۲ دقیقه قرار گرفته و سپس ۲ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. در آخرین مرحله مایع درون تیوب استریل زیر ستون، حاوی RNA استخراج شده جهت ادامه کار بود.

سنتز cDNA

جهت سنتز cDNA از RNA استخراج شده، از کیت سنتز cDNA از برند بایوفکت ساخت کشور کره و بر اساس پروتوکل درون کیت استفاده شد:ابتدا ۱۰ میکرولیتر RNA استخراج شده در دمای محیط به درون استریپ های کیت سنتز حاوی(۰/ ۱ M DTT, HyperScript RTase, ۱۰ X RTase reaction buffer, dNTPs, RNase inhibitor) به علاوه ۱ میکرولیتر رندوم پرایمر افزوده شد. سپس در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انکوبه و بعد از آن درون یخ به مدت ۱ دقیقه قرار داده شد. در نهایت در دمای ۴۲ درجه به مدت ۶۰ دقیقه و سپس ۸۵ درجه به مدت ۵ دقیقه (جهت غیر فعال شدن آنزیم RT) درون دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت تا cDNA سنتز شود.

انجام Real-time PCR (سنجش روش qPCR)

qPCR به روش سایبر گرین با استفاده از پرایمرهای Foward و Reverse برای تکثیر ناحیه ′UTR ۵ ژنوم پاراکوویروس انسانی، جهت تشخیص این ویروس در نمونه‌ها انجام شد (جدول ۱).

در این بررسی، کنترل مثبت، پلاسمید DNA سنتز شده دارای سکانس‌های ویروسی هر کدام از دو نمونه پاراکوویروس با لود 10^{1}-10^{7}کپی/ واکنش همراه با آب مقطر و مستر میکس و پرایمرهای R و F با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتربود.کنترل منفی نیز شامل پرایمرهای F و R همراه با آب مقطر و مسترمیکس با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر بود. نمونه‌های مورد بررسی شامل ۰/۷۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای R و F به علاوه ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس Real-time به همراه ۶ میکرولیتر آب مقطر و ۵ میکرولیتر cDNA و در نهایت با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر بود.

جدول ۱. پرایمرهای R و F مورد استفاده در مطالعه

توالی	پرایمر
۵′-CTG GGG CCA AAA GCC A-́۳′	Forward
۵′-GGT ACC TTC TGG GCA TCC TTC-۳′	Reverse

در این مرحله qPCR(Real-time PR) طی ۴ مرحله توسط دستگاه Rotorgen برنامه ریزی شده انجام شد (جدول ۲).

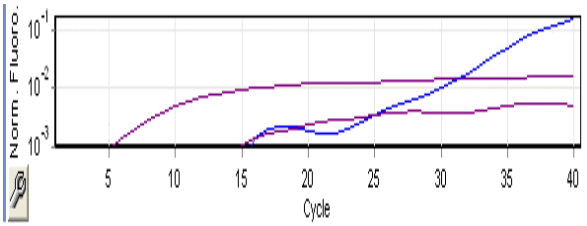
جدول ۲. مراحل انجام Rael-time PCR

دما و زمان	مراحل Rael-time PCR
در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه	۱)جدا شدن دو رشته DNA از یکدیگر
در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه	۲)جدا شدن دو رشته DNA از یکدیگر
در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ ثانیه	۳)اتصال پرایمرها ی R و F به مکمل های خود در تک رشته های DNA
در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه	۴)طویل شدن DNA در حال سنتز

هر کدام از مراحل جدول ۲ در ۴۰ سیکل تکرار شدند. همه نمونه ها به جز کنترل منفی توسط یک شاخص به نام CT توصیف می‌شوند. منحنی های استاندارد C، بر اساس میانگین آستانه هر واکنش در مقابل تعداد کپی‌های پلاسمید بر حجم واکنش توصیف شدند. مجموعه ی پرایمرها توانستند DNA پلاسمید را در رقت‌های 10^{1} تا 10^{7} کپی بر حجم واکنش، تکثیرکنند (شکل ۱). مقادیر CT به طور مستقیم، متناسب با log۱۰ کپی ژنوم ویروسی بر حجم واکنش، با شیب منحنی ۰/۹۹ و efficacy برابر با ۱ بود. بر اساس تحلیل منحنی ذوب جهت ارزیابی ویژگی Real-time PCR، هر نمونه قادر به تولید یک پیک واحد شارپ

