

## فراوانی انتروویروس های غیر پولیوی در بیماران فلج شل حاد در ایران قبل و در حین همه گیری COVID-19

احمد نجاتی<sup>۱</sup>، علیرضا عسگری گل زردی<sup>۲</sup>، فرشاد خداخواه<sup>۳</sup>، کتابون صمیمی راد<sup>۴</sup>، سیده مریم یوسفی<sup>۵</sup>، یعقوب ملایی کندلوسی<sup>۶</sup>، مریم کیوانلو<sup>۷</sup>، محمد رزاقی<sup>۸</sup>، پرستو سهیلی<sup>۹</sup>، دلارام یعقوب زاده<sup>۱۰</sup>، نسترن قوامی<sup>۱۱</sup>، سوسن محمودی<sup>۱۲</sup>، سید محسن زهرایی<sup>۱۳</sup>، شهره شاه محمودی<sup>۱۴\*</sup>

- ۱- استادیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۲- دانشجوی دوره کارشناس ارشد، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۳- کارشناس، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۴- دانشیار، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۵- محقق، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۶- دانشجوی دوره دکترای، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۷- متخصص بیماری های کودکان، مرکز کنترل بیماری های واگیر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
- ۸- استاد، مرکز کنترل بیماری های واگیر، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
- ۹- استاد، گروه ویروس شناسی، گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، آزمایشگاه ملی فلج اطفال، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

\*نویسنده رابط: Shahmahmoodi@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** در طول همه گیری COVID-19، اقدامات و پروتوکل های بهداشتی عمومی مانند شستن منظم دست ها و استفاده از ماسک در سطح ملی توصیه شد. اجرای این پروتوکل های بهداشتی باعث کاهش شیوع انواع بیماری های تنفسی شد ولی هیچ مطالعه ای برای بررسی تاثیر اجرای این پروتوکل ها بر روی شیوع ویروس هایی که از طریق مدفوعی - دهانی منتقل می شوند صورت نگرفته است. از آنجا که انتروویروس های غیر پولیوی Non-Polio Enteroviruses; (NPEVs) عمدتاً از طریق مدفوعی - دهانی منتقل می شوند، در این مطالعه شیوع انتروویروس های غیر پولیوی در بیماران فلج شل حاد Acute Flaccid Paralysis (AFP) در ایران قبل و در حین همه گیری COVID-19 بررسی شده است.

**روش کار:** برای تشخیص انتروویروس های غیر پولیوی، نمونه های مدفوع موارد AFP که توسط آزمایشگاه ملی فلج اطفال ایران در سال ۲۰۱۹ (قبل از همه گیری COVID-19) و سال ۲۰۲۱ (در طول همه گیری COVID-19) دریافت شده بودند، مورد آزمایش قرار گرفتند. برای جداسازی NPEVs با کشت سلولی، از پروتوکل استاندارد WHO و برای تست مولکولی TaqMan One-Step Real Time PCR استفاده شد.

**نتایج:** در سال ۲۰۱۹، ۲۱ نمونه از ۱۰۷۰ بیمار با کشت سلولی و ۱۲ نمونه از ۱۰۰ بیمار به روش مولکولی از نظر انتروویروس غیر پولیوی مثبت بودند، در حالیکه این نسبت در سال ۲۰۲۱ به ۱۰ نمونه از ۶۷۸ بیمار با کشت سلولی و ۳ نمونه از ۱۰۰ بیمار به روش مولکولی کاهش پیدا کرد.

**نتیجه گیری:** با توجه به معنی دار بودن نتایج این مطالعه می توان تایید کرد که رعایت بهداشت شخصی و پروتوکل های بهداشت عمومی در طول همه گیری COVID-19، علاوه بر کاهش عمومی انتقال تنفسی ویروس ها، بر انتقال مدفوعی - دهانی ویروس ها هم اثر گذاشته است.

**واژگان کلیدی:** COVID-19، انتروویروس های غیر پولیوی، پروتوکل های بهداشتی، فلج شل حاد

## مقدمه

تنفسی ناشی از سرفه و عطسه، آئروسول‌های ناشی از صحبت کردن و همچنین تماس غیرمستقیم از سطوح آلوده صورت می‌گیرد. با توجه به قابلیت انتقال بالای SARS-CoV-2، سازمان جهانی بهداشت (WHO) مداخلات غیردارویی از قبیل شستن مکرر دست‌ها با مایع دستشویی، خودداری از لمس صورت، آداب سرفه و استفاده از ماسک برای بیماران را به عنوان پروتکل‌های بهداشت عمومی توصیه کرده است (۹-۶).

