مروری کوتاه بر ویروس چیکن گونیا

• روح اله سالمی قشلاق
کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
شبکه بهداشت و درمان شهرستان گرمی
pezeshkan2016.1395@gmail.com

• سجاد حضی زاده
کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
شبکه بهداشت و درمان شهرستان گرمی

• دکتر روشنک مهریور
دکترای حرفه‌ای پزشکی عمومی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل شبکه بهداشت و درمان شهرستان مشگین شهر

• امین عطایی
کارشناس ارشد اپیدمیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، شبکه بهداشت و درمان شهرستان مشگین شهر

چکیده

ویروس چیکن گونیا یک آلفا ویروس انتقال یابنده از طریق پشه و متعلق به خانواده توگاویریده می‌باشد که 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. این ویروس عامل ایجاد یک بیماری تب دار است که با آرترالژی شدید و راش پوستی همراه می‌باشد. پس از انتقال، ویروس در پوست تکثیر شده و از طریق خون به سرعت در کبد، عضله، مفاصل، بافت‌های لنفاوی و مغز منتشر می‌گردد.

تشخیص آزمایشگاهی بیماری متکی به تشخیص ویروس در نمونه‌های اولیه و یا آنتی بادی‌های اختصاصی ویروس چیکن گونیا IgM و IgG می‌باشد. برای تشخیص، مراقبت، جداسازی و تعیین ژنوتیپ ویروس از آزمایش معمولی RT-PCR استفاده می‌کنند. از سایر روش‌های تشخیصی می‌توان RT-PCR کمی و روش SYBR Green I بر پایه RT-PCR و DANP- RTPCR را نام برد.

واژه‌های کلیدی: ویروس چیکن گونیا، آرترالژی، آلفاویروس، توگاویریده، اپیدمیولوژی، تشخیص آزمایشگاهی، RT-PCR، RT-PCR کمی، SYBR Green I، DANP- RTPCR

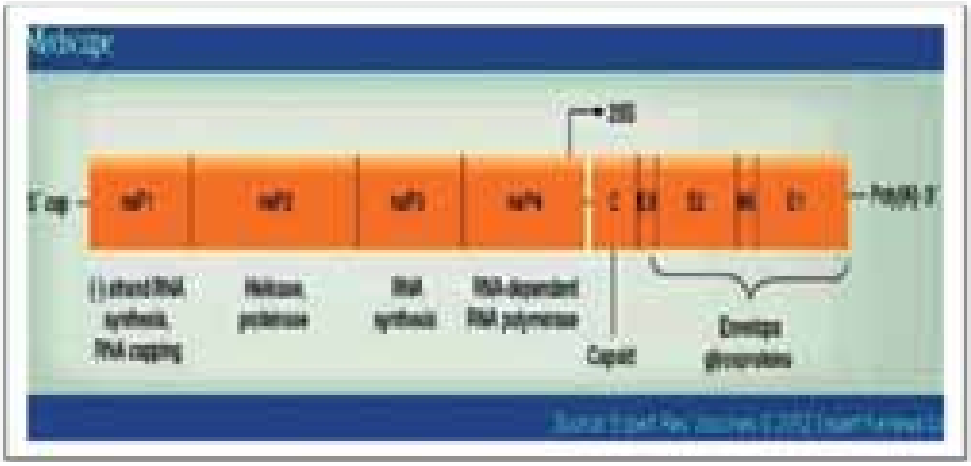
مقدمه

ویروس چیکن گونیا (Chikungunya virus=CHIKV) یک آلفاویروس انتقال یابنده از طریق پشه و متعلق به خانواده توگاویریده می‌باشد و عامل ایجاد یک بیماری تب دار است که با درد شدید مفصلی و راش پوستی همراه می‌باشد. Chikungunya در گویش ساکنین تانزانیا و موزامبیک که به زبان Bantu تکلم می‌کنند به معنی خم یا تا شده است و اشاره به وضعیت بیماری دارد که در اثر درد شدید مفاصل به حالت خمیده درآمده است.