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.1.11.3]
[DOI: 10.52547/iau.33.1.99]

بود و همـه نمونـه‌هـای مثبـت، همپوشـانی داشـته و دمـای ذوب یکسانی را نشان دادند (شکل ۱).



شکل۱. منحنی استاندارد برای تشـخیص پـاراکوویروس انسـانی توسـط Rotorgen Real-time PCR در رقـت هـای ۱۰۷- ۱۰۱ از پلاسـمید پاراکوویروس انسانی برتعداد واکنش PCR.

یافته‌ها

تشخیص RNA ژنومی پاراکوویروس انسانی در نمونه-های مایع مغزی- نخاعی

از ۱۶۰ نمونه مایع مغزی- نخاعی مورد آزمایش، ۲ مورد (۱/۲۵ ٪) از نظر پاراکوویروس انسانی مثبت بودند. در میان این دو نمونه مثبت پاراکوویروس انسانی هر دو نمونه دختر (از میان ۹۰ نمونه دختر) با سن‌های ۳/۵ سال و ۴/۵ سال و میانگین سنی ۴ سال بودند.

تعیین بار ویروسی پاراکوویروس انسانی

با توجه به منحنی استاندارد، غلظت RNA ژنومی ویروسی در نمونه مایع مغزی- نخاعی از محدوده حداکثر بار ویروس $۵/۶\times۱۰^{۶}$ کپی/ میکرولیتر مربوط به آذر ماه و در کودک دختر بیمار با ۳/۵ سال سن و حداقل بار ویروسی $۳/۲\times۱۰^{۴}$ کپی/ میکرولیتر مربوط به بهمن ماه و در کودک دختر بیمار با ۴/۵ سال سن بود.

علائم بالینی

در بین کودکانی که با مننژیت آسپتیک و آنسفالیت بستری شده بودند، معمولا علائم برای کودکان با پاراکوویروس انسانی شامل تب، میوکاردیت گاستریت، انتروکولیت نکروزان، افزایش ضربان قلب، تشنج، سر درد، خستگی مفرط، راش، سفتی گردن، لنفادنوپاتی و سندرم ری بود. اما بیشترین علائم شامل تب، سردرد، استفراغ، خستگی مفرط، سفتی گردن و تشنج بود (جدول ۳).

بحث

پاراکوویروس‌های انسانی اعضای خانواده بزرگ و رو به گسترش پیکورناویریده هستند. ۲۹ تیپ از این ویروس‌ها بر اساس تحلیل فیلوژنتیک منطقه کدگذاری شده ناحیه VP۱ تقسیم بندی شده‌اند، اما اکثر گزارشات منتشر شده مربوط به انواع پاراکوویروس‌های انسانی تیپ ۸-۱ هستند. در کودکان، پاراکوویروس‌های انسانی تیپ‌های ۱، ۲، ۴ و ۸، عمدتا باعث بیماری‌های خفیف گوارشی یا تنفسی می‌شوند، فقط گاهی اوقات بیماری‌های جدی‌تری از جمله میوکاردیت، انسفالیت، ذات‌الریه، مننژیت، فلج شل حاد، سندرم ری و عفونت‌های کشنده نوزادان گزارش شده است. در مقابل، پاراکوویروس انسانی تیپ ۳ باعث بیماری شدید در نوزادان با سن کمتر از جمله سپسیس و شرایطی که سیستم عصبی مرکزی را درگیر می‌کند، می‌شود. در حال حاضر، حساس‌ترین روش برای تشخیص پاراکوویروس‌های انسانی Real-time PCR بر روی مدفوع، سواب‌های تنفسی، خون و مایع مغزی نخاعی است. با این حال، اگرچه مشخص است که پاراکوویروس‌های انسانی نقش مهمی در انواع بیماری‌های عفونی شدید کودکان دارند، با این حال، معمولا سنجش‌های تشخیصی به طور معمول در بررسی‌های بالینی و همچنین گسترش پاراکوویروس‌های انسانی، بسیار مورد بی توجهی قرار می‌گیرند (۵، ۹، ۱۴). در این بررسی ۱۶۰ نمونه مایع مغزی- نخاعی که از کودکان زیر ۵ سال مبتلا به مننژیت آسپتیک و مننگوانسفالیت بستری در بیمارستان امام علی شهر کرج از شهریور ۹۸ تا مهر ۹۹ جمع آوری شده بود، مورد آزمایش قرار گرفت. در این مطالعه، از مجموعه پرایمرهایی استفاده شد که ناحیه UTR ′۵ پاراکوویروس‌های انسانی را هدف قرار می دهند که قبلاً برای شناسایی این ویروس ها با روش RT-qPCR استفاده شده بودند (۴، ۹، ۱۷). به طور کلی طیف متغیر عفونت‌های حاصل از پاراکوویروس‌های انسانی و ژنوتیپ‌های ایجاد کننده

