

Μικροβιολογικό Εργαστήριο Νοσοκομείου Παίδων «Π & Α Κυριακού», Αθήνα

RSV λοίμωξη του αναπνευστικού σε Παιδιατρικό Νοσοκομείο

ΓΕΩΡΓΙΑ Θ. ΑΝΤΩΝΑΚΗ, ΜΑΡΙΑ Α. ΠΑΠΑΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΟΥ, ΚΩΝ/ΝΑ Ν. ΚΑΛΛΕΡΓΗ

Σκοπός. Ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV) ευθύνεται για σοβαρή λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού σε μικρά παιδιά. Για την αντιμετώπιση της νόσου μπορεί να χρειασθεί νοσηλεία των παιδιών και ιδιαίτερα αυτών που ανήκουν σε ομάδες υψηλού κινδύνου, όπως πρόωρα και παιδιά με χρόνια αναπνευστική πάθηση. Νοσοκομειακή λοίμωξη από διασπορά του ιού μπορεί να συμβεί, αν δεν τηρούνται τα μέτρα προφύλαξης από το προσωπικό. Στην δική μας μελέτη παρουσιάζονται τα στοιχεία από την εργαστηριακή διάγνωση ιογενούς λοίμωξης του αναπνευστικού σε νοσηλευόμενα παιδιά για το έτος 2007.

Υλικό – Μέθοδοι. Ελέγχθηκαν 799 παιδιά τα οποία εισήχθησαν στο Νοσοκομείο μας, το έτος 2007, για λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού. Στο Ορολογικό Εργαστήριο εστάλησαν ρινοφαρυγγικά εκπλύματα για την ανίχνευση του αντιγόνου των αναπνευστικών ιών (RSV, αδενοϊοί, γρίπη Α και Β, παραγρίπη 1,2 και 3). Η ανίχνευση έγινε με ανοσοχρωματογραφία (RSV – Binax) ή άμεσο ανοσοφθορισμό (Pasteur) για τον RSV και με έμμεσο ανοσοφθορισμό για τους άλλους αναπνευστικούς ιούς (Biotrin).

Αποτελέσματα. Το ποσοστό των θετικών δειγμάτων για όλους τους αναπνευστικούς ιούς που ελέγχθηκαν ήταν 52,05%. Ποσοστό 36,4% αφορούσε τον RSV. Την εποχή του επιδημικού κύματος του RSV (Ιανουάριος - Μάρτιος) το ποσοστό των θετικών δειγμάτων ανέρχεται σε 50% και η πλειονότητα (95%) αφορούσε παιδιά ηλικίας κάτω του έτους. Η ενημέρωση των κλινικών γινόταν την ίδια μέρα για τον RSV και την γρίπη της εποχής της επιδημικής της έξαρσης, ώστε να ληφθούν τα απαραίτητα μέτρα για να μην διασπαρεί ο ιός.

Συμπεράσματα. Ο RSV αποτελεί το συχνότερο αίτιο σοβαρής λοίμωξης του αναπνευστικού σε μικρά παιδιά. Η έγκαιρη διάγνωση από το Εργαστήριο και η λήψη των απαραίτητων μέτρων προστασίας από τις κλινικές και τις μονάδες επιβάλλουν την διασπορά του ιού και έτσι αποφεύγεται ο κίνδυνος επιδημολογικής επιδημίας.

Λέξεις κλειδιά: RSV, παιδιά, λοίμωξη του αναπνευστικού

Εισαγωγή

Οι ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού παρουσιάζουν εποχιακή κατανομή, κυρίως τους χειμερινούς μήνες σε περιοχές με εύκρατο κλίμα, όπως η χώρα μας. Τα κύρια αίτια σε βρέφη και παιδιά είναι ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV), οι ιοί της παραγρίπης (PIV), οι ιοί της γρίπης (ΙΑ, ΙΒ), οι αδενοϊοί, οι εντεροϊοί, οι ρινοϊοί και κοροναϊοί.¹