مشخصات کلی ویروس چیکن گونیا

Chikungunya virus یک ویروس کوچک کروی دارای قطر حدود ۶۰ تا ۷۰ نانومتر، پوشش دار است که دارای RNA رشته‌ای مثبت می‌باشد. ژنوم آن در حدود ۱۲ کیلوبایت طول دارد و در انتهای ´5 ژنوم دارای یک کلاهک و در انتهای ´3 دارای یک دم پلی A می‌باشد. ساختمان ژنوم دارای دو قاب خواندن باز (ORF=open reading frame) بوده که دارای رمز برای دو پلی پروتئین ساختاری و غیر ساختاری می‌باشد که به وسیله پروتئازهای ویروسی و سلولی به ترتیب به ۴ پروتئین غیرساختاری nsP3، nsP2، nsP1 و nsP4 و ۵ پروتئین ساختاری E3, E2, 6K, E1 و C از طریق ویروس و پروتئازهای سلولی شکسته می‌شود.

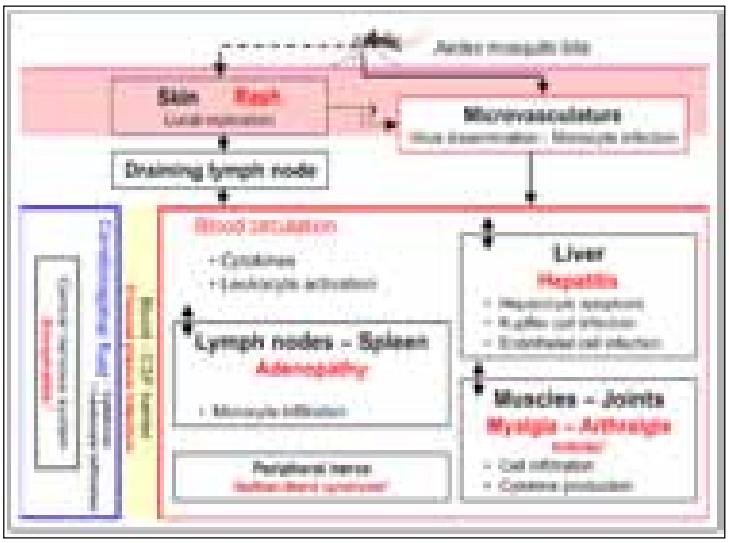
[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-05-17]



شکل ۱- ساختار ژنوم ویروس چیکن گونیا

راه‌های انتقال و چرخه بیماری ناشی از ویروس

virus Chikungunya به وسیله پشه‌های کولیسینه منتقل می‌شود و می‌تواند به صورت متناوب بین مهره داران و بندپایان در جریان باشد. بندپایان در تمام مدت زندگی آلوده باقی می‌مانند. انتقال ویروس به انسان عمداً" از طریق پشه‌های گونه Aedes می‌باشد. Aedes aegypti, Aedes albopictus و Aedes polynesiensis شایع‌ترین پشه‌ها در انتقال ویروس به انسان به شمار می‌روند با این حال در برخی موارد انتقال به وسیله Culex نیز گزارش شده است. سیکل CHIKV آفریقایی به صورت وحشی و انزوتیک است که به وسیله پشه‌هایی مثل Aedes furcifer و Aedes africanus که میمون‌های ساکن بالای درختان را نیش می‌زنند منتقل می‌شود و احتمالاً حیواناتی غیر از انسان از جمله میمون‌ها به عنوان میزبان مخزن مطرح می‌باشند. یک مطالعه به تازگی در هند نشان داده است که انتقال CHIKV به وسیله Anopheles stephensi نیز انجام می‌گیرد. مخازن عمومی برای CHIKV معمولاً میمون‌ها و سایر مهره داران هستند. نقش گاو و جوندگان در انتقال ویروس گزارش شده است. CHIKV معمولاً به صورت دوره‌ای انتقال می‌یابد و بیماری در فاصله زمانی ۴-۳ ساله ایجاد می‌گردد که احتمالاً به دلیل سیکل بیماری در میمون‌ها می‌باشد.