جدول ۳. مشخصات بالینی بیماران بر اساس جنسیت و لود ویروسی

نام ویروس	جنسیت	ماه	لود ویروس	سن	تب	سردرد	استفراغ	گاستریت	سفتی گردن	تشنج
پاراکوویروس	دختر	آذر	$۵/۶\times۱۰^{۵}$ کپی/ میکرولیتر	۳/۵ سال	+	+	_	+	+	-
پاراکوویروس	دختر	بهمن	$۳/۲\times۱۰^{۴}$ کپی/ میکرولیتر	۴/۵ سال	+	_	_	+	+	+

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.1.11.3]
[DOI: 10.52547/iau.33.1.99]

گاستروانتریت در کل جهان در محدوده ۱/۶ تا ۲۴/۹ درصد گزارش شده است (۱۰). بنابراین، با توجه به اینکه هیچ گزارشی مبنی بر تشخیص پاراکوویروس‌های انسانی، در نمونه-های مایع مغزی - نخاعی کودکان بیمار مبتلا به مننژیت آسپتیک و مننگوانسفالیت در شهرکرج وجود نداشت، بر آن شدیم به بررسی حضور این ویروس در نمونه‌های مغزی- نخاعی کودکان مبتلا به مننژیت آسپتیک و مننگوانسفالیت بستری در بخش عفونی بیمارستان امام علی کرج بپردازیم. در این بررسی، میزان بروز پارکوویروس انسانی در بیماران مبتلا به مننژیت و مننگو انسفالیت ۱/۲۵ درصد بود که با توجه به مطالعات قبلی در کشورهایی مانند ژاپن، هلند، ایالات متحده، کانادا و آلمان، در نمونه‌های جدا شده مدفوع بیماران مبتلا به فلج شل حاد کمتر بود (۱۱). در این تحقیق بیشترین میزان لود ویروس برای پاراکوویروس انسانی، $۵/۶\times۱۰^{۶}$ کپی/ میکرولیتر و مربوط به ماه آذر و در کودک دختر بیمار با ۳/۵ سال سن بود که در مقایسه با لود ویروس در سایر کشورهای مورد مطالعه مانند هلند (آمستردام) کمتر بود (۱۳). همچنین کمترین میزان لود ویروس برای پاراکوویروس انسانی، $۱۰^{۴}\times$ ۳/۲ کپی/ میکرولیتر و مربوط به ماه بهمن و در کودک دختر بیمار با ۴/۵ سال سن بود. پس با توجه به این بررسی، با وجود تعداد کم نمونه های مثبت از میان ۱۶۰ نمونه مایع مغزی- نخاعی برای پاراکوویروس انسانی، شاید بتوان گفت این ویروس در کودکان دختر بیمار زیر ۵ سال می‌تواند شیوع بیشتری داشته باشد.

