

نادر نوری، کارشناس علوم آزمایشگاهی و کارشناس ارشد سم شناسی بالینی، شبکه بهداشت و درمان مغان (گرمی)، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
 محسن حیدر اوغلی، کارشناس بهداشت محیط و کارشناس ارشد منابع طبیعی - آلودگی های محیط زیست، شبکه بهداشت و درمان مشگین شهر، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
 عبدالرضا اسکندر خیابی، کارشناس بهداشت محیط و کارشناس ارشد منابع طبیعی - آلودگی های محیط زیست، شبکه بهداشت و درمان مشگین شهر، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

گذری بر اپیدمیولوژی و تشخیص آزمایشگاهی ویروس چیکن گونیا

ویروس چیکن گونیا (Chikungunya virus=CHIKV)

یک آلفاویروس منتقل شونده از راه پشه و متعلق به خانواده توگاویریده است و عامل ایجاد یک بیماری تب دار است که با درد شدید مفصلی و راش پوستی همراه است. این ویروس اولین بار به وسیله Ross در سال ۱۹۵۳ از سرم یک انسان مبتلا به تب در طول یک بیماری همه گیر در منطقه Newala در کشور تانزانیا جدا شد. Chikungunya در گویش ساکنین تانزانیا و موزامبیک که به زبان Bantu تکلم می کنند، به معنی خم یا تا شده است و اشاره به وضعیت بیماری دارد که در اثر درد شدید مفاصل به حالت خمیده درآمده است. پس از انتقال، ویروس در پوست تکثیر شده و از راه خون به سرعت در کبد، عضله، مفاصل، بافت های لنفاوی و مغز منتشر می شود.

تشخیص آزمایشگاهی بیماری متکی به تشخیص ویروس در نمونه های اولیه و یا آنتی بادی های اختصاصی ویروس چیکن گونیا IgM و IgG است. برای تشخیص، مراقبت، جداسازی و تعیین ژنوتیپ ویروس، از آزمایش RT-PCR استفاده می کنند.

مشخصات کلی ویروس چیکونگونیا

Chikungunya virus یک ویروس کوچک کروی دارای قطر حدود ۶۰ تا ۷۰ نانومتر، پوشش دار و دارای RNA رشته ای مثبت است. ژنوم آن در حدود ۱۲ کیلوبایت طول دارد و در انتهای ۵ ژنوم دارای یک کلاهک و در انتهای ۳ دارای یک دم پلی A است. ساختمان ژنوم دارای دو قاب خواندن باز (ORF) بوده که دارای رمز برای دو پلی پپتید ساختاری و غیرساختاری بوده که به ترتیب به ۴ پروتئین غیرساختاری nsP1، nsP2، nsP3 و nsP4 و ۵ پروتئین ساختاری E1، E2، E3 و C از راه ویروس و پروتئین های سلولی شکسته می شود.

مکانیسم پاتوژنز ویروس

Chikungunya virus به وسیله پشه های کولیسینه منتقل می شود و می تواند به گونه متناوب بین مهره داران و بندپایان

در جریان باشد. بندپایان در تمام مدت زندگی آلوده باقی می مانند. انتقال ویروس به انسان بیشتر از راه پشه های گونه Aedes است. پس از انتقال، ویروس در پوست تکثیر شده و از راه خون به کبد، عضله، مفاصل، بافت های لنفاوی و مغز منتشر می گردد. ویروس چیکن گونیا به سرعت در بدن پخش شده و سپس عفونت شروع می شود. پس از تزریق ویروس با گزش پشه ها، ویروس مستقیم وارد مویرگ های زیر جلدی شده و تعدادی هم در سلول های خاصی از پوست از جمله ماکروفاژها، فیبروبلاست ها و سلول های اندوتلیال ایجاد عفونت می کنند. به نظر می رسد تکثیر عفونت ویروسی به گونه موضعی محدود به همان محل بوده و می تواند به اندام های لنفاوی ثانویه نزدیک به محل تلقیح انتقال پیدا می کند. انتشار ویروس به گونه کامل همراه با رویدادهای پاتولوژیکی است. آرتریت واقعی به گونه یک رخداد نادر باقی می ماند (از ۲ تا ۱۰ درصد). رویدادهای پاتولوژیکی همراه با عفونت بافتی است که بیشتر در ارگان های لنفاوی تحت حاد است، در حالی که در عضلات و مفاصل همراه با دوره های طولانی و در تعدادی از بیماران با آرتریت های پیش رونده همراه است.