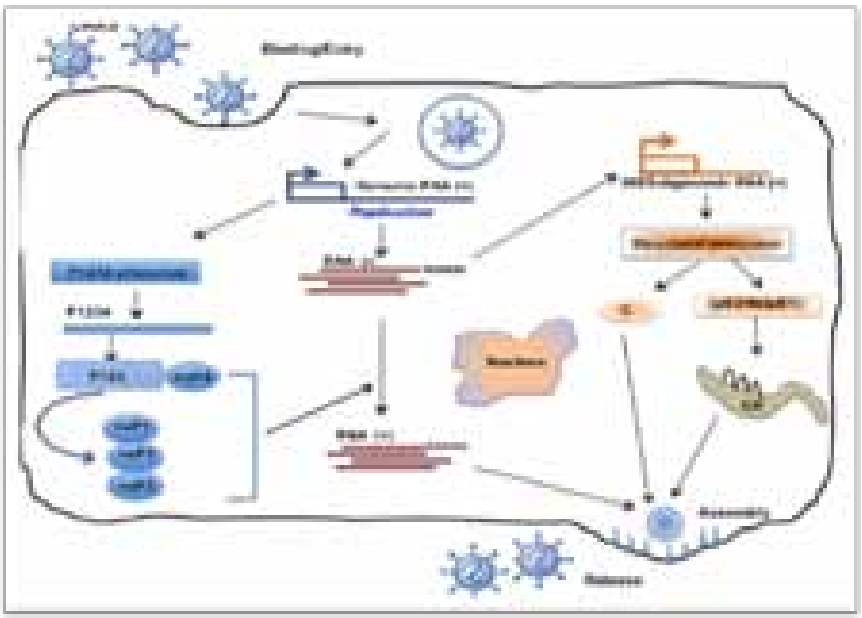


شکل ۲- راه‌های پخش ویروس چیکن گونیا و اندام‌های هدف

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-05-17]

مکانیسم پاتوژنز ویروس

پس از انتقال، ویروس در پوست تکثیر شده و از طریق خون به کبد، عضله، مفاصل، بافت‌های لنفاوی و مغز منتشر می‌گردد. ویروس چیکن گونیا به سرعت در بدن پخش شده و سپس عفونت شروع می‌شود. پس از تزریق ویروس با گزش پشه‌ها ویروس مستقیماً وارد مویرگ‌های زیر جلدی شده و تعدادی هم در سلول‌های خاصی از پوست از جمله ماکروفاژها، فیبروبلاست ها و سلول‌های آندوتلیال ایجاد عفونت می‌کنند. به نظر می‌رسد تکثیر عفونت ویروسی به صورت موضعی محدود به همان محل بوده و احتمالاً به اندام‌های لنفاوی ثانویه نزدیک به محل تلقیح انتقال پیدا می‌کند. انتشار ویروس به صورت کامل همراه با رویدادهای پاتولوژیکی است. آرتریت واقعی به صورت یک رخداد نادر باقی می‌ماند (از ۲ تا ۱۰ درصد). رویدادهای پاتولوژیکی همراه با عفونت بافتی می‌باشد که اغلب در ارگان‌های لنفاوی تحت حاد است در حالی که در عضلات و مفاصل همراه با دوره‌های طولانی و در تعدادی از بیماران با آرتریت‌های پیش رونده همراه است.



شکل ۳- چرخه تکثیر ویروس چیکن گونیا

علایم بیماری ناشی از ویروس چیکن گونیا

علائم شامل تب شدید، لرز، سردرد، ترس از نور و بثورات جلدی یا راش‌های ماکولاپاپولار می‌باشد. به علاوه افراد آلوده‌تر بیشتر از درد شدید مفاصل شکایت دارند که اغلب ناتوان کننده و با لنفادنوپاتی اینگوایینال دردناک هم گزارش شده است. مرحله عفونت حاد ناشی از CHIKV معمولاً طولانی بوده و از چند روز تا دو هفته می‌باشد با این حال درد مفاصل و یا درد عضلانی برای هفته‌ها یا ماه‌ها و یا حتی سال‌ها باقی می‌ماند. در برخی از بیماران حالت پیشرفته اتفاق افتاده و به سندرم و درد مفاصل مزمن تبدیل می‌شود. به طور معمول در طول مدت بیماری، مفاصل آسیب می‌بینند اما همیشه قسمت‌هایی از بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد که اغلب اندام‌ها از جمله دست‌ها، مچ پاها و پنجه‌ها هستند. میزان مرگ و میر پایین است (۰/۴ درصد) اما در کودکان کمتر از یک سال بالا می‌باشد (۲/۸٪) و در افراد سالمند مبتلا با بیماری‌های 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. ویروس چیکن گونیا اولین بار به وسیله Ross در سال ۱۹۵۳ از سرم یک انسان مبتلا به تب در طول یک بیماری همه‌گیر در منطقه Newala تانزانیا جدا شد. منشأ این ویروس احتمالاً از آفریقا است که سیکل وحشی آن باعث حفظ

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-05-17]