Ο RSV ευθύνεται για τις μισές σχεδόν περιπτώσεις οξείας αναπνευστικής νόσου σε παιδιά κάτω των 2 ετών, οι οποίες εισάγονται στο Νοσοκομείο. Τα παιδιά αυτά εισάγονται στο Νοσοκομείο για την αντιμετώπιση βρογχολίτιδας ή πνευμονίας, οι οποίες εκδηλώνονται με βήχα, μειωμένη πρόσληψη τροφής, λήθαργο, υποξαιμία, αναπνευστική δυσχέρεια με ταχύπνοια ή άπνοια. Ο ιός αποβάλλεται από το ανώτερο αναπνευστικό από τις πρώτες μέρες μέχρι και τρεις εβδομάδες μετά από την έναρξη των συμπτωμάτων, οπότε και ανιχνεύεται στο Εργαστήριο. Ο χρόνος αποβολής του ιού μπορεί να παραταθεί σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς. Η μετάδοση του ιού γίνεται εύκολα με εισπνοή σταγονιδίων ή και έμμεσα από μολυσμένα με εκκρίσεις χέρια ή αντικείμενα.^{2,3} Λόγω της υψηλής μεταδοτικότητας του ιού παρατηρούνται συχνά νοσοκομειακές λοιμώξεις στις Παιδιατρικές Κλινικές. Ο κίνδυνος νοσοκομειακής λοίμωξης από

RSV σχετίζεται με το χρόνο νοσηλείας του ασθενή. Όσο παρατείνεται η νοσηλεία του ασθενή αυξάνει ο κίνδυνος νοσοκομειακής λοίμωξης. Στη μετάδοση του ιού από ασθενή σε ασθενή σημαντικό ρόλο μπορεί να έχουν το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό, στην περίπτωση που δεν τηρούνται τα απαραίτητα μέτρα προστασίας (πλύσιμο χεριών, χρήση γαντιών κα).⁴

Η σημασία της γρήγορης και αξιόπιστης απάντησης από το Εργαστήριο είναι μεγάλη, αν λάβουμε υπόψιν μας ότι έτσι διευκολύνεται ο κλινικός ιατρός στην άμεση και αποτελεσματική αντιμετώπιση του ασθενή.⁵ Δεδομένου ότι υπάρχει κίνδυνος σοβαρής νόσου με μοιραία κατάληξη σε ασθενείς ανοσοκατεσταλμένους, ασθενείς με συγγενή καρδιοαγγειοπάθεια, χρόνια πνευμονική, νευρολογική ή μεταβολική νόσο, όπως επίσης και σε πρόωρα, η γνώση της παρουσίας του ιού, με τη βοήθεια του Εργαστηρίου, επιτρέπει τη λήψη των κατάλληλων μέτρων απομόνωσης ή προστασίας των ασθενών αυτών, ώστε να αποφευχθεί η διασπορά του RSV.⁶

Η εργαστηριακή διάγνωση του RSV μπορεί να γίνει με την απομόνωση του ιού σε καλλιέργειες κυττάρων (HeLa, Hep-2), με την ανίχνευση του αντιγόνου σε ρινοφαρυγγικά εκπλύματα ή επιχρίσματα, με την ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων στον ορό του ασθενή (CF, IFA, EIA) και με μοριακές μεθόδους (RT-PCR). Η

ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Παρουσίαση των αποτελεσμάτων της άμεσης ανίχνευσης αναπνευστικών ιών κατά το έτος 2007

	Ανοσοχρωματογραφία (Binax)	Άμεσος ανοσοφθορισμός (Sanofi-Pasteur)	Έμμεσος ανοσοφθορισμός (Biotrin)	%
RSV	244	47		36,4
Adeno			20	2,5
Influenza A			71	8,9
Influenza B			15	1,9
PIV1			2	0,25
PIV2			0	0
PIV3			17	2,13

ανίχνευση του αντιγόνου μπορεί να γίνει με διάφορες τεχνικές όπως ο ανοσοφθορισμός (FA), η EIA είτε με την κλασσική της μορφή είτε σαν Elisa μεμβράνης και η ανοσοχρωματογραφία. Ο ανοσοφθορισμός θεωρείται σήμερα ως η μέθοδος αναφοράς για την διάγνωση του RSV, αν και σε πολλά Εργαστήρια σταδιακά αντικαθίσταται από τις νεότερες ταχείες τεχνικές, όπως η EIA μεμβράνης, αναλυτής VIDAS ανοσοχρωματογραφία.⁸

Στην παρούσα μελέτη παρουσιάζονται τα στοιχεία από την εργαστηριακή διάγνωση ιογενούς λοίμωξης του αναπνευστικού σε νοσηλευόμενα παιδιά για το έτος 2007.

