









## Determination of Oseltamivir Resistance Level by an H275Y Genotyping Assay among Influenza A (H1N1) Viruses in Hamadan Province, Iran

Shahab Mahmoudvand<sup>1</sup> , Razieh Amini<sup>2\*</sup> , Farid Azizi Jalilian<sup>1\*</sup> , Mojtaba Hedayat Yaghoobi<sup>3</sup> , Masoumeh Javaheri<sup>4</sup> , Iraj Sedighi<sup>5</sup> , Mojgan Mamani<sup>6</sup> , Razieh Ezati<sup>7</sup>, Jalaeddin Amiri<sup>4</sup> , Masoud Saeedi Jam<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dept of Virology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

<sup>2</sup> Dept of Molecular Medicine and Genetics, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

<sup>3</sup> Dept of Infectious Diseases, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Alborz, Iran

<sup>4</sup> Health Deputy, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

<sup>5</sup> Dept of Pediatric, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

<sup>6</sup> Dept of Infectious Diseases, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

<sup>7</sup> Dept of Molecular Virology, Farzan Pathobiology and Molecular Laboratory, Hamadan, Iran

### Article Info

#### Article type:

Research article

#### Article History:

Received: 14 September 2021

Revised: 14 February 2022

Accepted: 10 April 2022

Published Online: 23 July 2022

#### \* Correspondence to:

Razieh Amini

Dept of Molecular Medicine and Genetics, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

Email:

ra.amini@umsha.ac.ir

Farid Azizi Jalilian

Dept of Virology, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

Email:

azizifarid@gmail.com

### ABSTRACT

**Introduction:** Epidemics and deaths caused by influenza viruses are an important concern worldwide. The use of neuraminidase inhibitors such as oseltamivir is an effective and valuable way to treat the diseases caused by these viruses. However, the mutation in several parts of the gene leads to the emergence of drug-resistant strains, and an ever-increasing rise in drug-resistant strains is a global problem. Histidine-to-tyrosine mutation at position 275 (H275Y) of neuraminidase protein is one of the most common oseltamivir resistance mutations. This study aimed to detect H275Y mutation in influenza A (H1N1) virus circulating in the Hamadan province of Iran using real-time polymerase chain reaction (RT-PCR).

**Material & Methods:** This cross-sectional study was conducted on 110 swab samples isolated from patients with suspected influenza virus infection between 2015 and 2016. Ribonucleic acid (RNA) was extracted from samples and the RT-PCR method was used to determine virus types and subtypes. The positive samples were evaluated for detection of H275Y mutation using RT-PCR. (Ethic code: IR.UMSHA.REC.1400.917)

**Findings:** Out of 110 patients in this study, 50 (45%) were females and 60 (55%) were males. The mean±SD age of participants was 40.74±2.42 years. Influenza A (H1N1) virus was found in 22 (20%) out of 110 patients, including 9/50 (18%) females and 13/60 (21.7%) males. There was no significant relationship between the virus and gender (P=0.81). No drug resistance related to H275Y mutation was observed in 22 positive cases.

**Discussion & Conclusion:** The findings indicated that no drug resistance mutations have occurred, and oseltamivir is still an appropriate option to treat infections caused by the influenza virus in Hamadan province, Iran. However, due to the increasing number of resistant strains, an annual review of oseltamivir resistance is recommended and further studies are needed in this regard.

**Keywords:** Drug resistance, Influenza A (H1N1) virus, Oseltamivir

### How to cite this paper

Mahmoudvand Sh, Amini R, Azizi Jalilian F, Hedayat Yaghoobi M, Javaheri M, Sedighi, Sedighi I, Mamani M, Ezati R, Amiri J, Saedi Jam M. Determination of Oseltamivir Resistance Level by an H275Y Genotyping Assay among Influenza A (H1N1) Viruses in Hamadan Province, Iran. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;30(3): 55-61.