در این مطالعه، فرض بر این بود که رعایت پروتکل‌های بهداشتی برای کاهش انتقال ویروس‌هایی که از طریق تنفسی منتقل می‌شوند، نه تنها انتقال SARS-coV-2 را کاهش می‌دهد، بلکه فراوانی ویروس‌هایی که از طریق دهانی-مدفوعی منتقل می‌شوند را نیز کاهش داده است. بر این اساس در طول همه‌گیری COVID-19 در سال ۲۰۲۱، فراوانی NPEVs در بیماران AFP مورد ارزیابی قرار گرفت و با فراوانی NPEVs در بیماران AFP قبل از همه‌گیری COVID-19 مقایسه شد تا تاثیر رعایت پروتکل‌های بهداشتی در انتقال دهانی-مدفوعی ویروس‌ها نیز سنجیده شود.

## روش کار

انتخاب نمونه: برای انجام کشت سلولی، نمونه‌های مدفوع کلیه موارد AFP در سال‌های ۲۰۱۹ (۱۰۷۰ نمونه) و ۲۰۲۱ (۶۷۸ نمونه) که برای تشخیص ویروس پولیو به آزمایشگاه ملی فلج اطفال ایران ارجاع شده بودند، طبق پروتکل WHO مورد آزمایش قرار گرفتند و فراوانی اترروویروس‌های غیرپولیویی در آنها سنجیده شد. از آنجا که کشت سلولی تمامی تایپ‌های اترروویروس را پوشش نمی‌دهد، ۱۰۰ نمونه مدفوع سال ۲۰۱۹ و ۱۰۰ نمونه مدفوع سال ۲۰۲۱ (۲۵)

اتروویروس‌ها یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های انسانی هستند که توزیع جهانی دارند و مسئول طیف وسیعی از بیماری‌ها هستند (۱). پس از ویروس پولیو که عامل اصلی فلج اطفال است، برخی از انواع اترروویروس‌های غیرپولیویی (NPEVs) در ایجاد فلج شل حاد (AFP) اهمیت زیادی دارند. فلج شل حاد یکی از مهم‌ترین مشکلات بهداشتی در جهان به ویژه در کشورهای در حال توسعه است. چندین بیماری عصبی (مانند سندرم گیلن باره و میلیت عرضی) می‌تواند باعث ایجاد AFP شوند، اما همچنان اترروویروس‌های غیرپولیویی از مهمترین عوامل ویروسی در القای AFP هستند. این ویروس‌ها از طریق مدفوعی-دهانی در بین افراد مستعد منتقل می‌شوند، بنابراین می‌تواند اطلاعات اپیدمیولوژیک ارزشمندی را به عنوان شاخص‌های بهداشتی ارائه دهند (۳،۲).

سندرم تنفسی حاد شدید کرونا ویروس ۲ (SARS-CoV-2)، عامل ایجاد کننده همه‌گیری COVID-19، اولین بار در سال ۲۰۱۹ در شهر ووهان چین گزارش شد (۴). از زمان شناسایی SARS-CoV-2، واریانت‌های مختلفی از ویروس کرونا که عامل این بیماری هستند شناسایی شده که برخی از آنها به عنوان انواع مورد توجه (VOIs) variant of interest و انواع نگران کننده (VOCs) variants of concern شناخته شده اند (۶، ۵). از آگوست ۲۰۲۳، تنها واریانت Omicron و زیر واریانت XBB 1.5 به عنوان یک VOC در گردش توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) تعیین شده است (۷). تاکنون بیش از ۶/۹ میلیون نفر در سراسر جهان بر اثر COVID-19 جان خود را از دست داده اند (۸). انتقال ویروس عمدتاً از طریق قطرات

## نتایج

اطلاعات دموگرافیک بیماران AFP در جدول ۱ خلاصه شده است. تعداد موارد AFP ارجاع شده به آزمایشگاه ملی فلج اطفال ۱۰۷۰ نمونه در سال ۲۰۱۹ و ۶۷۸ نمونه در سال ۲۰۲۱ بوده است. تعداد نمونه های AFP در سال ۲۰۲۱ نسبت به سال ۲۰۱۹ به طور قابل توجهی کاهش یافته که به دلیل درگیر بودن سیستم بهداشتی کشور با COVID-19 بوده و این وضعیت در تمامی کشورهای دنیا اتفاق افتاده است. در سال ۲۰۱۹ نسبت مرد به زن ۱: ۱/۶ و در سال ۲۰۲۱ این نسبت ۱: ۱/۴ بوده است. بیماران به سه گروه سنی زیر ۵ سال، بین ۵ تا ۱۰ سال و بزرگتر ۱۰ سال تقسیم شدند که تعداد گروه اول بیشتر از دو گروه دیگر بود. نمونه های AFP توزیع فصلی نسبتاً یکسانی را نشان دادند (جدول ۱).