ویروس در بین میمون‌های وحشی و پشه‌های جنگلی می‌باشد. چیکن گونیا متعاقب آن وارد آسیا شد و از انسان به انسان عمدتاً به وسیله Aedes aegypti و با میزان کمتر به وسیله Aedes albopictus از طریق چرخه انتقال شهری منتقل گردید. پس از تانزانیا ویروس چیکن گونیا باعث اپیدمی بین سال‌های ۱۹۶۰ تا ۱۹۹۰ در شرق آفریقا (اوگاندا)، زیمبابوه، در غرب آفریقا (سنگال) و در مرکز آفریقا (جمهوری مرکزی آفریقا)، جمهوری دموکراتیک کنگو و کامرون گردید. این ویروس همچنین از پرتغال و گونیه 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 می‌شود. در هند تاریخچه طولانی وقوع اپیدمی در سال ۱۹۶۳-۱۹۶۲ در کلکته و در سال ۱۹۶۵ در چین تأیید شد. ورود چیکن گونیا در هند ناشناخته بود اگر چه دریا در کلکته و جاده‌های هوایی احتمالاً نقاط ورود ویروس می‌باشند. 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، لائوس و میانمار هم به صورت مستند گزارش شده است. در سال ۲۰۰۴ یک اپیدمی بزرگ از این ویروس به صورت متداول و به صورت چرخشی بین شرق، مرکز و جنوب آفریقا اتفاق افتاد که شروع آن از ساحل کنیا بوده و به دنبال آن در سال ۲۰۰۵ طغیان‌های 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) اتفاق افتاد سپس یک اپیدمی مشابه در شبه قاره هند در ۲۰۰۶-۲۰۰۵ اتفاق افتاد که باعث بیماری در بیش از یک و نیم میلیون مورد شد. جالب توجه این است که در هنگام اپیدمی در Reunion ویروس ظاهراً جهش یافته بود. جهش A226V اجازه می‌دهد تا ویروس بهتر در Aedes albopictus که تنها ناقل موجود در این جزایر است سازگاری یابد. گونه‌های ویروسی با همان جهش که در هند شناسایی شده باعث طغیان در شمال شرقی ایتالیا به ویژه در تابستان سال ۲۰۰۷ شده است. گزارش‌های دیگری نیز در اروپا در انگلستان، بلژیک، آلمان، جمهوری چک، نروژ، اسپانیا و فرانسه و هنگ کنگ، کانادا، تایوان، سریلانکا و ایالات متحده آمریکا شده است. این موارد به طور مستقیم با بازگشت مسافران از هند در ارتباط است و تحت تأثیر جزایر اقیانوس هند قرار گرفتند.

تشخیص آزمایشگاهی

۱- روش‌های سرولوژیکی

تشخیص آزمایشگاهی متکی به تشخیص ویروس در نمونه‌های اولیه و یا آنتی بادی‌های اختصاصی ویروس چیکن گونیا IgM و IgG می‌باشد. آنتی بادی این ویروس در بیماران بعد از مدت کوتاهی از بروز علایم تشخیص داده می‌شود. معمولاً برای IgM ۵ روز بعد از بروز علایم و برای IgG تنها چند روز بعد کافی می‌باشد. آنزیم‌های تجاری ایمونواسی و ارزیابی‌های ایمنوفلورسانس هم در دسترس می‌باشند.

مشکلات احتمالی در تفسیر سرولوژی نتایج

الف) احتمال منفی کاذب به دلیل اختلاط کرایوگلوبولینمیا ویروس CHIKV

ب) واکنش متقاطع با ویروس‌های مشابه کمپلکس که در جنگل‌ها است.

ج) دوام طولانی مدت آنتی بادی IgM ویروس پس از شروع بیماری برای ماه‌ها.

اکثر مواقع برای نشان دادن عفونت جدید CHIKV کافی است که همزمان یک نمونه از مرحله حاد و نمونه‌های جمع آوری شده حداقل ۳ هفته بعد از بیماری را بررسی نمایند.

۲- روش RT-PCR (Real-time reverse transcription-PCR)

برای تشخیص، مراقبت، جداسازی و تعیین ژنوتیپ ویروس از آزمایش معمولی RT-PCR استفاده می‌کنند. برای تشخیص RNA ویروس می‌توان آن را در نمونه‌های پلاسمای خون در هفته اول پس از شروع علایم که معمولاً سطح بسیار بالایی از ویروس در خون وجود دارد تشخیص داد. از نظر کمیت زمانی واقعی RT-PCR و کیفیت ویروس نیز پیشرفت‌هایی صورت گرفته است. این روش هم حساس و هم خاص بوده و برای تشخیص طیف وسیعی از غلظت‌های مختلف ویروس استفاده می‌شود. به علاوه این روش می‌تواند در مناطقی که ناقل ویروس Aedes aegypti و Aedes albopictus است در زمینه

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-05-17]

مراقبت ویروس کمک کننده باشد.