## بررسی میزان مقاومت داروی اوستامی ویر با استفاده از سنجش ژنوتایپ H275Y در میان ویروس‌های آنفلوانزای A(H1N1) در استان همدان

شهاب محمودوند<sup>۱</sup>، راضیه امینی<sup>۲\*</sup>، فرید عزیزی جلیلیان<sup>۱\*</sup>، مجتبی هدایت یعقوبی<sup>۱</sup>، معصومه جواهری<sup>۱</sup>، ایرج صدیقی<sup>۱</sup>، مژگان ممانی<sup>۱</sup>، راضیه عزتی<sup>۲</sup>، جلال‌الدین امیری<sup>۱</sup>، مسعود سعیدی جم<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

<sup>۲</sup> گروه پزشکی مولکولی و ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

<sup>۳</sup> گروه عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، البرز، ایران

<sup>۴</sup> معاونت بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

<sup>۵</sup> گروه کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

<sup>۶</sup> گروه عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

<sup>۷</sup> بخش ویروس‌شناسی مولکولی، آزمایشگاه پاتوبیولوژی و مولکولی فرزاد، همدان، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

#### نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۲۳

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۵/۰۱

#### نویسنده مسئول:

راضیه امینی

گروه پزشکی مولکولی و ژنتیک،

دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی همدان، همدان، ایران

Email:

ra.amini@umsha.ac.ir

فرید عزیزی جلیلیان

گروه ویروس‌شناسی، دانشکده

پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی

همدان، همدان، ایران

Email:

azizifarid@gmail.com

واژه‌های کلیدی: اوستامی ویر، مقاومت دارویی، ویروس آنفلوانزای A/H1N1

**مقدمه:** همه‌گیری‌ها و مرگ‌ومیر ناشی از ویروس‌های آنفلوانزا در سراسر جهان یک نگرانی مهم به‌شمار می‌رود. استفاده از داروهای ضدویروسی مهارکننده نورامینیداز (NA) مانند اوستامی ویر، روش مؤثر و ارزشمندی در درمان این ویروس‌ها است، هرچند جهش در چند بخش از این ژن، موجب به وجود آمدن سویه‌های مقاوم به دارو می‌شود و افزایش روزافزون سویه‌های مقاوم به دارو یک مشکل جهانی است. یکی از شایع‌ترین جهش‌های مقاومت دارویی به اوستامی ویر، جهش جایگزینی اسید آمینه هیستیدین به تیروزین در موقعیت ۲۷۵ (H275Y) در پروتئین نورامینیداز است. هدف این مطالعه شناسایی جهش H275Y در ویروس‌های آنفلوانزای A/H1N1 در گردش در استان همدان با استفاده از روش Real-time RT PCR بود.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه به‌صورت مقطعی روی ۱۱۰ نمونه سواب مشکوک به ویروس آنفلوانزا جداشده بین سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. ابتدا RNA نمونه‌ها استخراج گردید و سپس برای تعیین تایپ و ساب‌تایپ ویروس آنفلوانزا، از روش Real-time RT PCR استفاده شد. پس از آن، نمونه‌های مثبت برای شناسایی جهش H275Y با روش Real-time RT PCR ارزیابی گردیدند.

**یافته‌ها:** در این مطالعه از مجموع ۱۱۰ بیمار، ۵۰ (۴۵ درصد) نفر زن و ۶۰ (۵۵ درصد) نفر مرد بودند. میانگین سنی شرکت‌کنندگان در این پژوهش برابر با ۴۰/۷۴±۲/۴۲ سال بود. ویروس آنفلوانزا A/H1N1 در ۲۲ نفر (۲۰ درصد موارد) یافت شد، به این صورت که ۱۳ مورد (۲۱/۷ درصد) در مردان و ۹ مورد (۱۸ درصد) در زنان مشاهده گردید. در بررسی ارتباط میان جنس و ابتلا به ویروس آنفلوانزا، رابطه معنی‌داری دیده نشد (P=0.81)؛ همچنین باید اشاره کرد که از مجموع ۲۲ نمونه مثبت، در هیچ‌کدام از موارد جهش مقاومت دارویی H275Y مشاهده نگردید.

