تحقیقی

دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

# شناسایی ویروس های آنفولانزا $H_1N_1$ فصلی و $H_3N_2$ به روشRT-PCR در همه گیری آنفولانزا در استان گلستان(سال ۱۳۸۸)

**ساره ژند**
کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**علیجان تبرائی**
استادیار ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**عبدالوهاب مرادی**
استاد ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**فاطمه فتوحی**
استادیار ویروس شناسی، مرکز تحقیقات آنفولانزا انیستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

**ناعمه جاوید**
کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**مسعود بازوری**
کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**احسان حاجی محمدی**
کارشناس میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**امیر قائمی**
استادیار ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**نویسنده مسئول: امیر قائمی**

**پست الکترونیک:**ghaem -amir@yahoo.com

**تلفن:** ۰۱۷۱-۴۴۲۱۶۵۱

**آدرس:**دانشکده پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

**دریافت:۹۲/۸/۱**
**ویرایش پایانی:۹۲/۱۲/۱۶**
**پذیرش:۹۲/۱۲/۱۷**

## چکیده

***زمینه و هدف:*** *ظهور آنفولانزای A جدید $H_1N_1$با منشأ حیوانی که توانایی انتقال از انسان به انسان را داشته باشد، یکی از عوامل ایجاد نگرانی در رابطه با همه گیری آن شده است. در حال حاضر، ویروس های آنفولانزایی که فصلی میان انسان ها منتشر می شوند ویروس آنفولانزای A و زیرمجموعه های$H_1N_1,H_3N_2$ و نیز ویروس آنفولانزایB می باشند. هدف از این مطالعه شناسایی زیرمجموعه $H_3N_2$ و نوع جدید $H_1N_1$ (فصلی)از بیماران مشکوک به آنفولانزا در زمان همه گیری آنفولانزا در سال ۱۳۸۸ استان گلستان بود.*

***روش بررسی:*** *در این مطالعه توصیفی، تعداد ۱۵۳ نمونه ترشحات تنفسی از بیماران با علائم حاد تنفسی در حین همه گیری آنفولانزا در سال ۱۳۸۸ استان گلستان گرفته شد. واکنش ترانس کریپتاز معکوس بر روی نمونه های RNA ویروسی استخراج شده، انجام گرفت. واکنش زنجیره پلیمراز به منظور شناسایی زیرمجموعه های $H_1N_1$فصلی و$H_3N_2$ با به کار گیری پرایمر های اختصاصیCDC صورت گرفت.*

***یافته ها:*** *در این مطالعه سن متوسط بیماران ۱۶/۵۹ سال بود که ۴۵/۱ درصد آنها زن و ۵۴/۹ درصد مرد بودند. در بین بیماران ۱۳نفر(۸/۴۹٪) آنها با زیرمجموعه $H_1N_1$ فصلی و ۲۵ نفر (۱۶/۳۳٪) با زیر مجموعه $H_3N_2$/از آنفولانزا Aآلوده شده بودند.*

***نتیجه گیری:*** *میزان عفونت با زیرمجموعه های $H_1N_1$ فصلی و $H_3N_2$ در استان گلستان، مشابه با سایر مطالعات انجام شده در ایران می باشد ولی میزان آن نسبت به سایر مناطق دنیا کمتر است.*

***واژه های کلیدی:*** *آنفولانزا $H_1N_1$ ، $H_3N_2$ ،RT-PCR،استان گلستان*

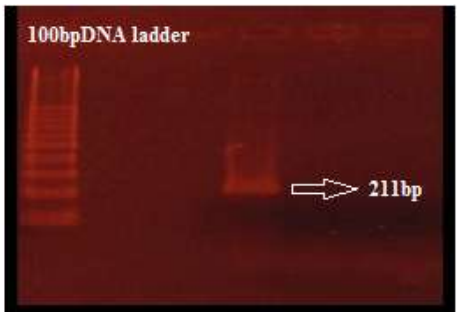
**آدرس مقاله:**
ژند س، تبرائی ع، مرادی ع، فتوحی ف، جاوید ن، بازوری م، حاجی محمدی ا، قائمی ا" شناسایی ویروس های آنفولانزا $H_1N_1$ فصلی و $H_3N_2$ به روشRT-PCR در همه گیری آنفولانزا در استان گلستان(سال ۱۳۸۸) " مجله علوم آزمایشگاهی،تابستان ۱۳۹۳، دوره هشتم(شماره۲): ۲۷-۳۲