نشانه های بیماری ناشی از ویروس چیکن گونیا

نشانه ها شامل تب شدید، لرز، سردرد، ترس از نور و بشورات جلدی یا راش های ماکولوپاپولر است. به علاوه افراد آلوده تر، بیشتر از درد شدید مفاصل شکایت دارند که اغلب ناتوان کننده و با لنفادنوپاتی اینگوینال دردناک هم گزارش شده است. مرحله عفونت حاد ناشی از CHIKV بیشتر طولانی بوده و از چند روز تا دو هفته است؛ با این حال درد مفاصل و یا درد عضلانی برای هفته ها یا ماه ها

تشخیص آزمایشگاهی

۱- روش های سرولوژیکی

تشخیص آزمایشگاهی متکی به تشخیص ویروس در نمونه های اولیه و یا آنتی بادی های اختصاصی ویروس چیکن گونیا شامل IgM و IgG است. آنتی بادی این ویروس در بیماران بعد از مدت کوتاهی از بروز نشانه ها تشخیص داده می شود معمولاً برای IgM پنج روز بعد از بروز نشانه ها و برای IgG نیز چند روز بعد کافی است. آنزیم های تجاری ایمونواسی و ارزیابی های ایمنوفلورسانس هم در دسترسند.

چالش های احتمالی در تفسیر سرولوژی نتایج:

- ۱- احتمال منفی کاذب به دلیل اختلاط کرایوگلوبولینمی ویروس CHIKV
 - ۲- واکنش متقاطع با ویروس های مشابه کمپلکس که در جنگل ها است.
 - ۳- دوام طولانی مدت آنتی بادی IgM ویروس پس از شروع بیماری برای ماه ها.
- اکثر مواقع برای نشان دادن عفونت جدید CHIKV، کافی است که همزمان یک نمونه از مرحله حاد و نمونه های جمع آوری شده حداقل ۳ هفته بعد از بیماری را بررسی نمایند.

۲- روش های مولکولی

۱-۲- RT-PCR (Real-time reverse transcription-PCR):
برای تشخیص، مراقبت، جداسازی و تعیین ژنوتیپ ویروس از آزمایش معمولی RT-PCR استفاده می کنند. برای تشخیص RNA ویروس، می توان آن را در نمونه های پلاسمای خون در سطح بسیار بالایی از هفته اول پس از شروع نشانه ها که معمولاً ویروس در خون وجود دارد، تشخیص داد. از نظر کمیت زمانی واقعی RT-PCR و کیفیت ویروس نیز پیشرفت هایی گونه گرفته است. این روش هم حساس و هم اختصاصی بوده و برای تشخیص طیف وسیعی از غلظت های مختلف ویروس استفاده می شود. به علاوه این روش می تواند در مناطقی که ناقل ویروس Aedes albopictus و Aedes aegypti است در زمینه مراقبت ویروس کمک کننده باشد.

۲-۲- qRT-PCR: positive- and negative strand quanti-

tative Real-Time Polymerase Chain Reaction

و یا حتی سال ها باقی می ماند. در برخی از بیماران حالت پیشرفته اتفاق افتاده و به سندرم و درد مفاصل مزمن تبدیل می شود. به طور معمول در طول مدت بیماری، مفاصل آسیب می بینند اما همیشه قسمت هایی از بدن را تحت تاثیر قرار می دهد که اغلب اندام ها از جمله دست ها، مچ پاها و پنجه ها هستند. میزان مرگ و میر پایین است (۰/۴ درصد) اما در کودکان کمتر از یک سال بالا است (۲/۸٪) و در افراد سالمند مبتلا با بیماری های مزمن همراه است.