**بحث و نتیجه‌گیری:** یافته‌های مطالعه نشان داد که هیچ جهش مقاومت دارویی اتفاق نیفتاده است و همچنان داروی اوستامی ویر گزینه مناسبی برای درمان این ویروس در همدان است؛ اما با توجه به افزایش روزافزون سویه‌های مقاوم، بررسی سالیانه مقاومت به این دارو توصیه می‌گردد و به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

**استناد:** محمودوند، شهاب؛ امینی، راضیه؛ عزیزی جلیلیان، فرید؛ هدایت یعقوبی، مجتبی؛ جواهری، معصومه؛ صدیقی، ایرج؛ ممانی، مژگان؛ عزتی، راضیه؛ امیری، جلال‌الدین؛ سعیدی جم، مسعود. بررسی میزان مقاومت داروی اوستامی ویر با استفاده از سنجش ژنوتایپ H275Y در میان ویروس‌های آنفلوانزای A(H1N1) در استان همدان. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، شهریور ۱۴۰۱؛ ۳۳۰: ۵۵-۶۱.



بیماری آنفلوانزا یکی از عفونت‌های حاد دستگاه تنفسی است که عمدتاً توسط ویروس‌های آنفلوانزا ایجاد می‌شود (۱). ویروس‌های آنفلوانزا در خانواده اورتومیکسوویریده قرار دارند. این خانواده ۷ جنس دارد که ویروس‌های آنفلوانزای A، B، C و D به ترتیب در جنس‌های *Beta*influenzavirus، *Alpha*influenzavirus، *Delta*influenzavirus و *Gamma*influenzavirus جای می‌گیرند. ژنوم این ویروس‌ها به صورت RNA تک‌رشته‌ای است (۲). اهمیت آنفلوانزا در سرعت انتشار و تعداد بالای موارد مرگ‌ومیر ناشی از آن است و به این سبب، به عنوان یک نگرانی مهم در سراسر جهان محسوب می‌شود (۳). این ویروس ۹ پروتئین دارد که شامل نوکلئوپروتئین (NP)، اجزای پلیمرازی (PA، PB1 و PB2)، پروتئین ماتریکس (M1)، گلیکوپروتئین‌های هم‌گلویتین (HA) و نورامینیداز (NA)، پروتئین کانال یونی (M2) و پروتئین‌های NS1 و NS2 است (۴). در سراسر جهان پیشگیری و درمان این ویروس از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و در بسیاری از کشورها مورد توجه است. تاکنون دو کلاس از داروهای ضدویروسی برای درمان اختصاصی این ویروس در دسترس است که هدف اصلی آن‌ها مهار عملکرد ژن‌های NA و M2 است (۵). داروهای آمانتادین و ریمانتادین به عنوان مهارکننده کانال یونی M2 ضد آنفلوانزای نوع A و داروهای اوسلتامی ویرو (تامی‌فلو)، زانامی ویر (رلنزا)، لانینامی ویر و پرامی ویر به عنوان مهارکننده‌های نورامینیداز ویروس آنفلوانزای نوع A و B هستند (۶، ۷). داروهای مهارکننده نورامینیداز، عملکرد آنزیم نورامینیداز ویروس را مهار می‌کنند. این آنزیم در ویروس آنفلوانزا موجب رهاسازی ویروس از سلول‌های آلوده و متعاقب آن، جلوگیری از تجمع ویروس پیش از شروع چرخه عفونی بعدی می‌شود (۸). افزایش سویه‌های مقاوم به این داروها یک مشکل بزرگ جهانی است. در سال‌های اخیر، چندین مورد از سویه‌های مقاوم به اوسلتامی ویر در ویروس‌های

آنفلوانزای A/H1N1 مشاهده شده است که در اثر جهش‌های معین در ژن NA رخ می‌دهد (۹-۱۲). یکی از شایع‌ترین جهش‌های مقاومت دارویی به اوسلتامی ویر، جهش جایگزینی اسید آمینه هیستیدین به تیروزین در موقعیت ۲۷۵ (H275Y) در پروتئین نورامینیداز است (۱۳، ۱۴). اخیراً جهش دیگری با جانشینی اسید آمینه سرین به آسپارژین (S247N) در پروتئین نورامینیداز مشاهده شده که همراه با کاهش حساسیت به مهارکننده‌های نورامینیداز است (۱۵، ۸).