در سال ۲۰۱۹، ۳۳ نمونه (۲۱ نمونه با کشت سلولی و ۱۲ نمونه با TaqMan One-Step RT-PCR) و در سال ۲۰۲۱، ۱۳ نمونه (۱۰ نمونه با کشت سلولی و ۳ نمونه با TaqMan One-Step RT-PCR) از لحاظ NPEV مثبت بودند (شکل ۱-A و B). تعداد نمونه های مثبت NPEV در سال ۲۰۲۱ به طور قابل توجهی نسبت به سال ۲۰۱۹ کاهش یافته است ( $p < 0.001$ ).

از ۳۳ نمونه NPEV مثبت در سال ۲۰۱۹، ۱۶ نمونه مرد و ۱۷ نمونه زن بودند، در حالی که در سال ۲۰۲۱، از ۱۳ نمونه مثبت، ۸ نمونه مرد و ۶ نمونه زن بودند (شکل ۱-C). هیچ رابطه آماری معنی داری بین جنسیت و NPEV یافت نشد ( $p > 0.05$ ).

تعداد موارد مثبت NPEV در گروه سنی اول (> ۵ سال) در مقایسه با دو گروه دیگر در هر دو سال ۲۰۱۹ و ۲۰۲۱ بصورت واضح بیشتر بود (شکل ۱-D) ( $p < 0.05$ ).

نمونه در هر فصل) به طور تصادفی انتخاب شده و بطور مستقیم با استفاده از روش های مولکولی نیز مورد آزمایش قرار گرفتند. آماده سازی نمونه و جداسازی ویروس: آماده سازی نمونه مدفوع و کشت سلولی طبق پروتکل WHO انجام شد (۱۰). به طور خلاصه، حدود ۱ گرم نمونه مدفوع با ۹ میلی لیتر بافر نمکی فسفات Phosphate Buffered Saline (PBS) حاوی منیزیم و کلسیم و ۱ میلی لیتر کلروفورم به مدت ۲۰ دقیقه به شدت مخلوط و سپس به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. دویمت میکرولیتر از مایع رویی به سلول های RD-A (رابدومیوسارکوما ی انسانی) تلقیح شد. لوله های کشت، روزانه از نظر اثر سایتوپاتیک (CPE) با میکروسکوپ معکوس به مدت ۱۰ روز بررسی شدند. نمونه های RD مثبت به عنوان NPEV مثبت در نظر گرفته شدند.

استخراج ژنوم و TaqMan One-Step RT-PCR: ژنوم ویروس با استفاده از کیت استخراج اسید نوکلئیک ویروسی با خلوص بالا (High Pure Viral Nucleic Acid Kit- Roche) طبق دستورالعمل سازنده استخراج شد. کیفیت و کمیت RNA توسط اسپکتروفتومتر نانودراپ ۲۰۰۰ (NanoDrop™) (2000 Thermo Fisher Scientific) اندازه گیری شد.

ژنوم NPEV با استفاده از کیت TaqMan One-Step RT-PCR (Qiagen، آلمان) و برنامه دمایی مناسب استفاده شده در مطالعات قبلی شناسایی شدند (۱۱).

روش آماری: داده ها با استفاده از نرم افزار Prism 8 با استفاده از آزمون t، روش دقیق فیشر و آنالیز واریانس دو طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آلفا ۰/۰۵ تعیین شد.

۱۵). این اقدامات پیشگیرانه نه تنها انتقال SARS-CoV-2، بلکه انتقال سایر بیماری‌های عفونی را نیز کاهش داد. چندین مطالعه نشان داده‌اند که در طول همه‌گیری COVID-19، بسیاری از بیماری‌های عفونی در کودکان و بزرگسالان به طور قابل توجهی در نقاط مختلف جهان کاهش یافته است (۱۶-۱۹).