Rahimi و همکارانش در سال ۲۰۱۳ برای بررسی ارتباط بین پاراکوویروس انسانی با مننژیت آسپتیک و بیماری شبیه به سپسیس، پس از استخراج RNA از ۱۴۸ نمونه مایع مغزی - نخاعی از کودکان زیر ۸ سال توانستند در ۶۴ مورد پاراکوویروس انسانی را تشخیص دهند. نتایج این بررسی از نظر میزان فراوانی ویروس در نمونه‌های مایع مغزی – نخاعی کودکان بیمار که ۶۴ نمونه مثبت بود با نتایج حاصل از بررسی ما که در آن دو نمونه از نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی کودکان زیر ۵ سال برای پاراکوویروس مثبت بودند، مطابقت نداشت که شاید یکی از علل این مساله بتواند عدم مطابقت در محدوده سنی مورد بررسی و یکسان نبودن تعداد نمونه‌های مورد بررسی، در دو بررسی باشد، همچنین نمونه‌های مثبت این پژوهش از نوع ژنوتیپ پاراکوویروس انسانی تیپ ۱ بود و نمونه های مثبت پژوهش ما در زنوتیپ ۹ پاراکوویروس انسانی قرار گرفتند (۱۵). Fritz و همکارانش در سال ۲۰۱۵ توانستند آلودگی خون و مایع مغزی نخاعی چهار نوزاد تب‌دار را به عفونت پاراکوویروس انسانی تشخیص دهند که با نتیجه حاصل از بررسی ما از نظر حضور ویروس مطابقت داشت (۱۶). Kadambar و همکارانش در فاصله جولای ۲۰۱۴ تا جولای ۲۰۱۹ به بررسی ۷۰۳ نمونه مایع مغزی- نخاعی در بین کودکان تب‌دار بستری در بخش کودکان بیمارستانی در بریتانیا پرداختند که در این بین ۳۵ نمونه برای پاراکوویروس مثبت بود که نتایج این بررسی از نظر میزان فراوانی ویروس در نمونه های مایع مغزی- نخاعی کودکان بیمار که ۳۵ نمونه (۴ ٪) مثبت بود با نتایج حاصل از بررسی ما که در آن دو نمونه (۱/۲۵ ٪) از نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی برای پاراکوویروس مثبت بودند، مطابقت نداشت که علت عدم مطابقت می‌تواند تعداد نمونه‌های مورد بررسی بیشتر در این پژوهش در مقایسه با پژوهش ما باشد (۲). Wolthers و همکارانش در فاصله سال ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۶ به بررسی حضور پاراکوویروس انسانی در ۷۱۶ نمونه مایع مغری- نخاعی کودک زیر ۶ سال به روش Real-time PCR پرداختند که در این بررسی ۳۳ نمونه برای پاراکوویروس انسانی مثبت بود که نتایج این بررسی از نظر میزان فراوانی ویروس در نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی کودکان بیمار که ۳۳ (۴/۶ ٪) نمونه‌ها مثبت بود با نتایج حاصل از بررسی ما که در آن دو نمونه از نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی (۱/۲۵ ٪) برای پاراکوویروس مثبت بودند، مطابقت نداشت که شاید بتوان گفت علت این تفاوت در طول مدت نمونه گیری باشد که در بررسی Wolthers و همکارانش مدت زمان نمونه گیری ۲ سال و در بررسی ما ۱ سال بود. همچنین تعداد نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش بیشتر از نمونه‌های مورد بررسی در پژوهش ما بود (۱۷). Chakrabarti و همکارانش در طول مدت ۴ سال به بررسی حضور پاراکوویروس انسانی در نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی در کودکان زیر ۵ سال دارای علائمی مشابه سپسیس پرداختند که در این میان (۷۸/۵ ٪) از نمونه‌ها برای پاراکوویروس انسانی مثبت بود که نتایج این بررسی از نظر درصد فراوانی ویروس در نمونه های مایع مغزی – نخاعی کودکان بیمار که در آن (۷۸/۵ ٪) از نمونه‌ها مثبت بودند با نتیجه حاصل از بررسی ما که در آن ۱/۲۵ ٪ از نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی برای کودکان زیر ۵ سال مثبت بود مطابقت نداشت که باز می‌توان گفت عدم مطابقت در زمان نمونه گیری در دو بررسی، که در بررسی Chakrabarti و همکاران ۴ سال و در بررسی ما ۱ سال بود می‌تواند عامل مهم و تعیین کننده‌ای در تعیین تعداد نمونه‌های مثبت باشد (۱۸).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.1.11.3]
[DOI: 10.52547/iau.33.1.99]