**مقدمه**

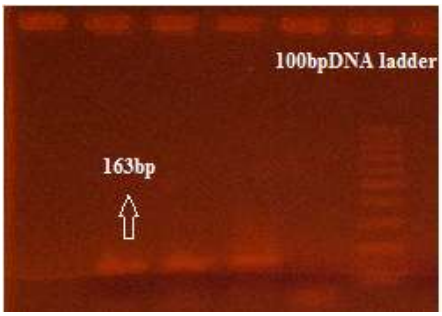
عفونت ویروس آنفولانزا یک مشکل اصلی بهداشت جهانی است و همه ساله اغلب سبب اپیدمی هایی در ماه های زمستان می شود. عفونت ویروس آنفولانزا با طیف وسیعی از علائم بالینی از عفونت بدون علامت تنفسی مـانند تب بالای ۳۸ درجه سانتی گراد و یا عطسه و سرفه( بیماری شبه آنفولانزا) تا عوارض شدید و پیچیده عفونت های ثانویه باکتریایی متغیر می باشد(۱). به نظر می رسد که شدت بیماری بالینی به سویه ی ویروس آنفولانزا، موقعیت ایمنی و سن فرد و حضور عوامل بیماری زا همراه با عوامل تغییرات محیطی مانند سرما و تهویه نامطلوب بستگی دارد. ویروس آنفولانزا از طریق ترشحات تنفسی انتقال پیدا می کند. بعد از دوره تاخیر ۱-۳ روزه ، ویروس ها از انواع مختلف نمونه های تنفسی قابل جداسازی می باشند. نمونه های سیستم تنفسی فوقانی، مانند شست شوی نازوفارنگس (NPW) یا آسپیره نازوفارنگس(NPA)، سواپ بینی، سواپ گلو(TS)، سواپ درون تراشه ای، بافت ها و شست شوی برونشوآلوئولار برای شناسایی ویروس در بیماران با عفونت تنفسی توصیه می شود(۲). ویروس های آنفولانزا اعضای خانواده اورتومیکسوویریده هستند و می توانند با توجه به تغییرات آنتی ژنی در نوکلئو پروتئین (NP) و پروتئین ماتریکس(M) به سه نوعA، B، C طبقه بندی شوند. اکثر آنفولانزاهای پاندمیک در ارتباط با تیپ A می باشند. ویروس های آنفولانزای A بیشتر می توانند بر اساس تفاوت های آنتی ژنیک بین هماگلوتینین (HA) و نـورآمینیداز(NA)گلیـکوپروتئین سطحی به زیر مجموعه هایی طبقه بندی شوند. تا کنون ۱۶(HA) و۹(NA) از ویروس های آنفولانزای A شناسایی شده اند(۳). سه زیرمجموعه اصلی ویروس آنفولانزا A ($H_3N_2$و$H_1N_1$,$H_1N_2$) در کشورهای مختلف شناسایی شده است، همچنین نوآرایی ژنتیکی سایر زیرمجموعه ها نیـز امکان پذیر می بـاشد. در حال حاضر، ویـروس هـای آنفولانزای فصلی که در انسان ها منتشر می شوند ویروس آنفولانزای A و زیرمجموعه های$H_3N_2$,$H_1N_1$ و نیز ویروس آنفولانزای B هستند. از اواخر سال ۲۰۰۳ شیوع زیرمجموعه بسیار بیماری زا $H_5N_1$ ویروس آنفـولانزا A پرندگان (HPAI) گزارش شده است که مرغ های خانگی را در آسیا و به دنبال آن در اروپا و آفریقا عفونی کرد. علاوه بر این، عفونت های انسان با این زیر مجموعه به طور افزاینده ای تشخیص داده شده است. در سال ۲۰۰۹ نوع جدیدی از ویروس آنفولانزا A انسان ($H_1N_1$) ظاهر شد و به طور جهانی انتقال پیدا کرد(۴). سازمان بهداشت جهانی(WHO) ۳۴۸ مورد عفونت انسانی تایید شده با این ویروس را با میزان مرگ بالای۶۰ درصد گزارش کرد(۵،۶). ژنوم های ویروس آنفولانزا A وB از ۸ قطعه RNA تک رشته ای منفی که ۱۰-۱۱ پروتئین ضروری برای عفونت و همانند سازی را کد می کنند، تشکیل شده است(۷). RNA ژنومیک به عنوان هدفی برای آمپلیفیکاسیون توسطPCR معمول و (RT-PCR) مـی تـواند مـورد اسـتفاده قرار گیرد. پرایمر هایی که از ژن بسیار حفاظت شده ی M مشتق شده اند، اغلب برای شناسایی تمام زیر مجموعه های آنفولانزا A مورد استفاده قرار می گیرد. ژنوم ویروس متحمل تغییرات مداوم با مکانیزم های مختلف می شود که نه تنها شامل موتاسیون نقطه ای ویروس است، بلکه نوترتیبی ژنی و نوترکیبی ژنی میان زیر مجموعه های مختلف ویروس را نیز شـامل می شود. این خـصوصیات بیولوژیک منجر به افزایش تنوع ویروس آنفولانزا طی مدت ها می شود و مشکلاتی را در تشخیص آزمایشگاهی، شناسایی سویه ویروس منتخب برای تولید واکسن و پیشگیری و کنترل این بیماری ایجاد می کند(۸-۱۰). هدف از این مطالعه بررسی انواع زیر مجموعه های ویروس A آنفلوانزا($H_1N_1$,$H_3N_2$) در سطح منطقه استان گلستان در ماه های شیوع آنفولانزا می باشد.