Υλικό - Μέθοδοι

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε παιδιά τα οποία νοσηλεύτηκαν στο Νοσοκομείο Παιδών "Π & Α Κυριακού" με λοίμωξη του κατώτερου αναπνευστικού (βρογχιολίτιδα ή πνευμονία), το έτος 2007. Συνολικά ελέγχθησαν 799 παιδιά (479 αγόρια και 320 κορίτσια), στα οποία ελήφθη ρινοφαρυγγικό έκπλυμα, για την άμεση ανίχνευση του αντιγόνου των αναπνευστικών ιών (RSV, αδενοϊοί, γρίπη A και B, παραγρίπη 1,2 και 3). Η ανίχνευση έγινε με ανοσοχρωματογραφία (RSV – Binax) ή έμμεσο ανοσοφθορισμό (Pasteur) για τον RSV και με έμμεσο ανοσοφθορισμό για τους άλλους αναπνευστικούς ιούς (Biotrin).

Την χειμερινή περίοδο της επιδημικής έξαρσης του RSV, τα δείγματα ελέγχονται με τη μέθοδο της ανοσοχρωματογραφίας. Η ταχεία τεχνική Now RSV (Binax) είναι μία ανοσοχρωματογραφική δοκιμασία για την ποιοτική ανίχνευση της πρωτεΐνης τήξης του RSV (fusion protein). Το δείγμα τοποθετείται με την πιπέτα μεταφοράς στο ειδικό παράθυρο της συσκευής. Η συσκευή αποτελείται από μεμβράνη νιτροκυτταρίνης με ειδικό αντι-RSV Ab στη γραμμή του δείγματος και control Ab στη γραμμή ελέγχου. Τα Abs είναι συνδεδεμένα με οπτικοποιημένα σωματίδια, τα οποία βρίσκονται σε ξηρά φάση σε εσωτερικό ινώδες υποστήριγμα. Ακολουθεί κλείσιμο της συσκευής

και ανάγνωση του αποτελέσματος σε 15 λεπτά. Τα αρνητικά δείγματα προετοιμάζονται στη συνέχεια για έλεγχο με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού. Η προετοιμασία αυτή περιλαμβάνει διαδοχικές πλύσεις με διάλυμα φωσφορικών (PBS), μέχρι να απομακρυνθεί η βλέννη. Στη συνέχεια το δείγμα τοποθετείται στην αντίστοιχη οπή σε δύο ειδικές πλάκες και μονιμοποιείται σε διάλυμα ακετόνης στην κοινή ψύξη.

Ακολουθώντας η μία πλάκα επώαζεται με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του RSV συνδεδεμένου με φλουορεσκεΐνη (άμεσος ανοσοφθορισμός, Sanofi-Pasteur) στους 37° C για 30 min. Μετά το πέρας της επώασης η πλάκα πλένεται με διάλυμα φωσφορικών για 5 min, ξεπλένεται με απεσταγμένο νερό και μικροσκοπείται.

Η δεύτερη πλάκα επώαζεται με δεξαμενή αντισωμάτων έναντι όλων των αναπνευστικών ιών (RSV, IA, IB, PIV 1, 2, 3 και αδενοϊών) στους 37° C για 30 min και αφού ξεπλυθεί με διάλυμα φωσφορικών, ακολουθεί δεύτερη επώαση με αντι-αντίσωμα ποντικού συνδεδεμένου με φλουορεσκεΐνη στους 37° C για 30 min (έμμεσος ανοσοφθορισμός, Biotrin). Μετά πλύσιμο με διάλυμα φωσφορικών και ξέπλυμα με απεσταγμένο νερό είναι έτοιμη για μικροσκόπηση.