در حال حاضر، از روش‌های فنوتایپینگ و ژنوتایپینگ برای ارزیابی حساسیت این ویروس به مهارکننده‌های نورامینیداز استفاده می‌شود. روش فنوتایپینگ بسیار گران و وقت‌گیر است؛ بنابراین، استفاده از روش‌های ژنوتایپینگ مانند Real-time RT-PCR برای تشخیص این جهش‌ها مناسب‌تر است (۱۶).

از آنجا که مطالعه‌ای در استان همدان در زمینه بررسی مقاومت به اوسلتامی ویر انجام نگرفته و مقاومت به این دارو تاکنون نیز گزارش نشده است، هدف این مطالعه بررسی شیوع ویروس‌های آنفلوانزای A/H1N1 مقاوم به اوسلتامی ویر با استفاده از سنجش ژنوتایپ H275Y با روش Real-time RT-PCR روی نمونه سواب حلق و بینی در استان همدان بود.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت مقطعی با استفاده از ۱۱۰ نمونه سواب مشکوک به ویروس آنفلوانزای جدا شده از بیماران، بین سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۴، واقع در مرکز تحقیقات آنفلوانزا برای تعیین تایپ و ساب تایپ ویروس آنفلوانزا در استان همدان انجام گرفت (با کد اخلاق (IR.UMSHA.REC.1400.917). نمونه‌های سواب بلافاصله پس از نمونه‌گیری وارد محیط انتقالی گردیدند و به مرکز تحقیقات آنفلوانزا انتقال داده شدند و تا زمان انجام آزمایش، در دمای ۷۰- درجه

### یافته ها

در این مطالعه، ۱۱۰ بیمار مبتلا به علائم آنفلوانزا و مشکوک به ویروس آنفلوانزا از شهرهای مختلف استان بررسی شد (شامل: ۶۷ نمونه از همدان، ۱۰ نمونه از نهاوند، ۹ نمونه از رزن، ۹ نمونه از اسدآباد، ۷ نمونه از تویسرکان، ۵ نمونه از بهار و ۳ نمونه از کبودرآهنگ). علائم بالینی در هر ۲ گروه افراد شرکت کننده در جدول شماره ۱ آمده است. در این پژوهش، ۴۵ درصد (۵۰ نمونه) بیماران را خانم ها و ۵۵ درصد (۶۰ نمونه) را آقایان تشکیل دادند. میانگین سنی شرکت کنندگان در این پژوهش برابر با  $42/42 \pm 40/74$  سال بود. از مجموع ۱۱۰ نمونه، ویروس آنفلوانزا در ۲۲ نفر (۲۰ درصد موارد) یافت شد که در این میان، ۱۳ مورد (۲۱/۷ درصد) در مردان و ۹ مورد (۱۸ درصد) در زنان مشاهده گردید.

در بررسی ارتباط میان جنس و ابتلا به ویروس آنفلوانزا، با استفاده از آزمون Fisher's Exact Test رابطه معنی داری دیده نشد ( $P=0.81$ )؛ همچنین باید اشاره کرد که در این مطالعه از مجموع ۲۲ نمونه مثبت، در هیچ کدام از موارد جهش مقاومت دارویی H275Y مشاهده نگردید و در همه نمونه ها حساسیت به این دارو دیده شد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱. مقایسه علائم بالینی در ۲ گروه آنفلوانزا مثبت و آنفلوانزا منفی

وضعیت بیمار	آنفلوانزا مثبت	آنفلوانزا منفی
تب	۱۸ (۸۱/۸ درصد)	۷۰ (۷۹/۵ درصد)
گلودرد	۷ (۳۱/۸ درصد)	۲۸ (۳۱/۸ درصد)
سرفه	۰ (۰ درصد)	۱ (۱/۱ درصد)
تنگی نفس	۰ (۰ درصد)	۱ (۱/۱ درصد)
تنفس دشوار	۳ (۲۳/۶ درصد)	۲۳ (۲۶/۱ درصد)
خلط خونی	۹ (۴۰/۹ درصد)	۳۳ (۳۷/۵ درصد)
ناراحتی قفسه سینه	۳ (۱۳/۶ درصد)	۱۱ (۱۲/۵ درصد)
افت فشارخون	۳ (۱۳/۶ درصد)	۲۳ (۲۶/۱ درصد)
خواب آلودگی	۰ (۰ درصد)	۲ (۲/۳ درصد)

سانتی گراد نگهداری گردیدند؛ سپس با توجه به هدف این مطالعه که مبنی بر استفاده از روش Real-time RT PCR بود، RNA نمونه ها با استفاده از کیت High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche) ساخت کشور آلمان، با توجه به دستورالعمل کیت استخراج شد. نمونه های استخراج شده تا زمان انجام آزمایش های بیشتر در فریزر -۷۰ درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند.