نتایج این مطالعه نشان داد که در سال ۲۰۱۹ شیوع NPEV در بیماران AFP با کشت سلولی و روش مولکولی به ترتیب ۲ و ۱۲٪ بود، در حالی که در سال ۲۰۲۱ فراوانی این ویروس‌ها با روش‌های کشت سلولی و مولکولی به ترتیب به ۱/۴ و ۳٪ کاهش یافته بود. بیشتر الگوی انتقال NPEV در بین کودکان مستعد از طریق بهداشت فردی و فرد به فرد، به ویژه انتقال مدفوعی-دهانی است. بنابراین، بدیهی است که اگر اقدامات پیشگیرانه برای COVID-19 در کشوری اجرا شود، نرخ انتقال NPEV به طور غیرمستقیم کاهش خواهد یافت. شاهد این ادعا مطالعه Kuo و همکاران است که نتایج آن نشان می‌دهد که عفونت‌های ناشی از NPEV به دلیل اقدامات پیشگیرانه برای COVID-19 در تایوان به طور قابل توجهی کاهش یافته است (۲۰).

مانند بیشتر مطالعات، بررسی حاضر نیز دارای محدودیت‌هایی بود از جمله محدود بودن تعداد نمونه برای تست مولکولی، که به دلیل محدودیت اقتصادی در هر سال مورد مطالعه فقط ۱۰۰ نمونه برای تست مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تعیین تایپ آنروویروس‌های شناسایی شده می‌تواند اطلاعات اپیدمیولوژیک ارزشمندی در مورد آنروویروس‌های در گردش در جامعه ما و همچنین ظهور و ناپدید شدن تایپ‌های خاص در سال‌های مختلف به دست بدهد.

از نتایج این مطالعه می‌توان چنین برداشت کرد که فراوانی NPEVs در جوامع، ارتباط مستقیم با بهداشت فردی و اجتماعی

الگوی فصلی موارد مثبت NPEV نشان داد که موارد مثبت توزیع فصلی مشابهی در سال‌های ۲۰۱۹ و ۲۰۲۱ دارند (شکل ۲)، بدین صورت که فراوانی NPEV‌ها در تابستان نسبت به سایر فصول در سال‌های ۲۰۱۹ و ۲۰۲۱ به طور قابل توجهی بیشتر بود ( $p < 0.05$ ).

## بحث

طبق پروتوکل WHO، در آزمایشگاه‌های ملی فلج اطفال جداسازی آنروویروس غیر پولیویمی از موارد AFP، با روش کشت سلولی انجام می‌گیرد، اما تمام سروتایپ‌های NPEV را نمی‌توان در کشت سلولی RD جدا کرد. برای رفع این نقص می‌توان از تشخیص مستقیم با روش TaqMan One-Step RT-PCR استفاده کرد که می‌تواند سروتایپ‌های NPEV را که با روش کشت سلول قابل تشخیص نیستند شناسایی کند. براساس تحقیقات قبلی، در ایران شیوع NPEVs در بیماران AFP با کشت سلولی ۱ تا ۳٪ و با روش‌های مولکولی حدود ۱۲٪ گزارش شده است (۱۳-۱۱).

در فوریه ۲۰۲۰، ایران در جهت اقدامات پیشگیرانه برای مهار همه‌گیری COVID-19، رعایت پروتوکل‌های بهداشت فردی را در مکان‌های عمومی اجباری نمود (۱۴). این اقدامات پیشگیرانه از قبیل پوشیدن ماسک در مکان‌های عمومی، شستشوی مرتب دست‌ها و فاصله‌گذاری اجتماعی بودند و تا حد زیادی این موارد در طول همه‌گیری توسط عموم مردم رعایت می‌شد. علاوه بر این، اقدامات پیشگیرانه دیگری مانند تعطیلی مدارس، مهد کودک‌ها و اماکن عمومی (مثل سینما و شهر بازی) و ایزوله نمودن کودکان در خانه به طور قابل توجهی ارتباط بین کودکان را کاهش داد (۹)،

در سال همه گیری COVID-19 مشاهده شد، می توان نتیجه گرفت که اقدامات بهداشتی پیشگیرانه COVID-19 عامل اصلی این کاهش بوده است.

در آن جامعه دارد. بر این اساس، از درصد شیوع NPEVs در جوامع می توان به عنوان شاخص رعایت بهداشت در آن جامعه استفاده کرد. شاهد این امر بالا بودن میزان فراوانی NPEVs در کشورهایمانند پاکستان و هندوستان، و پایین بودن آن در کشوری مانند تونس و همچنین کشور ما است.