## روش بررسی

در این مطالعه ۱۵۳ نمونه ترشحات تنفسی افراد مشکوک به بیماری تنفسی که از شهر های مختلف استان گلستان به آزمایشگاه ویروس شناسی دانشگاه علوم پزشکی گلستان ارجاع داده شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. معیار ورود بیماران به این مطالعه وجود علائم حاد تنفسی مشکوک به آنفولانزا تائید شده توسط پزشک متخصص بود. از تمامی نمونه ها RNA استخراج گردیده با استفاده از کیت تجاری به cDNA تبدیل گردید. استخراج اسید نوکلئیک(RNA) از ۲۰۰µl از نمونه های تنفسی نگه داری شده در محیط انتقال ویروسی توسط کیت تجاری high Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche، آلمان) و بر طبق دستورالعمل کیت مرحله به مرحله انجام شد و در نهایت ۵۰µl از RNA ویروسی استخراج و در دمای منهای ۸۰ درجه سلسیوس برای مراحل بعدی نگه داری شد. برای اطمینان از استخراج، محصولات در آگارز ۱ درصد الکتروفورز شدند. غلظت RNA استخراج شده به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتری تعیین گردید. سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری(RevertAid First Strand cDNA(Synthesis Kit و بر طبق دستورکار آن با به کار گیری پرایمر Random hexamer انجام شد. در این تحقیق بعد از الکتروفورز نمونه های cDNA ساخته شده و تعیین غلظت آن ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر، بر روی cDNAهای استخراج شده به منظور تعیین زیرمجموعه های $H_1N_1$ و $H_3N_2$ با استفاده از پرایمر های اختصاصی مربوط به قطعه هماگلوتینین که توسط مرکز کنترل بیماری (CDC) طراحی شده است (جدول ۱)، PCR گذاشته شد. در این روش از آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی و از نمونه cDNA تهیه شده از انیستیتو پاستور ایران به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. واکنش زنجیره ای پلیمراز بر اساس روش کار زیر انجام شد. دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه وسپس ۳۰ چرخه به صورت دناتوراسیون در۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه واتصال پرایمر در ۵۸ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه وگسترش پرایمر در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه انجام گردید. در پایان گسترش نهایی در۷۲درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصول PCR در ژل آگارز ۲ درصد دارای اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد و قطعات ژن ۱۶۳bp و ۲۱۱bp به ترتیب‌برای‌زیر مجموعه های $H_1N_1$ و $H_3N_2$ جستجو گردید.