پس از استخراج RNA، سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA شرکت یکتا تجهیز ساخت کشور ایران، با توجه به دستورالعمل کیت صورت گرفت. واکنش Real Time RT PCR با استفاده از کیت genesig ساخت کشور انگلستان (genesig® real-time PCR mutation detection/allelic discrimination) به صورت ذیل انجام شد: ۱۰ میکرولیتر OneStep Master Mix، ۱ میکرولیتر از پروب، ۴ میکرولیتر از آب RNase/DNase free، به علاوه ۵ میکرولیتر از RNA. آزمایش Real Time RT PCR با استفاده از دستگاه LightCycler® 96 System-Roche و طبق برنامه دمایی و زمانی ذیل صورت گرفت: ۱ سیکل با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد ۲ دقیقه، ۱ سیکل با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد ۱۰ دقیقه و ۴۵ سیکل با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد ۶۰ ثانیه.

پس از انجام Real time RT PCR، نمونه های مثبت انتخاب شده و طبق روش ذیل، ژنوتایپینگ با استفاده از کیت genesig® Advanced genesig (genesig Kit) انجام شد: ۱۰ میکرولیتر از OneStep 2X RT-PCR Master Mix، ۱ میکرولیتر از Swine H275Y primer، ۴ میکرولیتر از آب RNase/DNase free به همراه ۵ میکرولیتر از نمونه مثبت مرحله پیش. برنامه زمانی و دمایی دستگاه به این صورت تنظیم گردید: ۱ سیکل با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد ۲ دقیقه، ۴۵ سیکل با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد ۱۰ ثانیه و ۶۰ درجه سانتی گراد ۶۰ ثانیه.

## بحث و نتیجه گیری

همه گیری ها و مرگ و میر ناشی از ویروس های آنفلوانزا در سراسر جهان یک نگرانی مهم به شمار می رود. ویروس های آنفلوانزا سالیانه حدود ۲۰ درصد از جمعیت جهان را درگیر می کند و ۵۰۰ هزار نفر به علت عوارض ناشی از عفونت با این ویروس ها جان خود را از دست می دهند (۱۷). برای پیشگیری و درمان عفونت ویروس های آنفلوانزا از واکسیناسیون و داروهای ضد ویروسی استفاده می شود (۱۸). داروهای ضد ویروسی منابع ارزشمندی هستند که برای درمان عفونت در انسان به کار می روند و هر ساله باعث نجات جان میلیون ها نفر در جهان می شوند. ظهور سویه های مقاوم به داروهای ضد ویروسی سلامت جامعه و اقتصاد کشورها را با تهدید مواجه کرده است، به طوری که این مسئله به یکی از پراهمیت ترین مسائل جهانی بهداشت عمومی تبدیل شده است. مقاومت به داروی اوسلتامی ویر در ویروس A/H1N1 ارتباط بسیار نزدیکی با دو جهش شایع H275Y و S247N دارد. سویه هایی با جهش H275Y اهمیت بیشتری دارند؛ زیرا باعث تکثیر سریع ویروس می شوند و در نتیجه، به انتشار آن در سراسر جهان کمک می کنند (۱۹). با توجه به اهمیت ویروس آنفلوانزا در جهان، شناسایی و غربالگری این جهش ها در سویه های مقاوم به دارو از اهمیت زیادی برخوردار است.