Αν το δείγμα βρεθεί θετικό μόνο στην δεξαμενή των αναπνευστικών ιών, ακολουθεί στρώσιμο του δείγματος σε νέα πλάκα και εν συνεχεία η διαδικασία της χρώσης με μονοκλωνικά αντισώματα ποντικού έναντι του κάθε ιού χωριστά σε πρώτη φάση (IA, IB, PIV 1, 2, 3 και αδενοϊών) και σε δεύτερο στάδιο επώαση με αντι-αντίσωμα συνδεδεμένο με φλουορεσκεΐνη (έμμεσος ανοσοφθορισμός, Biotrin).

Ανάγνωση ειδικού ενδοκυττάριου φθορισμού σε δύο τουλάχιστον κύτταρα κατά τη μικροσκόπηση (παρουσία ιικού αντιγόνου) χαρακτηρίζει το δείγμα ως θετικό. Ο φθορισμός για τον RSV και τους ιούς της παραγρίπης είναι κυτταροπλασματικός, για την γρίπη A και B πυρηνικός και για τους αδενοϊούς κυτταροπλασματικός και πυρηνικός.

Αποτελέσματα

Ιογενής παράγων ανιχνεύθηκε σε 416 από τα 799 παιδιά που μελετήθηκαν (ποσοστό 52,05%). Σε 291 παιδιά (36,4%) η αιτία της λοίμωξης του αναπνευστικού ήταν ο RSV και στα 125 (15,6%) κάποιος από τους άλλους αναπνευστικούς ιούς (IA, IB, PIV 1, PIV3, αδενοϊοί) που ελέγχθηκαν. Από τα 291 θετικά δείγματα για RSV τα 244 ήταν θετικά με τη μέθοδο της ανοσοχρωματογραφίας και τα 47 με τη μέθοδο του άμεσου ανοσοφθορισμού (Πίνακας 1).

Ποσοστό 95% (277 παιδιά) των RSV θετικών δειγμάτων αφορούσε παιδιά ηλικίας κάτω του έτους.

Τα ποσοστά ανίχνευσης του RSV είναι ψηλότερα κατά την χειμερινή περίοδο του έτους (1^ο τρίμηνο του έτους). Παρατηρήθηκε ότι το ποσοστό ανίχνευσης του RSV την χειμερινή περίοδο φθάνει το 50%, ενώ το υπόλοιπο διάστημα του έτους πέφτει στο 25%.

Συζήτηση

Ο RSV προκαλεί επιδημίες κάθε χρόνο από το τέλος του φθινοπώρου μέχρι τα μέσα της άνοιξης. Οι εποχικές επιδημίες του ιού σχετίζονται με αύξηση του αριθμού των εισαγωγών στις Παιδιατρικές Κλινικές των Νοσοκομείων. Αν και οι νοσοκομειακές λοιμώξεις του αναπνευστικού από ιούς δε σχετίζονται με αυξημένη θνητότητα, κάποιοι ασθενείς με σοβαρή υποκείμενη νόσο (ανοσοκαταστολή, προωρότητα, συγγενή καρδιοπάθεια κ.α.) μπορεί να κινδυνεύουν. Η επίπτωση RSV λοίμωξης στο νοσοκομειακό προσωπικό κατά τους μήνες των επιδημιών φθάνει σε ποσοστό 50%. Η τήρηση των μέτρων πρόληψης για την διασπορά του ιού, όπως πλύσιμο χεριών, χρήση γαντιών, μάσκας και απομόνωση των ασθενών με σοβαρή νόσο μειώνει σημαντικά τη νοσοκομειακή λοίμωξη από RSV στους ασθενείς.⁹

Η αιτιολογική διάγνωση από το Εργαστήριο σε σύντομο χρονικό διάστημα βοηθά στο να αποφασισθεί η κατάλληλη αγωγή και η απομόνωση του ασθενή. Έτσι μειώνεται ο χρόνος παραμονής του ασθενή και ο κίνδυνος διασποράς του ιού σε άλλους ασθενείς. Οι διαθέσιμες μέθοδοι για την εργαστηριακή διάγνωση της RSV λοίμωξης είναι η απομόνωση του ιού, η ανίχνευση του αντιγόνου του ιού σε αναπνευστικές εκκρίσεις, η ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων στον ορό και οι μοριακές μέθοδοι.

