ترجمه از: کتاب واکسن پلاتگین
۱- هادی اسمعیلی گورچین قلعه، استادیار ایمنی شناسی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله
۲- شبنم بهرامی، دانشجو دکتری سلولی مولکولی

مروری بر ویروس ابولا

نامگذاری "ویروس ابولا" از روی نخستین جای شیوع یعنی دره ی رودخانه ایِ ابولا در سال ۱۹۹۷ می باشد، و فیلوویروس که با آن بسیار مرتبط است، یعنی ویروس ماربورگ، خانوده ای از پاتوژن ها را نشان می دهد که سبب تب هموراژیک با مرگ و میر بسیار می شود. درآغاز خطر بالقوه ی این ویروس ها با وقوع یک سری از شیوع های ویروس ابولا در دهه ی ۱۹۷۰ مورد توجه قرار گرفت. پس از یک وقفه در دهه ی ۱۹۸۰، این بیماری با شیوع بیشتری در میانه دهه ی ۱۹۹۰، با گمان سرایت نمونه از جانوری از نخستی سانان غیر انسان (NHPها) به انسان ها در آفریقای استوایی دوباره هویدا شد. در دهه گذشته شیوع های ویروس ابولا در بازه های منظم، تقریبا سالی یک بار و معمولا در طی آخرین بخش سال رخ داده و متمرکز در همان مناطق آفریقای مرکزی بود. با این حال در سال ۲۰۱۴ شیوع بی سابقه ای از نظر مقیاس و مرگ و میر در گینه (آفریقای غربی) آغاز شد؛ منطقه ای که در آن ویروس ابولا قبلا دارای تاثیر اندکی بود. این شیوع از گینه به چند کشور گسترش یافت که نیازمند پاسخی بین المللی برای تحت کنترل درآوردن گسترش بیماری بود. جدیدترین شیوع بیماری تهدید جدّی سلامت عمومی را برجسته می سازد، که انتقال طبیعی ویروس ابولا پشت پرده ی کاربرد بالقوه ی آن را تحت عنوان عامل بیوترور نشان می دهد. به دلیل پاتوژنز غیر معمول ویروس ابولا و نگرانی در مورد انتشار آن به مردم ، چه از راه طبیعی یا به راه های عمدی، شناخت و درک عفونت زایی ویروس ابولا، پاتوژنز مولکولی ، انتقال و نیز ساخت و توسعه ی واکسن ها و درمان تبدیل به اولویت های بالایی شده اند.

پیش زمینه: توصیف بالینی

تظاهرات بالینی اولیه ی ویروس ابولا ۲ تا ۲۱ روز پس از عفونت (به طور متوسط ۸ تا ۱۰ روز) با علائم شبیه آنفلونزا مانند تب، خستگی و درد عضله آغاز می شود. در طی چند روز ناهنجاری های مرتبط با عملکرد کبد و حالت تهوع، درد شکم، جوش، لکه ی خون مردگی، اسهال و استفراغ ظاهر می شوند. با پیشرفت بیماری علاوه بر ابتلای گاه به گاه اختلالات تنفسی، دستگاه گوارش درگیر می شود که منجر به علائم خونریزی از نواحی مخاطی مانند ملنا و هماتوشزی می شود. در مراحل پایانی معمولا در طی ۱ تا ۲ هفته پس از عفونت، پیشرفت در عفونت منتشر با پارامترهای غیر طبیعی لخته شدن، آسیب پارانشیم کبدی، خونریزی منتشر در نواحی مختلف درگیر و ملتحمه ی چشم و ناراحتی قلبی که منجر به شوک هیپوولومیک یا شوک سپتیک در صورت عدم عفونت اضافی باکتریایی می شود، وجود دارد. میزان مرگ و میر از ۳۶ ٪ تا ۹۰ ٪ در افراد مبتلا به عفونت قابل تشخیص متغیر است.