مقاومت به اوسلتامی ویر در ویروس آنفلوانزای A/H1N1 در کشورهای مختلفی بررسی شده و نتایج متفاوتی داشته است. در این مطالعه، ۱۱۰ نمونه مشکوک به ویروس آنفلوانزا ارزیابی گردید که ویروس آنفلوانزا در ۲۲ مورد (۲۰ درصد) یافت شد و در هیچ یک از موارد مثبت هیچ گونه موتانت مقاوم H275Y با استفاده از روش Real-time RT PCR مشاهده نگردید. در مطالعه دیگری که در ایران و در شهر شیراز در سال ۲۰۱۳-۲۰۱۲، روی ویروس A(H1N1)pdm09 انجام شد، در همه موارد حساسیت به داروی اوسلتامی ویر گزارش گردید و هیچ گونه مقاومتی دیده نشد (۲۰). نتایج مطالعه انجام شده در تهران به منظور بررسی مقاومت به داروی اوسلتامی ویر در ویروس

آنفلوانزای A/H1N1 بیانگر آن بود که از ۵۱ مورد مثبت، ۴ مورد جهش مقاومت دارویی H275Y داشتند (۱۱). در بررسی ای که در ژاپن بین سال های ۲۰۰۴-۲۰۰۷ صورت گرفت، مقاومت به اوسلتامی ویر کمتر از ۱ درصد گزارش شد (۲۱). در این مطالعه نیز هیچ گونه جهش مقاومت دارویی مشاهده نگردید و همه نمونه ها حساس به دارو بودند. بین سال های ۲۰۰۹-۲۰۱۰ در لبنان، ۳۰ نمونه مثبت آنفلوانزای A(H1N1)pdm09 از ۱۹۷ بیمار مشکوک به آنفلوانزا جداسازی شد که یک مورد مقاومت به اوسلتامی ویر مشاهده گردید (۲۲). مطالعه دیگری در تایوان بین سال های ۲۰۰۹-۲۰۱۱ انجام شد که ۱۵ نمونه (۱/۱ درصد) از ۱۳۲۵ مورد مثبت برای A(H1N1)pdm09 به اوسلتامی ویر مقاوم بودند (۲۳). در مطالعه ای که در کشور آرژانتین در سال ۲۰۱۱ صورت گرفت، میزان مقاومت دارویی در ویروس آنفلوانزای A/H1N1، ۳۴/۳ درصد گزارش شد و پس از بررسی سکناس مشخص گردید که در همه موارد، جهش H275Y در پروتئین نورامینیداز اتفاق افتاده است (۱۲). مطالعه انجام شده در تایلند در سال ۲۰۰۹، میزان مقاومت به اوسلتامی ویر در ویروس آنفلوانزای A/H1N1 ۴۰ درصد گزارش شد (۱۰). در یک مطالعه در کشور آمریکا بین سال های ۲۰۰۹-۲۰۱۱ مشخص گردید که ۳۸ درصد از نمونه های مثبت آنفلوانزای A(H1N1)pdm09 به اوسلتامی ویر مقاومت داشتند که در ۱۶ درصد از موارد، جهش H275Y دیده شد (۲۴). در مطالعه دیگری که در آمریکا در سال های ۲۰۰۸-۲۰۱۱ صورت گرفت، از ۸۹۹ نمونه مثبت A/H1N1، در ۵۱۴ مورد (۵۷ درصد) مقاومت دیده شد (۲۵).

با توجه به پایش های انجام شده در سراسر دنیا و افزایش روزافزون سویه های مقاوم، شناسایی مقاومت دارویی و بررسی جهش ها با استفاده از روش های دقیق و سریع برای تبیین راهبرد درمانی مناسب و مؤثر، به منظور کنترل ویروس آنفلوانزا امری ضروری است. روش Real-time RT PCR روشی بسیار مؤثر و سریع در تشخیص جهش های مقاومت دارویی است؛ در نتیجه توصیه می شود که برای شروع درمان

جهش‌های مقاوم به دارو نیاز است.

### تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به سبب حمایت مالی از این مطالعه در قالب طرح شماره ۹۵۰۵۱۹۲۸۶۸ و همچنین از زحمات همه کارکنان درمانی و بهداشتی استان همدان که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضادی در منافع ندارند.