**شکل۱- شناسایی و تعیین زیر مجموعه $H_1N_1$ ویروس آنفولانزا A توسط RT-PCR چاهک اول:مارکرbpDNA ۱۰۰، چاهک دوم کنترل منفی، چاهک سوم نمونه منفی، چاهک چهارم کنترل مثبت$H_1N_1$**




**شکل۲- شناسایی و تعیین زیر مجموعه $H_3N_2$ ویروس آنفولانزا A توسط RT-PCR چاهک اول از سمت چپ:مارکرbpDNA ۱۰۰، چاهک دوم کنترل منفی، چاهک سوم کنترل مثبت$H_3N_2$،چاهک چهارم نمونه**

جدول۱- توالی های پرایمر های مورد نیاز برایRT-PCR برای تعیین زیرمجموعه های H1N1 و H3N2 آنفولانزا در بیماران تنفسی استان گلستان

| زیر مجموعه | پرایمر | توالی('3'>5') | رفرنس |
|---|---|---|---|
| | H1h-678Fw | CACCCCAGAAATAGCCAAAA | National Influenza Center, Institut Pasteur, Paris. |
| H1N1 | H1h-840Rv | TCCTGATCCAAAGCCTCTAC | National Influenza Center, Institut Pasteur, Paris |
| | H3h-177Fw | GAGCTGGTTCAGAGTTCCTC | National Influenza Center, Institut Pasteur, Paris |
| H3N2 | H3h-388Rv | GTGACCTAAGGGAGGCATAATC | National Influenza Center, Institut Pasteur, Paris |

## یافته ها

در این مطالعه متوسط سن بیماران ۱۶/۵۹ سال بود. از بیماران مبتلا به عفونت تنفسی ۴۵/۱ درصد مذکر و ۵۴/۹ درصد مؤنث بودند. افراد در ۵ گروه سنی ۰ تا ۱۰ سال، ۱۱ تا ۲۰ سال و ۲۱ تا ۳۰ سال و۳۱ تا ۴۰ سال و ۴۱ تا ۶۵ سال طبقه بندی شدند. در بین بیماران ۳۹ مورد در گروه سنی بین ۰ تا ۱۰ سال(۲۵/۷٪)، ۷۰ موردگروه سنی بین ۱۱ تا ۲۰ سال داشتند(۴۶/۱٪)، ۱۱ مورد نیز سن بین ۲۱ تا ۳۰ سال(۷/۲٪)، ۹ مورد نیز در گروه سنی ۳۱ تا ۴۰ سال (۵/۹٪) و ۹ مورد(۵/۹٪) در گروه سنی ۴۱ تا ۶۵ سال قرار داشتند (جدول ۲). بعد از انجام الکتروفورز محصول PCR برای تعیین زیر مجموعه های $H_1N_1$ و $H_3N_2$ نتایج نشان داد که از میان ۱۵۳ بیمار ۱۳(۸/۴۹٪) مورد مبتلا به آنفولانزای تیپA و زیر مجموعه $H_1N_1$ می باشند و ۲۵ بیمار(۱۶/۳۳٪) نیز مبتلا به آنفولانزای تیپA و زیر مجموعه $H_3N_2$ می باشند(جدول ۱). سرفه خشک و درد بدن در ۱۶ بیمار(۱۳٪)، تب و سرفه خشک در ۱۶ بیمار(۱۳٪) ، تب و درد بدن در ۵ بیمار(۴/۱٪)، سرفه خشک در ۴ بیمار(۳/۳٪) ، درد بدن در یک بیمار(۰/۸٪) و تب به تنهایی در ۲ بیمار (۱/۶٪) مشاهده شد.

## بحث

مطالعه حاضر نشان داد که از میان ۱۵۳ نمونه تنفسی آلوده، ۱۳(۸/۴۹٪) بیمار با زیر مجموعه $H_1N_1$ فصلی و ۲۵(۱۶/۳۳٪) نیز با زیر مجموعه $H_3N_2$ از آنفولانزا A و ۱۲ بیمار(۷/۸٪) با $H_1N_1$ پاندمیک آلوده شده بودند. تجویز نادرست آنتی بیوتیک ها با شناسایی درست پاتوژن ها محدود خواهد شد و این امر تاثیر درمان را افزایش خواهد مجموعه های مختلف ویروس آنفولانزا A به روش های شناسایی سریع و تعیین زیر مجموعه نیاز می باشد(۱۲).