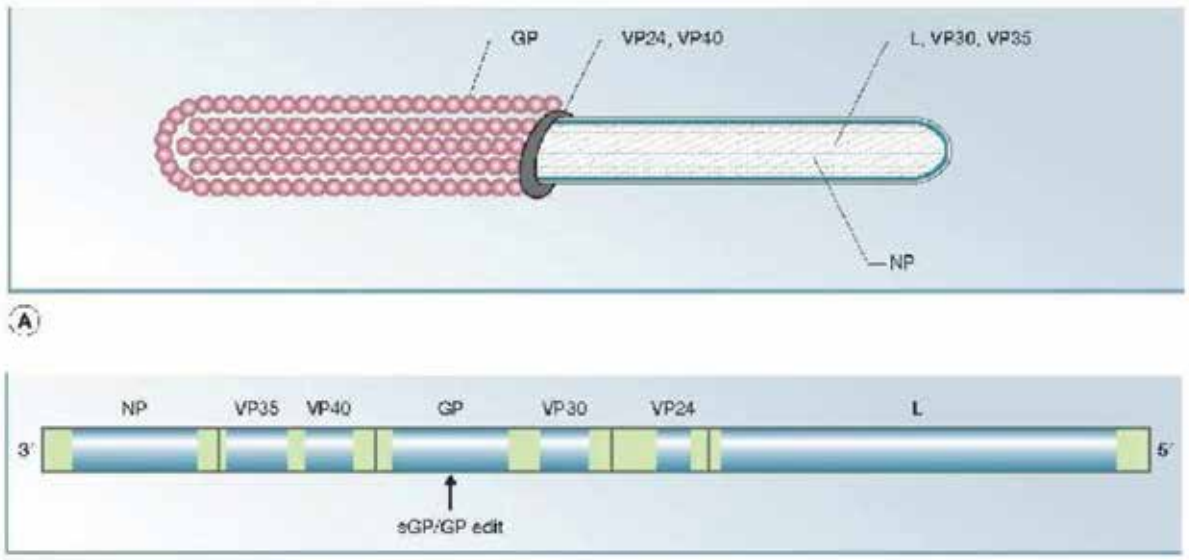
عوارض

عوارض بالینی عفونت ویروس ابولا از ماهیت سلول های هدف در طی چرخه ی زندگی ویروس ناشی می شود.

در اوایل عفونت، ویروس در سلول های رتیکولواندوتلیال، مونوسیت ها، ماکروفاژها و سلول های شبه دندریتیک تکثیر می شود. درگیری این نوع از سلول ها منجر به آزادسازی سایتوکین ها می شود، که می تواند به نشانه های اولیه ی عفونت از جمله تب بانجامد. با پیشرفت بیماری، آسیب بعدی به کبد و عروق منجر به افزایش نارسایی عروق خونی گشته و یک دیاتز خونریزی دهنده همراه با فشار خون پایین را پدید می آورد. ممکن است عفونت ویروس ابولای در غده ی آدرنال (در مراحل بعدی بیماری) نیز سبب کاهش فشار خون شود. ناتوانایی در پابش فشار خون در شرایط تب، خونریزی، اسهال و استفراغ فراوان و شوک، به ویژه در نارسایی در مراقبت های حفاظتی موثر، منجر به افزایش میزان مرگ و میر می شود. برخی از گزارش های موردی از شیوع سال ۲۰۱۴ نشان می دهد که ویزیت زود هنگام و احیای به دقت کنترل شده، نتیجه بخش بوده است.