بنابراین با توجه به در نظر گرفتن راه انتقال مدفوعی-دهانی برای عفونت با پاراکوویروس انسانی به عنوان عضوی جدید از اعضای خانواده پیکورناویریده مانند دیگر اعضای جدید این خانواده از جمله Aichivirus, Salivirus, Saffoldvirus ممکن است نتیجه گیری شود که وجود غلظت بالای ویروس در فصل سرما در منابع آب آلوده می‌تواند خطر انتقال ویروس به انسان را افزایش دهد. بنابراین بر آن شدیم تا به بررسی حضور پاراکوویروس انسانی در نمونه‌های مایع مغزی- نخاعی کودکان زیر پنج سال مبتلا به مننژیت آسپتیک و مننگوانسفالیت بستری در بیمارستان امام علی کرج، برای اولین بار بپردازیم. یکی از مواردی که ممکن است باعث ایجاد محدودیت در پژوهش شود، ناپایداری RNA موجود در ویروس‌ها است که در صورت حمل و نگهداری در شرایط دمایی نامناسب مانند عدم استفاده از پک یخ در هنگام انتقال نمونه ها به آزمایشگاه و یا عدم استفاده از فریزر منفی ۸۰ درجه در طول انجام آزمایشات باعث از بین رفتن ژنوم ویروس و ایجاد اختلال در نتایج مانند نتایج منفی کاذب می‌شود. بنابراین برای نتیجه گیری دقیق لازم است شرایط انتقال و نگداری نمونه‌ها با دقت بسیار همرا باشد. از طرفی بنابر نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان پیشنهاداتی را برای بررسی‌های آینده نگر و تکمیل بررسی انجام شده در نظر گرفت، شامل:

۱)پژوهش بر روی تعداد بیشتری نمونه انجام گیرد.

۲) برای انجام Real-time PCR به جای استفاده از سایبرگرین از پروب های taqman هم استفاده شود تا تفاوت اثر این دو روش با یکدیگر مقایسه شود.

۳) حضور سه ویروس مورد بررسی، در سایر بیمارستان های دارای بخش عفونی کودکان، در شهرستان های اطراف کرج هم انجام گردد.

۴) از این نظر که بررسی حضور سالی ویروس انسانی در مایع مغزی – نخاعی کودکان زیر ۵ سال مبتلا به فلج شل حاد مانند مننژیت و مننگوانسفالیت، درایران برای اولین در این پژوهش انجام گرفته است، پیشنهاد می‌شود بررسی‌های مشابه در سایر شهرها نیز انجام گیرد.

۵) بررسی حضور این سه ویروس چه در مدفوع و چه در مایع مغزی- نخاعی به عنوان تست‌های روتین تشخیصی در بخش-های بستری کودکان مبتلا به فلج شل حاد مانند مننژیت و مننگوانسفالیت، برای جداسازی از عوامل باکتریایی و عوامل پولیویی، در بیمارستان‌ها قرار گیرد.

REFERENCES

1. Yu J-M, Ao Y-Y, Li L-L, Duan Z-J. Identification of a novel cosavirus species in faeces of children and its relationship with acute gastroenteritis in China. Clin Microbiol Infect 2017;23:550-54.

2. Kadambari S, Harvala H, Simmonds P, Pollard AJ, Sadarangani M. Strategies to improve detection and management of human parechovirus infection in young infants. Lancet Infect Dis 2019;19:e51-e8.