روش PCR محدودیت های تکنیک های تشخیصی قبلی را با افزایش حساسیت و اختصاصیت و دستیابی سریع به نتایج حل کرده و بنابراین برای شناسایی عفونت های تنفسی چندگانه به کار رود(۱۳). روشPCR به طور وسیع برای شناسایی ویروس آنفولانزا استفاده می شود مواد و تجهیزاتی که برای این تست به کار می روند، در بسیاری از کشور ها در دسترس می باشد. ولی میزان موتاسیون در ژن های HA و NA از ویروس آنفولانزا بالا می باشد، بنابراین نیاز است تا توالی های پرایمری که به منظور تعیین زیر مجموعه های خاصی استفاده می شوند، به روز شوند(۱۴). از آنجایی که در این مطالعه از پرایمر های اختصاصی که CDC پیشنهاد کرده است، استفاده شده یک مزیتی نسبت به سایر سنجش ها فراهم شده است. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Boonsuk و همکاران در تایلند نشان داد که ۲۲/۸۵ درصد از افراد مبتلا به زیر مجموعه$H_1N_1$ و به ۲۸/۵۷درصد زیر مجموعه $H_3N_2$ بودند(۱۵)، که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. Choi و همکاران که با به کار گیری دو روشmultiplex RT-PCR نشان دادند که ۵۵/۶ درصد و ۳۸/۶ درصد افراد به ترتیب با زیر مجموعه های $H_1N_1$ و $H_3N_2$آلوده شده بودند(۱۲) و نیزDeng و همکاران شیوع ۷۴/۱۹ درصد بیماران با زیر مجموعه $H_1N_1$ و ۲۵/۸۰ درصد زیر مجموعه$H_3N_2$ گزارش کرده اند که نتایج مطالعات بالا با نتایج این مطالعه مغایرت دارد(۱۶). مطالعه اسدی و همکاران در مغایرت با نتایج مطالعه حاضر بر روی ۱۰۰ بیمار تحت مطالعه با به کار گیری روش (RT-PCR Multiplex) نشان داد که ۷ درصد از بیماران با زیر مجموعه$H_1N_1$ از آنفولانزای A آلوده شده بودند و هیچ یک از بیماران زیر مجموعه $H_3N_2$ نشان ندادند(۱۴).

## نتیجه گیری

میزان عفونت با زیر مجموعه های $H_1N_1$ فصلی و $H_3N_2$ در استان گلستان، مشابه با سایر مطالعات انجام شده در ایران می باشد ولی متیزان آن نسبت به سایر مناطق دنیا کمتر می باشد.


## تشکر و قدر دانی

این مطالعه با حمایت های مالی بنیاد ملی نخبگان با شماره نامه ۱۵/۱۳۲۶ تاریخ ۱۳۸۹/۵/۲۵ به منظور اعتبار پژوهشی بنیاد ملی نخبگان، ویژه پژوهشگران جوان و نیزحمایت دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام رسید.


**References**


1. Nicholson KG, Wood JM, Zambon M. *Influenza*. The Lancet. 2003; 362: 1733-1745.

2. Wentworth DE, Thompson BL, Xu X, Regnery HL, Cooley AJ, McGregor MW. *An influenza A (H1N1) virus closely related to swine influenza virus responsible for a fatal case of human influenza*. J Virol. 1994; 68(4): 2051–2058.

3. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, et al. *Characterization of a novel influ-enza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls*. J Virol. 2005; 79(5): 2814-2822.

4. Dawood FS, Jain S, Finelli L, et al. *Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans.* N Engl J Med. 2009; 360(25): 2605–2615.

5. Wentworth DE, McGregor MW, Macklin MD, Neumann V, Hinshaw VS. *Transmission of swine influenza virus to humans after exposure to experimentally infection pigs.* J Infect Dis. 1997; 175(1): 7-15

6. Schorr E, Wentworth D, Hinshaw VS. *Use of polymerase chain reaction to detect swine influenza virus in nasal swab specimens.* Am J Vet Res. 1994; 55(7): 952–956.

7. Maines TR, Szretter KJ, Perrone L, Belser JA, Bright RA, Zeng H, et al. *Pathogenesis of emerging avian influenza viruses in mammals and the host innate immune response. Immunol Rev*. 2008; 225: 68-84.

8. Lin YP, Shu LL, Wright S, Bean WJ, Sharp GB, Shortridge KF, et al. *Analysis of the influenza virus gene pool of avian species from southern China*. Virology. 1994; 198(2): 557–566.

9. Guo Y, Wang M, Zheng GS, Li WK, Kawaoka Y, Webster RG. *Seroepidemiological and molecular evidence for the presence of two H3N8 equine influenza viruses in China in 1993-94*. J Gen Virol. 1995; 76(Pt8): 2009–2014.