Τα ρινικά και ρινοφαρυγγικά εκπλύματα και αναρροφήματα είναι το υλικό εκλογής και θεωρούνται καλύτερα από τα ρινικά και ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα για την ανίχνευση των αναπνευστικών ιών.¹⁰ Η άμεση ανίχνευση του αντιγόνου του ιού επιτρέπει τη διάγνωση μέσα σε λίγες ώρες. Πολλά Εργαστήρια χρησιμοποιούν τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού, η οποία χαρακτηρίζεται από ευαισθησία 80-100% και ειδικότητα > 90%, συγκριτικά με την κυτταροκαλλιέργεια. Πλην όμως, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την εμπειρία του προσωπικού και την καταλληλότητα του δείγματος. Η ΕΙΑ στην κλασική της μορφή, και οι νεώτερες και ταχύτερες τεχνικές, ΕΙΑ μεμβράνης και ανοσοχρωματογραφία, αποτελούν μεθόδους ρουτίνας σε πολλά Εργαστήρια, αν

και υπολείπονται σε ευαισθησία συγκριτικά με τον ανοσοφθορισμό.

Στο δικό μας Εργαστήριο, όπου ετησίως ελέγχονται για αναπνευστικούς ιούς και κυρίως RSV, περίπου 800 δείγματα, χρησιμοποιούμε ως δοκιμασία διαλογής μία ταχεία τεχνική (ανοσοχρωματογραφία της εταιρείας Binox)¹¹ και τα αρνητικά δείγματα ελέγχονται στη συνέχεια με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού, οπότε μπορούμε να ελέγξουμε και τους άλλους αναπνευστικούς ιούς, χρησιμοποιώντας τα κατάλληλα φθορίζοντα αντισώματα.

Από την καταγραφή των λοιμώξεων του αναπνευστικού σε νοσηλεύόμενα παιδιά τους χειμερινούς μήνες του έτους 2007, φαίνεται ότι ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός αποτελεί το κύριο αίτιο αναπνευστικής λοίμωξης σε ποσοστό που φθάνει το 50% τη χειμερινή περίοδο, οπότε και παρατηρείται επιδημική έξαρση του ιού σε περιοχές με εύκρατο κλίμα όπως η Ελλάδα. Όλες σχεδόν οι RSV θετικές λοιμώξεις αφορούν παιδιά ηλικίας κάτω του έτους (95%). Τα ποσοστά ανίχνευσης των άλλων αναπνευστικών ιών (γρίππη, παραγρίππη, αδενοϊοί) είναι χαμηλά, 15,6% επί του συνόλου των λοιμώξεων του αναπνευστικού. Συχνότερα απομονώνονται οι ιοί της γρίππης, ακολουθεί ο PIV 3 και οι αδενοϊοί.

Συνεπώς η άμεση αναζήτησή τους σε ρινοφαρυγγικά εκπλύματα, η οποία γίνεται εύκολα και γρήγορα από το Εργαστήριο, βοηθά σημαντικά τον κλινικό ιατρό στη σωστή και έγκαιρη αντιμετώπισή τους, αποφεύγοντας την αλόγιστη χρήση αντιμικροβιακών φαρμάκων με τις γνωστές επιπτώσεις.

Η έγκαιρη διάγνωση από το Εργαστήριο και η λήψη των απαραίτητων μέτρων προστασίας από τις κλινικές και τις μονάδες - πλύσιμο χεριών και χρήση γαντιών από το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό και απομόνωση ασθενών - εμποδίζουν την διασπορά του ιού και έτσι αποφεύγεται ο κίνδυνος ενδο νοσοκομειακής λοίμωξης.