ویروس شناسی اوبلا

ویروس ابولا و ویروس ماربورگ (MARV) که بسیار با آن پیوند دارد، اعضای خانواده ی فیلوویروس ها هستند، که به دلیل مورفولوژی فیلامنتوس ویریون ها به این نام خوانده شدند و به وسیله ی میکروسکوپ الکترونی این گونه به نظر می رسد که دارای قطر ثابت تقریبا ۸۰ نانومتر بوده، اما از نظر طول غیر یکنواخت هستند. یروس ابولا پنج گونه دارد: Zaire ebolavirus (Ebola virus/EBOV)، Sudan ebolavirus (Su-dan virus/SUDV)، Tai Forest ebolavirus که قبلا نامیده می شد، Reston ebolavirus (Reston virus/RESTV) و آخرین گونه Bundibugyo ebolavirus (Bundibugyo virus/BDBV) در سال ۲۰۰۷ کشف شد. از این گونه ها، RESTV تنها عضوی است که سبب هیچ کشندگی انسانی گزارش شده ای نشده است. ژنوم RNAی تک رشته ای-منفی 19-kb nonsegmented متعلق به ویروس ابولا شامل آرایه ای خطی از هفت ژن است که شش تای آن هر یک محصول پروتئینی واحدی را کدگذاری می کند. ژن هفتم دربردارنده ی دو چارچوب خوانش باز است: ترانس کریپت اصلی که گلیکوپروتئین (sGP) را ترشح کرد، یک دیمر ترشح شده است؛ در حالی که گلیکوپروتئین (GP) تریمریک تنها پس از افزودن یک آدنوزین بدون الگو به وسیله ی پلیمراز ویروسی سنتز می شود که تنها پروتئین سطح ویریون را به دست می دهد. چندین پروتئین سطح سلولی مانند فسفاتیدیل سرین که به پروتئین ها متصل می گردند، لکتین های نوع C، DC-SIGN و TIM-1 اتصال ذره ی ویروس ابولا را تسهیل می کنند. سپس ویریون ها به وسیله ی ماکروپینوسیتوز در درون محفظه های داخل سلولی جای می گیرند. کلیواژ کاتپسین GP در این محفظه های داخلی اسیدی شده در معرض یک گیرنده ی occluded binding site قرار می گیرد که اجازه ی اتصال GP را به انتقال دهنده ی کلسترول اندوزومال / لیزوزومال نیمن پیک C (NPC1)، گیرنده ی سلولی برای فیلوویروس ها می دهد. یک ساختار اشعه ی ایکس A ۳/۴ از تریمرGP که فاقد چندین ناحیه است، پس از کوکریستالیزاسیون با آنتی بادی خنثی کننده ی KZ52 که از یک بازمانده ی ویروس ابولا جدا شده است، حل شد. شناسایی چند ساختار بعدی و تصویرسازی مکان کلیواژ کاتپسین همراه با کار قبلی بر روی پردازش آنزیمی در طی ورود و شناسایی گیرنده ی سلولی به درک مولکولی بیشتری از GP کمک نموده است. در میان سایر پروتئین های ویروسی (VPها)، VP40/VP24 ماتریس داخلی را تشکیل می دهند؛ در حالی که نوکلئوپروتئین (NP)، VP30، VP35 و پلیمراز RNAی وابسته به RNA، L، مجموعه ی ریبونوکلئوپروتئین را تشکیل می دهند (تصویر ۱). ساختارهای فیلامنتوس شبه نوکلئوکپسید می توانند با بیان بیش از حد NP، VP24 و VP35 در غیاب دیگر پروتئین های ویروسی تشکیل شوند. یک سیستم پلیمراز-T7 مبتنی بر مینی رپلیکون نشان داد که دستگاه رپلیکاتوری مینیمال برای ویروس ابولا نیازمند فعالیت مشترک NP، VP30، VP35و L است؛ در حالی که VP40 و GP برای تشکیل ذرات شبه ویروسی کافی اند. ساختار دامنه ی پایانه ی کربوکسیل VP35ی ویروس ابولا که هم دارای اتصال اسید ریبونوکلئیک دو رشته ای خود (dsRNA) و هم دارای فعالیت مهار اینترفرون است، به وسیله ی کریستالوگرافی اشعه ی ایکس در رزولوشن اتمی مشخص شد. VP35 علاوه بر نقشش در تکثیر RNAی ویروسی و در جمع آوری ویریون، دارای نقش مهمی در عفونت زایی ویروس ابولا و جلوگیری از پاسخ های ایمنی



تصویر ۱-نمایی از مولفه های ویروس ابولا و سازمان ژنومیک آن. T، ساختار مدل ویروس ابولا. در میان پروتئین های ویریونی (VPها)، VP24 / VP40 و گلیکوپروتئین (GP) به ترتیب در ماتریس های غشایی و پاکت بیرونی وجود دارند؛ در حالی که نوکلئوپروتئین VP30، VP35 (NP) و پلیمراز RNAی وابسته به RNA، L، مجموعه ی ریبونوکلئوپروتئین را تشکیل می دهند. B، سازمان ژنومیک ویروس ابولا. ژنوم RNAی رشته-منفی ۱۹-kb nonsegmented حاوی آرایه ای خطی از چند ژن است. چارچوب خوانش باز (ORFها) با آبی نشان داده شده اند و پایگاه هیا غیرکدکننده در انتهای ژن، در genome leader (3′) و trailer (5′)، نواحی خاکستری اند. وجود دنباله ی اضافی نیز که تحت عنوان نواحی اینترژنیک شناخته می شود، در بین سیگنال های شروع و توقف ORFهای متوالی نیز نشان داده شده است (خطوط آبی پررنگ). هر ژن پروتئین واحدی را به جز ژن GP که شامل دو ORF است، کدگذاری می کند. ترانس کریپت اصلی ترشح شده (SGP) و ترانس کریپت فرعی، GP، تنها پس از افزودن یک آدنوزین بدون الگو به وسیله ی پلیمراز ویروسی سنتز می شود.