10. Xu X, Lindstrom SE, Shaw MW, Smith CB, Hall HE, Mungall BA, et al. *Reassortment and evolution of current human influenza A and B viruses*. Virus Res. 2004; 103(1-2): 55-60.

11. Boonsuk P, Payungporn S, Chieochansin T, Samransamruajkit R, Amonsin A, et al. *Detection of Influenza Virus Types A and B and Type A Subtypes (H1, H3, and H5) by Multiplex Polymerase Chain Reaction*. Tohoku J Exp Med. 2008; 215(3): 247-255.

12. Choi YK, Goyal SM, Kang SW, Farnham MW, Joo HS. *Detection and subtyping of swine influenza H1N1, H1N2 and H3N2 viruses in clinical samples using two multiplex RT-PCR assays*. Journal of Virological Methods. 2002; 102(1-2): 53–59.

13. Bellau-Pujol S, Vabret A, Legrand L, Dina J, Gouarin S, Petitjean-Lecherbonnier J, et al. *Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses*. J Virol Methods. 2005; 126(1-2): 53-63.

14. Asadi M. *Detection and subtyping of influenza A(H1N1,H3N2) BY Multiplex RT PCR in West Azerbaijan Province of Iran*. 4th congress of laboratory and clinic, North America. 2011 .

15. Saberfar E, Najafi A, Goodarzi Z, Lashini H. *Multiplex Reverse Transcription-PCR Assay for Detection of Type A Influenza Virus plus Differentiation of Avian H7 and H9 Hemagglutinin Subtypes in Iran.* Iranian J Publ Health. 2009; 38(4): 29-34.

16. Deng YM, Caldwell N, Barr IG. *Rapid Detection and Subtyping of Human Influenza A Viruses and Reassortants by Pyrosequencing*. PLoS ONE. 2011; 6(8): e23400.

Original Article

# Detection of Seasonal Influenza H1N1 and H3N2 Viruses using RT-PCR Assay during 2009 Flu Pandemic in Golestan Province

**Zhand, S. (MSc)**
MSc of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Tabaraei, A. (PhD)**
Assistant Professor of Virology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Moradi A. (PhD)**
Professor of Virology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Fotoohi, F. (PhD)**
Assistant Professor of Virology, Influenza Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

**Javid, N. ( MSc)**
MSc of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Bazoori, M. (BSc)**
BSc of Medical Laboratory, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Haji Mohammadi, E. (BSc)**
BSc of Microbiology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Ghaemi, A. (PhD)**
Assistant professor of Virology, School of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

**Corresponding Author:** Ghaemi, A.

**Email:** ghaem_amir@yahoo.com

Received: 23 Oct 2013
Revised: 7 Mar 2014
Accepted: 8 Mar 2014

## Abstract

**Background and Objective:** The emergence of a novel $H_1N_1$influenza A virus of animal origin with transmissibility from human to human poses pandemic concern. Current subtypes of Seasonal influenza A viruses spread in human are influenza A H1N1 influenza A H3N2 and influenza type B viruses. The aim of this study was to determine current strains of the H3N2 and new H1N1 subtypes of influenza A virus from patients suspected influenza infection in 2009 flu pandemic in Golestan province, Iran.

**Material and Methods:** In this descriptive study, respiratory samples (n = 153) from patients with acute respiratory symptoms were collected in 2009 flu pandemic applied during 2009 pandemic influenza in Golestan province. After reverse transcription of extracted viral RNA, PCR was developed for both $H_1N_1$and $H_3N_2$subtypes using CDC specific primers.

**Results:** The mean age of patients was 16.59. Of them 45.1% were male. Thirteen (8.49%) were infected with seasonal influenza H1N1 and 25(16.33%) with seasonal $H_3N_2$influenza.

**Conclusion:** The rate of infection with seasonal $H_1N_1$and $H_3N_2$is similar to other studies reported from Iran, but lower than the rate reported from other parts of the world.

**Key Words:** Influenza A Virus, $H_1N_1$, $H_3N_2$, RT-PCR, Iran

This paper should be cited as: Zhand S, Tabaraei A, Fotoohi F, Javid N, Bazoori M, Haji Mohammadi E, Ghaemi, A. [Detection of Seasonal Influenza H1N1 and H3N2 Viruses using RT-PCR Assay during 2009 Flu Pandemic in Golestan Province ]. MLJ. 2014; 8(2):27-32 [Article in Persian]