۳- روش qRT-PCR (positive- and negative- strand quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction)

اخیراً یک روش جدید دیگر از RT-PCR به صورت واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز رشته منفی و رشته مثبت تحت عنوان qRT-PCR در دسترس می‌باشد که برای سنجش nsP3 ویروس استفاده می‌شود و برای تشخیص و مطالعه تکثیر ویروس طراحی شده است. این روش برای مقدارهای محدودی از ۱۰-۱ کپی RNA کاربرد دارد. در مقایسه با روش E1 که در ۳۰ آزمایشگاه بالینی روی نمونه‌ها کار شده است روش nsP3 qRT-PCR دارای R^2 بیشتر بوده و بهره وری بالایی داشته و نمونه‌های مثبت را بهتر شناسایی می‌کند.

۴- روش SYBR Green I بر پایه RT-PCR

یکی از آزمایش‌هایی است که اخیراً توسعه یافته است. این روش دارای حساسیت ۱۰ برابر RT-PCR است و هیچ واکنش متقاطعی را با آلفاویروس ها و فلاوی ویروس‌ها ایجاد نمی‌کند.

۵- DANP- RTPCR

یک روش تشخیص مولکولی جدید بوده که یک مرحله از روش RT-PCR می‌باشد. 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 2,7-diamino-1,8-naphthyridine (DANP) نشاندار شده با پرایمرهای سنجاق سری سرشار از سیتوزین را برای تکثیر ناحیه nsP2 ژنوم ویروس چیکن گونیا مورد استفاده قرار می‌دهد که متعاقباً با اندازه گیری فلورسانس ساطع شده از پرایمر DANP بعد از چندین پروسه PCR همراه می‌باشد. واحد اندازه گیری این روش تشخیصی 0.01 CFU /reaction of CHIKV می‌باشد. مزیت این روش این است که می‌تواند به عنوان یک کاندید واقعی از پرایمر HP-nsP2 برای تشخیص خیلی اختصاصی CHIKV مورد استفاده قرار گیرد بدون اینکه واکنش متقاطع با قطعه ارزشیابی شده در این مطالعه داشته باشد. امکان انجام DANP- RTPCR برای تشخیص بالینی ارزیابی شده است. این روش جدید DANP-RTPCR با پتانسیل تشخیصی مولکولی برای ویروس چیکن گونیا باید بر روی نمونه سرم در فاز حاد بیماران هم مورد استفاده قرار گیرد.

درمان بیماری ناشی از ویروس چیکن گونیا

درمان اختصاصی برای CHIKV وجود ندارد و واکسنی تا به حال در دسترس نمی‌باشد. این بیماری معمولاً خود به خود محدود شده و به مرور زمان بهبود می‌یابد. استراحت مطلق می‌تواند در کاهش علایم درد مفاصل کمک کننده باشد. افراد آلوده باید از گزش پشه‌ها محافظت شوند تا نتوانند به چرخه انتقال بیماری کمک نمایند.

راه‌های پیشگیری از بیماری و کنترل آن

اقدامات احتمالی کنترلی ناقلین می‌تواند شامل استفاده از حشره کش های سریع الاثر (پایروتیروئیدها) برای ۳ روز پشت سر هم باشد که با به کارگیری سمپاش های بزرگ روی کامیون و یا سمپاش های پشتی برای مناطق کوچک میسر می‌باشد. اقدامات بر علیه لارو پشه‌ها هم شامل استفاده از فرمولاسیون ممانعت کننده از رشد حشرات می‌باشد.مراقبت منزل به منزل برای مکان‌های رشد پشه‌ها و تشویق به مشارکت مردمی هم مفید است. مراقبت خوب از بیماران در مرحله عفونت حاد این ویروس برای بهداشت عمومی در مناطق توسعه یافته با وجود گونه‌های فعال آئدس ضروری می‌باشد. بیماران مشکوک را باید جدا نموده و سریعاً با مقامات و ادارات بهداشتی محل تماس گرفته شود و برای بیماران حتماً پرونده تشکیل گردد. هدف نهایی این است که از گسترش اپیدمی‌ها به مناطق جدید جلوگیری گردد.

References

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.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-05-17]