اپیدمیولوژی انتشار ویروس چیکن گونیا

تب چیکن گونیا اولین بار در سال ۱۹۵۲ از فلات Makonde در امتداد مرزهای بین تانزانیا و موزامبیک گزارش شد و ویروس اولین بار به وسیله Ross در سال ۱۹۵۳ از سرم یک انسان مبتلا به تب در طول یک بیماری همه گیر در منطقه Newala تانزانیا جدا شد. منشأ این ویروس احتمالاً از آفریقا است که سیکل وحشی آن باعث حفظ ویروس در بین میمون های وحشی و پشه های جنگلی است. پس از تانزانیا، ویروس چیکن گونیا باعث اپیدمی بین سال های ۱۹۶۰ تا ۱۹۹۰ در شرق آفریقا (اوگاندا و زیمبابوه)، در غرب آفریقا (سنگال) و در مرکز آفریقا (جمهوری مرکزی آفریقا، جمهوری دموکراتیک کنگو و کامرون) شد. این ویروس همچنین از پرتغال و گینه فیلیپین، مالزی، مایوت و جزایر Reunion از آسیا گزارش شد. اولین مدرک مربوط به اپیدمی در آسیا در سال ۱۹۵۸ گزارش شد. طغیان در آفریقا و آسیا غیر قابل پیش بینی بود که با فاصله ۷ الی ۲۰ سال بین دو اپیدمی متوالی دیده می شود. در هند تاریخچه طولانی وقوع اپیدمی در سال ۱۹۶۲-۱۹۶۳ در کلکته و در سال ۱۹۶۵ در چین تأیید شد. از میان شهرهای بزرگ متعدد در آسیای جنوب شرقی، بانکوک به عنوان یک محل فعال از نظر انتقال بیماری شناخته شده است. شیوع بیماری در کامبوج، ویتنام، التوس و میانمار هم به گونه مستند گزارش شده است. در سال ۲۰۰۴ یک اپیدمی بزرگ از این ویروس به گونه متداول و به گونه چرخشی بین شرق، مرکز و جنوب آفریقا اتفاق افتاد که شروع آن از ساحل کنیا بوده است و به دنبال آن در سال ۲۰۰۵ طغیان های بعدی در کومور، La Reunion و جزایر دیگر در جنوب غربی اقیانوس هند رسید. در جزیره Reunion به تنهایی تعداد ۲۲۶۰۰۰ مورد (۲۴٪ مجموعه کل جمعیت جزیره) از موارد بیماری اتفاق افتاد.

درمان بیماری ناشی از ویروس چیکن گونیا

درمان اختصاصی برای CHIKV وجود ندارد و واکسنی تابحال در دسترس نیست. این بیماری معمولاً "خود محدود شونده بوده و به مرور زمان بهبود می یابد. استراحت مطلق می تواند در کاهش نشانگان درد مفاصل کمک کننده باشد. افراد آلوده باید از گزش پشه ها محافظت شوند، تا از چرخه انتقال بیماری پیشگیری شود.

راه های پیشگیری از بیماری و کنترل آن

اقدامات احتمالی کنترل ناقلین، شامل استفاده از حشره کش های سریع الاثر (پایروتریئیدها) برای ۳ روز پشت سر هم باشد که با به کارگیری سمپاش های بزرگ روی کامیون و یا سمپاش های پستی برای مناطق کوچک میسر است. اقدامات بر علیه لارو پشه ها هم شامل استفاده از فرمولاسیون ممانعت کننده از رشد حشرات است. مراقبت منزل به منزل برای مکان های رشد پشه ها و تشویق مردم به مشارکت هم مفید است. مراقبت کافی و مناسب از بیماران در مرحله عفونت حاد این ویروس برای بهداشت عمومی در مناطق توسعه یافته با وجود گونه های فعال آئدس ضروری است. بیماران مشکوک را باید جدا کرده و سریع با مقامات و ادارات بهداشتی محل تماس گرفته شود و برای بیماران حتما پرونده تشکیل شود. هدف نهایی این است که از گسترش اپیدمی ها به مناطق جدید جلوگیری شود.