### تشکر و قدردانی

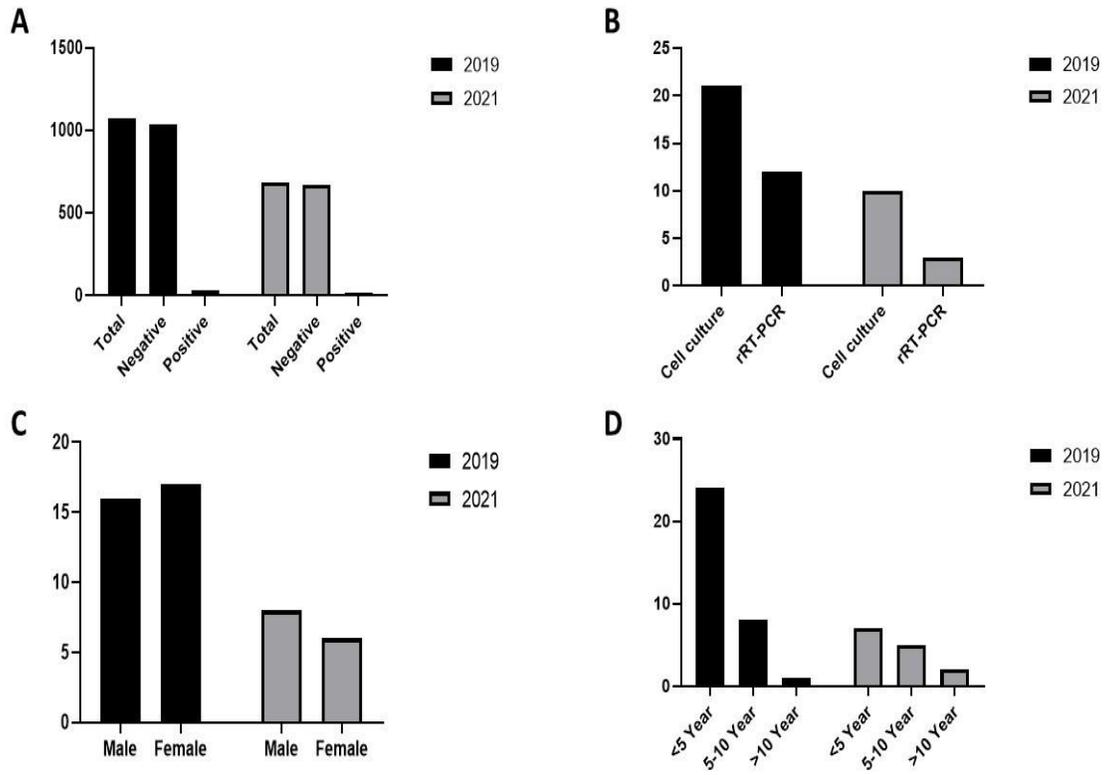
این مطالعه قسمتی از پایان نامه کارشناسی ارشد به شماره ۲۴۰/۶۷۷ و طرح پژوهشی به شماره ۱۴۰۰-۲-۳۴۰-۵۵۵۱۱ و کد اخلاق IR.TUMS.SPH.REC.1400.234 است که توسط دانشگاه علوم پزشکی تهران تأمین مالی و حمایت شده است.