کد اخلاق: IR.UMSHA.REC.1400.917

## References

- Jackson RJ, Cooper KL, Tappenden P, Rees A, Simpson EL, Read RC, et al. Oseltamivir, zanamivir and amantadine in the prevention of influenza: a systematic review. *J Infect* 2011; 62:14-25. doi: 10.1016/j.jinf.2010.10.003.
- Cox N, Subbarao K. Global epidemiology of influenza: past and present. *Annu Rev Med*. 2000;51:407-21. doi: 10.1146/annurev.med.51.1.407.
- Fischer WA, 2nd, Gong M, Bhagwanjee S, Sevransky J. Global burden of influenza as a cause of cardiopulmonary morbidity and mortality. *Glob heart* 2014; 9:325-36. doi: 10.1016/j.gheart.2014.08.004.
- Bouvier NM, Palese P. The biology of influenza viruses. *Vaccine*. 2008;26: D49-D53. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.07.039.
- Das K, Aramini JM, Ma L-C, Krug RM, Arnold E. Structures of influenza A proteins and insights into antiviral drug targets. *Nat Struct Mol Biol* 2010; 17:530-8. doi: 10.1038/nsmb.1779.
- Ikematsu H, Kawai N. Laninamivir octanoate: a new long-acting neuraminidase inhibitor for the treatment of influenza. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011; 9:851-7. doi: 10.1586/eri.11.112.
- Kohno S, Kida H, Mizuguchi M, Hirotsu N, Ishida T, Kadota J, et al. Intravenous peramivir for treatment of influenza A and B virus infection in high-risk patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:2803-12. doi: 10.1128/AAC.01718-10.
- Dapat IC, Dapat C, Baranovich T, Suzuki Y, Kondo H, Shobugawa Y, et al. Genetic characterization of human influenza viruses in the pandemic (2009–2010) and post-pandemic (2010–2011) periods in Japan. *PLoS One*. 2012;7:e36455. doi: 10.1371/journal.pone.0036455.
- Chidlow GR, Harnett GB, Williams SH, Tempone SS, Speers DJ, Hurt AC, et al. The detection of oseltamivir-resistant pandemic influenza A/H1N1 2009 viruses using a real-time RT-PCR assay. *J Virol Methods* 2010; 169:47-51. doi: 10.1016/j.jviromet.2010.06.014.
- Bai GR, Chittaganpitch M, Kanai Y, Li YG, Auwanit W, Ikuta K, et al. Amantadine-and oseltamivir-resistant variants of influenza A virus in Thailand. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;390:897-901. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.10.071.
- Moradi A, Nadji SA, Tabarsi P, Hashemian SM, Marjani M, Sigaroodi A, et al. Prevalence of Oseltamivir-Resistant 2009 H1N1 Influenza Virus among Patients with Pandemic 2009 H1N1 Influenza infection in NRITLD, Tehran, Iran. *Tanaffos* 2011; 10:8
- Pontoriero A, Baumeister E, Campos AM, Savy VL. Virological surveillance and antiviral resistance of human influenza virus in Argentina, 2005-2008. *Rev Panam Salud Publica* 2011;30:634-40. doi: 10.1590/s1020-4989201101200023.
- Smith JR, Rayner CR, Donner B, Wollenhaupt M, Klumpp K, Dutkowski R. Oseltamivir in seasonal, pandemic, and avian influenza: a comprehensive review of 10-years clinical experience. *Adv Ther* 2011; 28:927-59. doi: 10.1007/s12325-011-0072-7.
- Gioula G, Melidou A, Exindari M, Papoutsi N, Chatzidimitriou D, Dotis J, et al. Oseltamivir-resistant influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus in Northern Greece. *Hippokratia* 2011; 15:272.
- Takayama I, Nakauchi M, Fujisaki S, Odagiri T,