منابع:

1. Presti Alessandra Lo, Lai Alessia, Cella Eleonora, Zehender Gianguglielmo, Ciccozzi Massimo: Chikungunya virus, epidemiology, clinics and phylogenesis: A review. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine: 925-932: 2014.
2. Schuffenecker I, Itman I, Michault A, Murri S, Frangeul L, Vaney MC, et al. Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. PLoS Med 2006; 3: e263.
3. Ligon BL. Reemergence of an unusual disease: the chikungunya epidemic. Semin Pediatr Infect Dis 2006; 17: 99-104.
4. Robinson MC. An epidemic of virus disease in southern province, Tanganyika territory, in 1952-53. Trans R Soc Trop Med Hyg 1955; 49: 28-32.
5. Simizu B, Yamamoto K, Hashimoto K, Ogata T. Structural proteins of Chikungunya virus. J Virol 1984; 51: 254-258.
6. Powers AM, Brault AC, Shirako Y, Strauss EG, Kang W, Strauss JH, et al. Evolutionary relationships and systematics of the alphaviruses. J Virol 2001; 75(21): 10118-10131.
7. Volk SM, Chen R, Tsatsarkin KA, Adams AP, Garcia TI, Sall AA, et al. Genome-scale phylogenetic analyses of chikungunya virus reveal independent emergences of recent epidemics and various evolutionary rates. J Virol 2010; 84: 6497-6504.

یک روش جدید دیگر از RT-PCR به شکل واکنش های زنجیره ای پلیمراز رشته منفی و رشته مثبت تحت عنوان qRT-PCR در دسترس است که برای سنجش nsP3 ویروس استفاده می شود و برای تشخیص و مطالعه تکثیر ویروس طراحی شده است. این روش برای مقادیرهای محدودی از ۱-۱۰ کپی RNA کاربرد دارد. در مقایسه با روش E1 که در ۳۰ آزمایشگاه بالینی روی نمونه ها کار شده است. روش nsP3qRT-PCR دارای R2 بیشتر بوده و بهره وری بالایی داشته و نمونه های مثبت را بهتر شناسایی می کند.

۳-۲- روش SYBR Green I بر پایه RT-PCR

یکی از آزمایش هایی است که اخیراً توسعه یافته است. این روش دارای حساسیت ۱۰ برابر RT-PCR است و هیچ واکنش متقاطع را با آلفاویروس ها و فلاوی ویروس ها ایجاد نمی کند.

۴-۲- DANP- RT PCR

یک روش تشخیص مولکولی جدید بوده، که یک مرحله از روش RT-PCR است. این روش دارای اطمینان و سرعت بالا و مقرون به صرفه است که با حساسیت و ویژگی بالایی برای تشخیص زود هنگام ویروس چیکن گونیا توسعه پیدا کرده است. این روش مشتق از DANP (2,7-diamino-1,8-naphthyridine) نشاندار شده با پرایمرهای سنجاق سری، سرشار از سیتوزین را برای تکثیر ناحیه nsP2 ژنوم ویروس چیکن گونیا مورد استفاده قرار می دهد که متعاقباً با اندازه گیری فلورسانس ساطع شده از پرایمر DANP بعد از چندین پروسه PCR همراه است. واحد اندازه گیری این روش تشخیصی CFU / reaction of CHIKV 0.01 است. مزیت این روش این است که می تواند به عنوان یک کاندید واقعی از پرایمر HP-nsP2 برای تشخیص خیلی اختصاصی CHIKV مورد استفاده قرارگیرد بدون اینکه واکنش متقاطع گونه گیرد. امکان انجام DANP- RT PCR برای تشخیص بالینی ارزیابی شده است. این روش جدید DANP-RTP CR با پتانسیل تشخیصی مولکولی برای ویروس چیکن گونیا باید بر روی نمونه سرم در فاز حاد بیماران هم مورد استفاده قرار می گیرد.