### نتیجه گیری

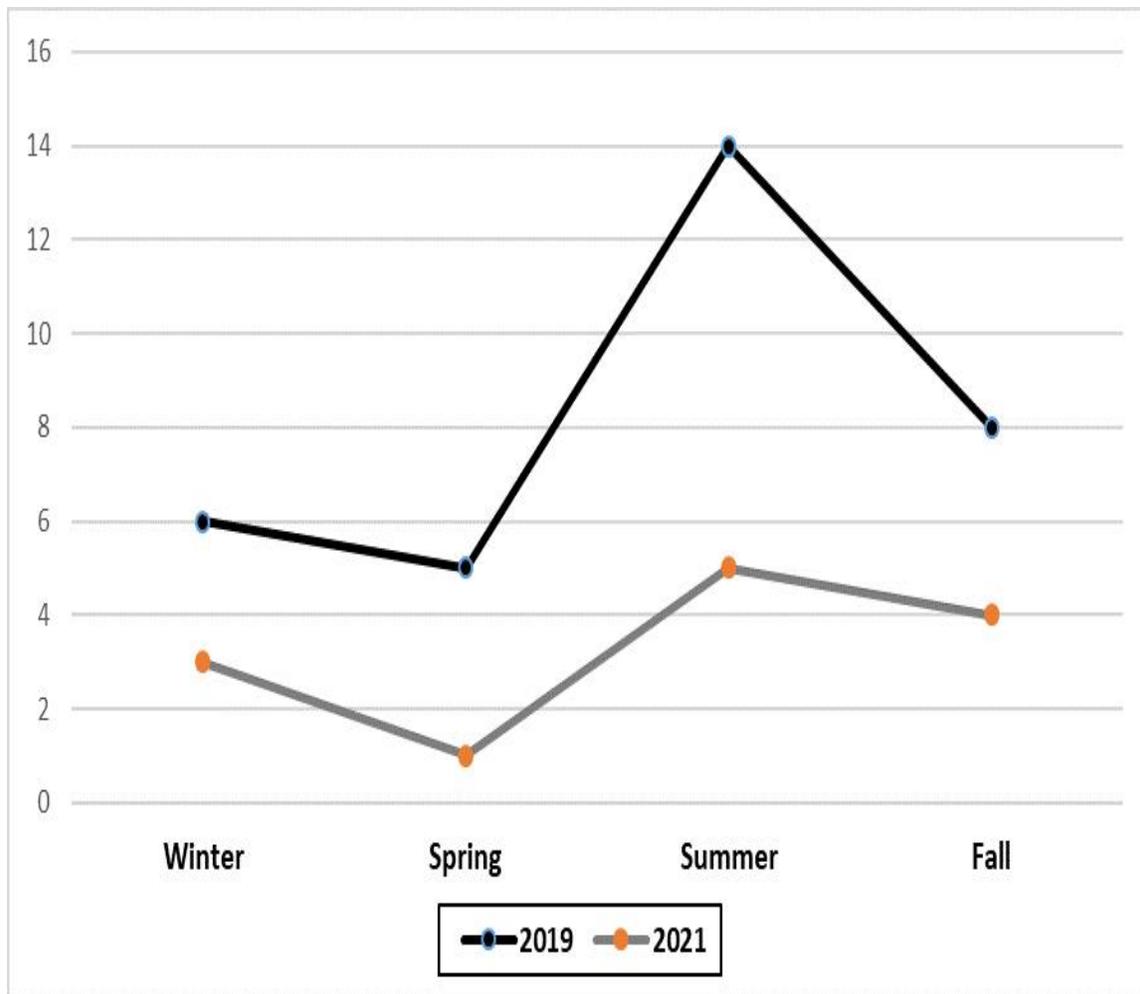
نتایج این مطالعه نشان می دهد که در سال ۲۰۲۱ نسبت به سال ۲۰۱۹ کاهش قابل توجهی در فراوانی NPEV در بیماران AFP در ایران رخ داده است. از آنجا که این کاهش قابل توجه

جدول ۱- اطلاعات دموگرافیک بیماران مبتلا به Acute Flaccid Paralysis در مطالعه فراوانی انتروویروس های غیرپولیویی در بیماران فلج شل حاد در ایران قبل و در حین همه گیری COVID-19

۲۰۲۱		۲۰۱۹		
(درصد) فراوانی	Real Time PCR	(درصد) فراوانی	Real Time PCR	
				جنس
۳۹۶ (۵۸/۴)	۵۳	۶۶۹ (۶۲/۵)	۶۴	مذکر
۲۸۲ (۴۱/۶)	۴۷	۴۰۱ (۳۷/۵)	۳۶	مؤنث
				گروه سنی
۲۹۴ (۴۳/۴)	۴۸	۴۸۷ (۴۵/۵)	۴۸	کمتر از ۵ سال
۲۰۵ (۳۰/۲)	۵۲	۳۸۹ (۳۶/۴)	۳۷	۵ تا ۱۰ سال
۱۷۹ (۲۶/۴)	-	۱۹۴ (۱۸/۱)	۱۵	بیش از ۱۰ سال
				فصل
۱۶۰ (۲۳/۵)	۲۵	۲۳۴ (۲۱/۸)	۲۵	زمستان
۱۸۸ (۲۷/۷)	۲۵	۲۵۰ (۲۳/۳)	۲۵	بهار
۱۵۲ (۲۲/۵)	۲۵	۲۵۷ (۲۴/۲)	۲۵	تابستان
۱۷۸ (۲۶/۳)	۲۵	۳۲۹ (۳۰/۷)	۲۵	پاییز