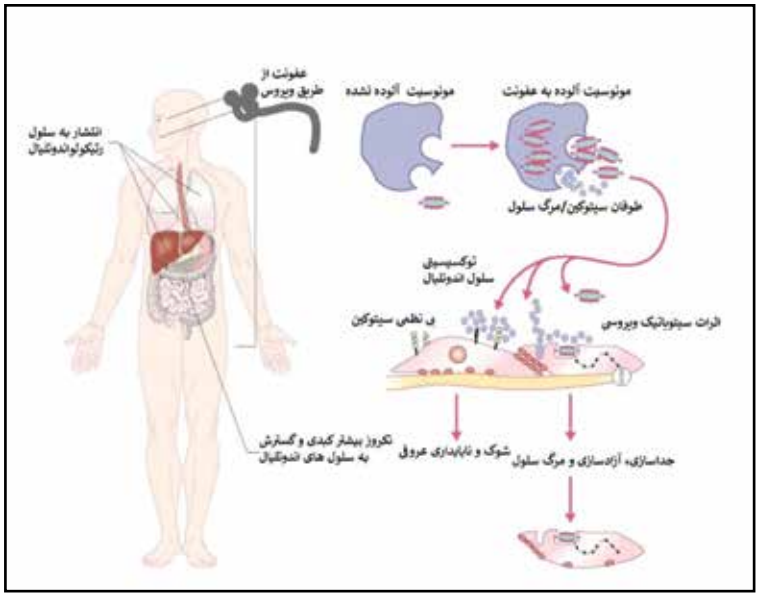
ذاتی میزبان است؛ مانند توقف پاسخ های اینترفرون نوع ۱، جلوگیری از تداخل RNA (RNAi) و اختلال عملکردهای سلول دندریتیک؛ عضو دیگر دستگاه رپلیکاتوریی یعنی VP30 نیز خاموشی سلول میزبان مربوط به ژن های ویروسی را از راه فعل و انفعال با مسیر RNAi متوقف می سازد.

پاتوژنز به صورتی که مرتبط با پیشگیری است

ویروس ابولا از راه خراش در پوست یا قرار گرفتن روی سطوح مخاطی، از راه تماس با خون یا مایعات بدن از یک فرد آلوده، وارد بدن می شود (تصویر ۲). تصور می شود که این ویروس به سرعت از این جاها، احتمالا با انتقال بر روی سلول های دندریتیک یا دیگر سلول هایی که DC-SIGN را حمل می کنند، یا لکتین های مرتبط که از راه تشخیص آنها از گلیکان ها بر روی GP به ویروس ابولا متصل می شوند، حرکت می کند. سلول های سیستم رتیکولواندوتلیال در کبد، ریه و طحال اهداف اولیه ی عفونت می باشند، که سپس به اندوتلیوم گسترش می یابد. در پیشگیری به واسطه ی ایمنی موثر، به احتمال زیاد تشخیص ویروسی باید در مدتی کوتاه پس از عفونت به وسیله ی سلول های سیستم ایمنی اکتسابی و ذاتی رخ دهد؛ زیرا هم پاسخ های هومورال و هم پاسخ های $CD8^+$ لنفوسیت T از بازماندگان ابولا تشخیص داده شده اند. مکانیزم کلیرانس ویروسی به طور کامل درک نشده است؛ اما به نظر می رسد که نیازمند پاسخ های ایمنی سلولی باشد.

تشخیص و پیشگیری

هنگامی که بیماری با فاکتورهای اپیدمیولوژیکی با ریسک بالا، علائم تب، بیماری شبه آنفلونزا، راش پتشی، اسهال، استفراغ، درد شکم و خونریزی غیر قابل توضیح را نشان می دهد، تشخیص بیماری ویروس ابولا (EVD) مطرح می شود. تشخیص قطعی با استفاده از آزمایش تشخیص واکنش معکوس پلیمراز ترانس کریپشن (RT-PCR) است. تایید تشخیصی بیشتر می تواند از راه اندازه گیری آنتی بادی های M ایمونوگلوبولین(Ig) نسبت به VPها و سنجش های تحقیقی مختلف تخصصی تر انجام شود. در شیوع اخیر در آفریقای غربی،



تصویر ۲-پاتوفیزیولوژی عفونت ویروس ابولا. A، تصور می شود که پس از عفونت اولیه از راه نواحی مخاطی یا از راه بریدگی یا خراش در پوست، ویروس ابولا ابتدا در سلول های رتیکولواندوتلیال کبد، ریه و طحال منتشر می شود. B، تکثیر در این نواحی سبب آسیب به این سلول ها می شود که منجر به آزادسازی سیتوکین هایی می شود که می توانند تب را تسریع کرده و تون/نفوذپذیری عروقی را تغییر دهند. تکثیر بیشتر در کبد و سلول های اندوتلیال، بیشتر موجب ترومبوز و هموستاز و نیز اینگریتی عروقی می شود که منجر به خونریزی و کلاپس نهاسس گردش خون می شود که علّت مورتالیتی بالای آن است.