3. Hyypiä T, Horsnell C, Maaronen M, Khan M, Kalkkinen N, Auvinen P, et al. A distinct picornavirus group identified by sequence analysis. Proceed Nat Acad Sci 1992;89:8847-51.

4. Wigand R, Sabin AB. Properties of ECHO types 22, 23 and 24 viruses. Archiv für die gesamte Virusforschung. 1961;11:224-47.

5. Zhao X, Shi Y, Xia Y. Genome analysis revealed novel genotypes and recombination of the human parechoviruses prevalent in children in Eastern China. Gut pathog 2016;8:1-6.

6. Chuchaona W, Khamrin P, Yodmeeklin A, Saikruang W, Kongsricharoern T, Ukarapol N, et al. Detection and characterization of a novel human parechovirus genotype in Thailand. Infect Genet Evol 2015;31:300-4.

7. Janes V, Minnaar R, Koen G, Van Eijk H, Dijkman-de Haan K, Pajkrt D, et al. Presence of human non-polio enterovirus and parechovirus genotypes in an Amsterdam hospital in 2007 to 2011 compared to national and international published surveillance data: a comprehensive review. EuroSurveillance. 2014;19:20964.

8. van der Sanden S, de Bruin E, Vennema H, Swanink C, Koopmans M, van der Avoort H. Prevalence of human parechovirus in the Netherlands in 2000 to 2007. J Clin Microbiol 2008;46:2884-89.

9. Kabuga A, Nejati A, Shahmahmoodi S. Enterovirus and Parechovirus meningitis in children: a review of the epidemiology, diagnostic challenges, and significance of on-site CSF virology tests in tropical paediatric patients' care. Afr J Clin Exp Microbiol 2021;22:12-20.

10. Khatami A, McMullan BJ, Webber M, Stewart P, Francis S, Timmers KJ, et al. Sepsis-like disease in infants due to human parechovirus type 3 during an outbreak in Australia. Clin Infect Dis 2015;60:228-36.

11. Vergnano S, Kadambari S, Whalley K, Menson EN, Martinez-Alier N, Cooper M, et al. Characteristics and outcomes of human parechovirus infection in infants (2008–2012). Eur J Pediatr 2015;174:919-24.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.1.11.3]
[DOI: 10.52547/iau.33.1.99]

12. Britton PN, Jones CA, Macartney K, Cheng AC. Parechovirus: an important emerging infection in young infants. Med J Aust 2018;208:365-9.

13. Chang J-T, Yang C-S, Chen Y-S, Chen B-C, Chiang A-J, Chang Y-H, et al. Genome and infection characteristics of human parechovirus type 1: the interplay between viral infection and type I interferon antiviral system. PLoS One 2015;10:e0116158.

14. Bennett S, Harvala H, Witteveldt J, McWilliam Leitch EC, McLeish N, Templeton K, et al. Rapid simultaneous detection of enterovirus and parechovirus RNAs in clinical samples by one-step real-time reverse transcription-PCR assay. J Clin Microbiol 2011;49:2620-4.

15. Rahimi P, Naser HM, Siadat SD, Sohrabi A, Mostafavi E, MotamediRad M, et al. Genotyping of human parechoviruses in Iranian young children with aseptic meningitis and sepsis-like illness. J Neurovirol 2013;19:595-600.

16. Fritz K, Karody V, Cohen S. Parechovirus sepsis and meningitis in a neonatal intensive care unit. J Neuroinfect Dis 2015;6:2.

17. Wolthers KC, Benschop KS, Schinkel J, Molenkamp R, Bergevoet RM, Spijkerman IJ, et al. Human parechoviruses as an important viral cause of sepsislike illness and meningitis in young children. Clin Infect Dis 2008;47:358-63.

18. Chakrabarti P, Warren C, Vincent L, Kumar Y. Outcome of routine cerebrospinal fluid screening for enterovirus and human parechovirus infection among infants with sepsis-like illness or meningitis in Cornwall, UK. Eur J Pediatr 2018;177:1523-9.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-18]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.1.11.3]

[DOI: 10.52547/iau.33.1.99]