شکل ۱- تفکیک موارد مثبت انتروویروس های غیر پولیویمی NPEVs بر اساس روش آزمایشگاهی، جنس، سن و مقایسه آن در سال ۲۰۲۱ و ۲۰۱۹. سال ۲۰۱۹ با رنگ سیاه و سال ۲۰۲۱ با رنگ خاکستری مشخص شده است. A: تعداد کل، موارد منفی NPEVs و موارد مثبت ویروس در موارد AFP در سالهای ۲۰۱۹ و ۲۰۲۱. B: موارد مثبت NPEVs با روش آزمایشگاهی در سالهای ۲۰۱۹ و ۲۰۲۱ انجام شد. C: موارد مثبت NPEVs در مردان و زنان در سالهای ۲۰۱۹ و ۲۰۲۱. D: موارد مثبت NPEVs بر اساس گروه سنی در سالهای ۲۰۱۹ و ۲۰۲۱.



شکل ۲- توزیع موارد مثبت انتروویروس های غیر پولیوی (NPEVs) بر اساس فصل. سال ۲۰۱۹ با رنگ مشکی و سال ۲۰۲۱ با رنگ خاکستری مشخص شده است

## References

1. Rao CD. Enteroviruses in gastrointestinal diseases. *Reviews in Medical Virology*. 2021;31(1):1-12.
2. Baggen J, Thibaut HJ, Strating JR, van Kuppeveld FJ. The life cycle of non-polio enteroviruses and how to target it. *Nature Reviews Microbiology*. 2018; 386(6):16-81.
3. Suresh S, Forgie S, Robinson J. Non-polio Enterovirus detection with acute flaccid paralysis: A systematic review. *Journal of Medical Virology*. 2018; 90(1):3-7.

4. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*. 2021;19(3):141-54.
5. Markov PV, Ghafari M, Beer M, Lythgoe K, Simmonds P, Stilianakis NI, et al. The evolution of SARS-CoV-2. *Nature Reviews Microbiology*. 2023;21(6):361-79.
6. Tian D, Sun Y, Xu H, Ye Q. The emergence and epidemic characteristics of the highly mutated SARS-CoV-2 Omicron variant. *Journal of Medical Virology*. 2022;94(6):2376-83.
7. Organization WH. WHO SAGE roadmap on uses of COVID-19 vaccines in the context ofOMICRON and substantial population immunity: an approach to optimize the global impact of COVID-19 vaccines at a time when Omicron and its sub-lineages are the dominant circulating variants of concern, based on public health goals, evolving epidemiology, and increasing population-level immunity, first issued 20 October 2020, updated: 13 November 2020, updated: 16 July 2021, update: 21 January 2022, latest update: 30 March 2023. World Health Organization, 2023.
8. Worldometer D. COVID-19 coronavirus pandemic. World Health Organization, www.worldometers.info, 2020.
9. Salimi R, Gomar R, Heshmati B. The COVID-19 outbreak in Iran. *Journal of global health*. 2020;10(1).
10. Organization WH. Polio laboratory manual. World Health Organization, 2004.
11. Nejati A, Soheili P, Yousefipoor S, Zahraei SM, Mahmoudi S, Yousefi M, et al. Molecular typing of enteroviruses and parechoviruses in acute flaccid paralysis patients in Iran in 2019. *Archives of Virology*. 2022;167(3):891-9.
12. Nejati A, Farahmand M, Tabatabaie H, Yousefi M, Mollaei-Kandelous Y, Shahmahmoodi S. Molecular typing of non-polio enteroviruses isolated from acute flaccid paralysis cases in Iran from 2010 to 2015. *Virologica Sinica*. 2017;32(3):249-52.
13. Nejati A, Zahraei SM, Mahmoudi S, Yousefi M, Mollaei-Kandelous Y, Tabatabaie H, et al. Molecular characterization of non-polio enteroviruses isolated from children with acute flaccid paralysis in IRAN, 2015–2018. *Virus genes*. 2020;56(5):531-6.
14. Raoofi A, Takian A, Sari AA, Olyaeemanesh A, Haghighi H, Aarabi M. COVID-19 pandemic and comparative health policy learning in Iran. *Archives of Iranian Medicine (AIM)*. 2020;23(4).
15. Saki M, Ghanbari MK, Behzadifar M, Imani-Nasab MH, Azari S, Bakhtiari A, et al. The Impact of the Social Distancing Policy on COVID-19 Incidence Cases and Deaths in Iran from February 2020 to January 2021: Insights from an Interrupted Time Series Analysis. *The Yale journal of biology and medicine*. 2021;94(1):13-21.
16. Alene KA, Wangdi K, Clements AC. Impact of the COVID-19 pandemic on tuberculosis control: an overview. *Tropical medicine and infectious disease*. 2020;5(3):123.
17. Bentivegna E, Luciani M, Arcari L, Santino I, Simmaco M, Martelletti P. Reduction of multidrug-resistant (MDR) bacterial infections during the COVID-19 pandemic: a retrospective study. *International journal of environmental research and public health*. 2021;18(3):1003.
18. Di Mattia G, Nenna R, Mancino E, Rizzo V, Pierangeli A, Villani A, et al. During the COVID-19 pandemic where has respiratory syncytial virus gone? *Pediatric Pulmonology*. 2021;56(10):39-106.
19. Olsen SJ, Azziz-Baumgartner E, Budd AP, Brammer L, Sullivan S, Pineda RF, et al. Decreased influenza activity during the