آزمایشگاه های سیّار به منظور آنالیز نمونه های موردی مشکوک با سرعت بیشتری سازمان دهی شدند. بعلاوه تشخیص های آزمایشگاهی سریع ویروس ابولا برای کاربرد اضطراری از سوی سازمان بهداشت جهانی (WHO) و سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) به عنوان خط نخست غربالگری به تصویب رسید. اکثر آن آزمایشات سریع مبتنی بر RT-PCR با استفاده از خون کامل (سوراخ کردن رگ یا نمونه گیری از انگشت) پلاسما، سرم یا ادرار از بیمارانی هستند که دچار علائم بیماری شده اند. اکثر متدها برای محیط بیمارستانی توسعه داده شدند، نه برای غربالگری جمعیت انبوه. تقویت ژنوم، ژن های گوناگون را با NP، Vp40، L و GP مورد هدف قرار می دهد که بسته به کیت مورد استفاده به تنهایی یا به صورت ترکیبی به کار می روند. EBOV هدف اصلی است؛ اما در برخی از سنجش ها تشخیص SUDV، BDBV و MARV نیز با استفاده از degenerate primers امکان پذیر است. با این حال چنانچه نتیجه ی حاصل، سیگنال مثبتی را نشان دهد، آن آزمایش ها فاقد تمایز گونه اند که نیاز به یک تست پیگیری مختص گونه ها را افزایش می دهد. علاوه بر تشخیص ژنومیک، برخی از متدهای تشخیصی بر شناسایی پروتئین آنتی ژنی متمرکز شده اند. برای مثال یک کیت تست سریع وجود VP40 را از هر واریانت EBOV در خون و پلاسما در مدت ۱۵ تا ۲۵ دقیقه نشان می دهد؛ اگرچه نتایج باید با آزمایش های تشخیص دقیق تر RT-PCR پیگیری گردند.

با پیدایش گونه های جدید ابولا ویروس مانند BDBV که تعداد احتمالاتی را که باید با هر شیوع جدید و تنوع بین گونه های ابولا ویروس در نظر گرفته شوند، افزایش می دهد، بیش از یک آزمایش تشخیصی برای پیشگیری از منفی های کاذب باید به کار رود. این فراوانی آزمایش، مخصوصا در مراحل اولیه ی شیوع که در آن واریانت در حال گردش هنوز به طور قطعی تشخیص داده نشده است، بسیار مهم است. در یک شیوع بیماری، ردیابی تماس برای متوقف ساختن گسترش بیماری از راه جمعیت ضروری است.

هنگامی که یک مورد شاخص تشخیص داده می شود، آزمایش های دقیق سلامت عمومی باید انجام شوند که عبارتند از: استفاده از لوازم محافظت کننده ی شخصی مناسب (PPE)، تمیز کردن و ضدعفونی کردن تمام لوازم، ایزولاسیون و قرنطینه به منظور کاهش انتقال و تشخیص و آزمایش تمام تماس های مربوط به مورد شاخص که با قرنطینه ی فوری هر تماسی که مبتلا به علائم بیماری شده است، دنبال می شود. همکاری بین کارکنان عرصه ی سلامت و نمایندگان محلّی جامعه برای افزایش ارتباط با جمعیت و اطمینان از انتشار و آشنایی با بخشنامه های سلامت عمومی بسیار مهم است. به منظور فراهم سازی مراقبت های بهداشتی اساسی موثر در طی شیوع بیماری، لازم است که تعداد مراکز درمانی مطابق با اندازه ی جمعیت آسیب پذیر باشد. مراکز برای پیشگیری و کنترل بیماری (CDC) و WHO، رهنمودهایی را ارائه نمودند که اعلام می دارد چنانچه در کشوری در طی بازه ی ۴۲ روزه (دو برابر حداکثر طول دوره ی نهفتگی) هیچ بیماری ابولای مثبتی تشخیص داده نشود، آن کشور عاری از ویروس ابولا در نظر گرفته می شود.