ABSTRACT

Objective: Respiratory syncytial virus (RSV) is the most common cause of lower respiratory infection in children. Many children require hospitalization, especially those at high risk (prematurity, chronic lung disease). Nosocomial RSV infection can occur if hospital's personnel don't keep the required control measures.

In our study, we present the prevalence of RSV and other respiratory viruses in hospitalized children, during 2007.

Methods: The study included 799 children, admitted to our hospital with lower respiratory tract infection. Nasopharyngeal washes were taken for viral identification (RSV, Adenovirus, Influenza A and B, Parainfluenza 1, 2 and 3). Direct immunofluorescence (Pasteur) or chromatography (RSV – Binox) were used for RSV detection and indirect immunofluorescence for the other respiratory viruses (Biotrin).

Results: A respiratory virus was found in 416 children (52,05%). RSV was identified in 291 children

(36,4%). During RSV outbreak season (January to March) RSV detected in 50% of children. Most of the RSV infected children were under 1 year of age (95%). Clinicians were informed the same day for RSV and influenza results, during the outbreak season.

Conclusions: RSV was the most often isolated respiratory virus in young children with serious respiratory infection. Rapid detection from the Laboratory and infection control measures prevent virus spread and nosocomial outbreak.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. J. Nokso-Koivisto, A. Pitkaranta, S. Blomqvist, J. Jokinen, M. Kleemola, A. Takala, T. Kilpi, and T. Hovi. 2002 Viral etiology of frequently recurring respiratory tract infections in children. *Clin Infect Dis*; 35:540-6
2. Welliver RC. 1988 Detection, pathogenesis, and therapy of respiratory syncytial virus infections. *Clin Microbiol Rev.*, 1: 27-39
3. Banning M. 2006 Respiratory syncytial virus: disease, development and treatment. *Br J Nurs*. Jul 27-Aug 9; 15(14):751-5.
4. Simon A, Khurana K, Wilkesmann A, Möller A, Engelhart S, Exner M, Schildgen O, Eis-Hóbingen AM, Groothuis JR, Bode U. 2006 Nosocomial respiratory syncytial virus infection: impact of prospective surveillance and targeted infection control. *Int J Hyg Environ Health*. Jul; 209(4): 317-24. Epub 2006 May 11.
5. Barenfanger J, Drake C, Leon N, Mueller T, Trout T. 2000 Clinical and financial benefits of rapid detection of respiratory viruses: an outcomes study. *J Clin Microbiol*. 38(8): 2824-8
6. Thorburn K, Kerr S, Taylor N, van Saene HK. 2004 RSV outbreak in a paediatric intensive care unit. *J Hosp Infect*. Jul; 57(3):194-201.
7. Miller H, Milk R, and Diaz-Mitoma F. 1993 Comparison of the VIDAS RSV assay and the Abbott TestPack RSV with direct immunofluorescence for detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates. *J Clin Microbiol*. 31: 1336-1338
8. Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J, Huang ML, Cent A, Corey L, Morrow R. 2006 Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody assays for diagnosis of respiratory virus infections in children. *J Clin Microbiol*. Jul; 44(7):2382-8.
9. Iwane MK, Edwards KM, Szilagyi PG, Walker FJ, Griffin MR, Weinberg GA, Coulen C, Poehling KA, Shone LP, Balter S, Hall CB, Erdman DD, Wooten K, Schwartz B; New Vaccine Surveillance Network. 2004 Population-based surveillance for hospitalizations associated with respiratory syncytial virus, influenza virus, and parainfluenza viruses among young children. *Pediatrics*. Jun; 113(6):1758-64.
10. Ahluwalia G, Embree J, McNicol P, Law B, and Hammond GW. 1987 Comparison of nasopharyngeal aspirate and nasopharyngeal swab specimens for respiratory syncytial virus diagnosis by cell culture, indirect immunofluorescence assay, and enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol*. 25: 763-767
11. Cruz AT, Cazacu AC, Greer JM, Demmler GJ. 2007 Performance of a rapid assay (Binax NOW) for detection of respiratory syncytial virus at a children's hospital over a 3-year period. *J Clin Microbiol*. Jun; 45(6):1993-5. Epub Apr



Medical Annals