ابتدا ویروس‌های در گردش از لحاظ تغییرات مربوط به مقاومت دارویی با استفاده از روش‌های دقیق بررسی گردند و اگر جهش شناسایی شد، راهبرد درمانی متفاوتی اتخاذ گردد؛ برای مثال، زانامی ویر به‌عنوان داروی جایگزین به کار رود؛ همچنین پیشنهاد می‌شود که با توجه به تغییرات آنتی‌ژنی و ژنتیکی این ویروس، تغییرات ژن M2 نیز بررسی گردد تا در صورت پیدایش سویه‌های حساس به این دارو، امکان استفاده دوباره از داروهای آدامانتین در پیشگیری و درمان ویروس‌های آنفلوآنزا ایجاد شود. یافته‌های مطالعه ما مؤید این مطلب است که همچنان داروی اسلتامی ویر می‌تواند گزینه مناسبی برای درمان آنفلوآنزای A/H1N1 در همدان باشد؛ اما با توجه به افزایش جهانی ویروس‌های مقاوم به دارو، بررسی سالیانه مقاومت به این دارو توصیه می‌گردد؛ بنابراین، به مطالعات بیشتری در ایران در زمینه بررسی

- Tashiro M, Kageyama T. Rapid detection of the S247N neuraminidase mutation in influenza A (H1N1) pdm09 virus by one-step duplex RT-PCR assay. *J Virol Methods* 2013; 188:73-5. doi: 10.1016/j.jviromet.2012.12.005.
16. Okomo-Adhiambo M, Sheu TG, Gubareva LV. Assays for monitoring susceptibility of influenza viruses to neuraminidase inhibitors. *Influenza Other Respir Viruses* 2013;7:44-9. doi: 10.1111/irv.12051.
  17. Choi W-Y, Kim S, Lee N, Kwon M, Yang I, Kim M-J, et al. Amantadine-resistant influenza A viruses isolated in South Korea from 2003 to 2009. *Antiviral Res* 2009; 84:199-202. doi: 10.1016/j.antiviral.2009.08.006.
  18. Jandaghi N, Azad TM, Nadji S, Yavarian J, Naseri M, Salimi V, et al. Sequence and phylogenetic analyses of neuraminidase gene of Iranian seasonal influenza H1N1 viruses from 2005-2009 and corresponding vaccine strains. *Acta Virol* 2010; 54:205-10. doi: 10.4149/av\_2010\_03\_205.
  19. Jacks A, Ollgren J, Ziegler T, Lyytikäinen O. Influenza-associated hospitalisations in Finland from 1996 to 2010: unexpected age-specific burden during the influenza A (H1N1) pdm09 pandemic from 2009 to 2010. *Eurosurveillance* 2012; 17:20276.
  20. Khodadad N, Moattari A, Shamsi Shahr Abadi M, Kadivar MR, Sarvari J, Tavakoli F, et al. Prevalence of Influenza A(H1N1) pdm09 Virus Resistant to Oseltamivir in Shiraz, Iran, During 2012 - 2013. *Jundishapur J Microbiol* 2015;8: e23690-e. doi: 10.5812/jjm.23690.
  21. Zambon MC. Surveillance for antiviral resistance. *Influenza Other Respir Viruses* 2013;7:37-43. doi.org/10.1111/irv.12050.
  22. Zaraket H, Kondo H, Tabet C, Hanna-Wakim R, Suzuki Y, Dbaiibo GS, et al. Genetic diversity and antiviral drug resistance of pandemic H1N1 2009 in Lebanon. *J Clin Virol* 2011; 51:170-4. doi: 10.1016/j.jcv.2011.04.001.
  23. Yang JR, Huang YP, Chang FY, Hsu LC, Huang HY, Pan YT, et al. Characterization of oseltamivir-resistant influenza A (H1N1) pdm09 viruses in Taiwan in 2009–2011. *J Med Virol* 2013; 85:379-87. doi: 10.1002/jmv.23482.
  24. Nguyen HT, Trujillo AA, Sheu TG, Levine M, Mishin VP, Shaw M, et al. Analysis of influenza viruses from patients clinically suspected of infection with an oseltamivir resistant virus during the 2009 pandemic in the United States. *Antiviral Res* 2012; 93:381-6. doi: 10.1016/j.antiviral.2012.01.006.
  25. Whitley RJ, Boucher CA, Lina B, Nguyen-Van-Tam JS, Osterhaus A, Schutten M, et al. Global assessment of resistance to neuraminidase inhibitors, 2008–2011: The Influenza Resistance Information Study (IRIS). *Clin Infect Dis* 2013; 56:1197-205. doi: 10.1093/cid/cis1220.