COVID-19 pandemic—United States, Australia, Chile, and South Africa, 2020. *American Journal of Transplantation*. 2020; 20(12):3681-3685.

20. Kuo S-C, Tsou H-H, Wu H-Y, Hsu Y-T, Lee F-J, Shih S-M, et al. Nonpolio enterovirus activity during the COVID-19 pandemic, Taiwan, 2020. *Emerging infectious diseases*. 2021;27(1):306.

## Frequency of Non-Polio Enteroviruses Among Acute Flaccid Paralysis Patients in Iran Before and During the COVID-19 Pandemic

Ahmad Nejati<sup>1</sup>, Alireza Asgari Golzardi<sup>2</sup>, Farshad KhodaKhah<sup>3</sup>, Katayoun Samimi-Rad<sup>4</sup>, Seyedeh Maryam Yousefi<sup>5</sup>, Yaghoob Mollaei-Kandelousi<sup>3</sup>, Maryam Keyvanlou<sup>3</sup>, Mohammad Razaghi<sup>3</sup>, Parastoo Soheili<sup>6</sup>, Delaram Yaghoobzadeh<sup>2</sup>, Nastaran Ghavami<sup>3</sup>, Sussan Mahmoudi<sup>7</sup>, Seyed Mohsen Zahraei<sup>8</sup>, Shohreh Shahmahmoodi<sup>\*9</sup>

- 1- Ph.D. Assistant Professor, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 2- MSc. Student, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 3- BSc. Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 4- Ph.D. Associate Professor, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 5- Ph.D. Scientist, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 6- PhD. Student, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 7- MD. Pediatrics Specialist, Department of Vaccine Preventable Diseases, Center for Communicable Diseases Control, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
- 8- Ph.D. Professor, Department of Vaccine Preventable Diseases, Center for Communicable Diseases Control, Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran
- 9- Ph.D. Professor, Department of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

\*Corresponding author: shahmahmoodi@tums.ac.ir

Received: Nov 30, 2023

Accepted: Dec 25, 2023

### ABSTRACT

**Background and Aim:** During the COVID-19 pandemic public health measures and protocols such as regular hand washing and wearing a face mask were recommended at the national level. The implementation of these health protocols reduced the prevalence of respiratory diseases, but no study has been conducted to investigate the impact of the implementation of these protocols on the spread of viruses that are transmitted through fecal-oral route. Considering that non-polio enteroviruses (NPEVs) are mainly transmitted through fecal-oral route, this study was conducted to determine the prevalence of non-polio enteroviruses in patients with acute flaccid paralysis (AFP) in Iran before and during the COVID-19 pandemic.

**Materials and Methods:** To detect non-polio enteroviruses stool samples of AFP cases received by Iran National Polio Laboratory in 2019 (before the COVID-19 pandemic) and 2021 (during the COVID-19 pandemic) were tested. To isolate NPEVs by cell culture, the WHO standard protocol was used, and the TaqMan One-Step Real Time PCR was used for molecular testing.

**Results:** In 2019, a sample of 21 out of 1070 patients and a sample of 12 out of 100 patients were found to be positive for non-polio enterovirus by cell culture and the molecular method, respectively; these ratios decreased to 10 out of 678 and 3 out of 100 in 2021.

**Conclusion:** Based on the findings of this study, it can be concluded that the observance of personal hygiene and public health protocols during the COVID-19 epidemic have, in addition to the general reduction of respiratory transmission of viruses, also affected the faecal-oral transmission of viruses.

**Keywords:** COVID-19, Non-Polio Enteroviruses, Health Protocols, Acute Flaccid Paralysis

Copyright © 2023 Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.