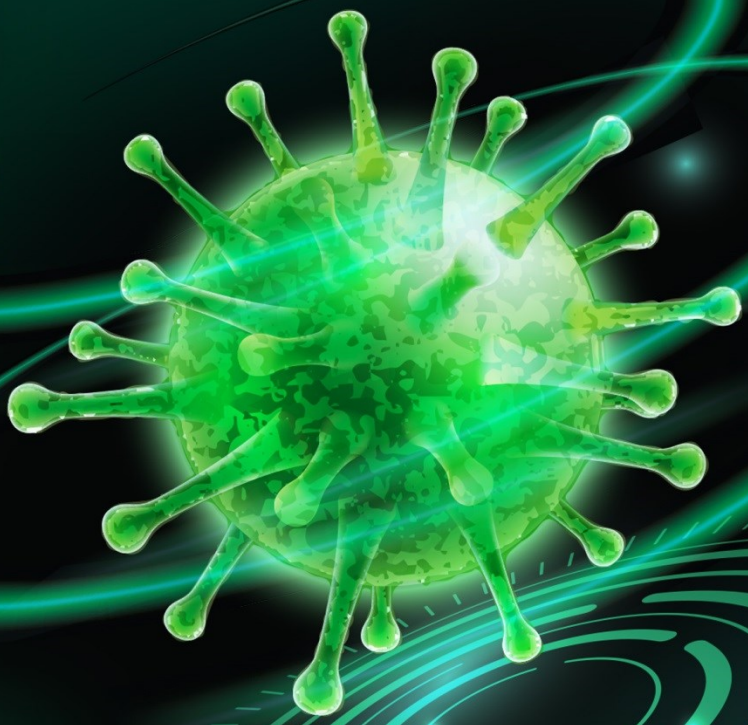
دانشگاه علوم پزشکی قم

آزمایشگاه مرجع دانشگاهی
معاونت درمان

ویروس شناسی در آزمایشگاه تشخیص طبی (۱)



حسین عبادی فرد
فاطمه سادات حسینی طباطبایی

فهرست مطالب

مقدمه ۵

تشخیص بیماری‌های ویروسی در آزمایشگاه ۶

بخش سرولوژی در ویروس‌شناسی ۶

بخش مولکولی ویروس‌شناسی ۶

PCR (polymerase chain reaction) ۷

Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ۹

Real Time PCR (q-PCR) ۹

Multiplex PCR ۱۱

توالی‌یابی DNA ۱۱

ویروس‌های دارای اهمیت تشخیصی در آزمایشگاه طبی ۱۲

Parvo virus (B19) ۱۲

BK/JC viruses ۱۳

Adeno virus ۱۴

Human Papilloma virus (HPV) ۱۴

Herpes simplex viruses (HSV) ۱۶

Herpes simplex virus 1,2 (HSV 1,2) ۱۶

Herpes simplex virus 6 (HSV-6) ۱۷

Varicella zoster virus (VZV) ۱۷

Epstein-Barr virus (EBV) ۱۹

Cytomegalovirus (CMV) ۲۰

Hepatitis A virus (HAV) ۲۱

Hepatitis E virus (HEV) ۲۲

Hepatitis B virus (HBV) ۲۲

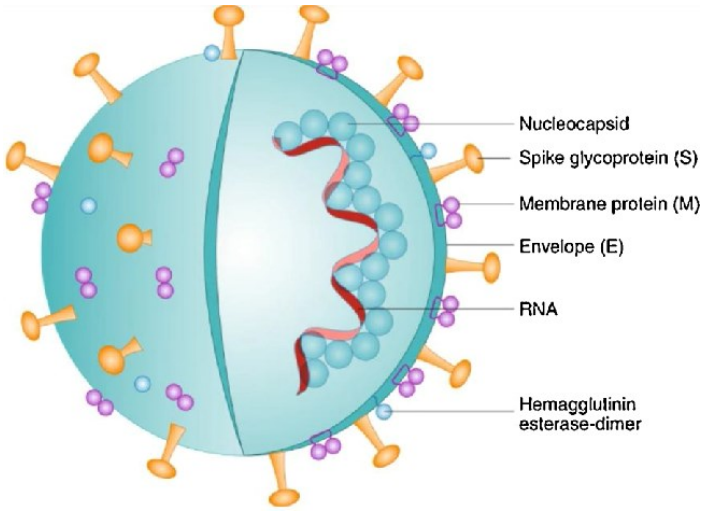
Hepatitis C virus (HCV) ۲۵

Hepatitis D virus (HDV) ۲۷

منابع ۲۹

مقدمه

ویروس‌ها، انگل‌های اجباری درون سلولی و کوچک‌ترین ذرات عفونت‌زا هستند که حاوی یک نوع اسیدنوکلئیک (DNA یا RNA) می‌باشند. هیچگونه اندامکی ندارند و بنابراین در تولید پروتئین‌های خود کاملا به سیستم رونویسی و همانندسازی و ترجمه میزبان وابسته‌اند. ژنوم ویروس توسط یک ساختار پروتئینی به نام کپسید[1] احاطه می‌شود. برخی از آن‌ها علاوه بر کپسید، یک پوشش خارجی لیپیدی به نام انولوپ[2] دارند. گلیکوپروتئین‌های سطح ویروس در اتصال و ورود به سلول نقش دارند. (شکل ۱)



شکل ۱: تصویر شماتیک ویروس COVID-19 به همراه اجزای ساختمانی آن

ویروس‌های مختلف با توجه به شیوه اختصاصی ورود به سلول، تکثیر در سلول‌ها و آزادسازی، تروپیسم و گرایش بافتی مختص اختصاصی، عکس‌العمل سیستم ایمنی، رفتار ویروس دربرابر دفاع میزبان و فرار از سیستم ایمنی، نحوه انتشار در محیط و انتقال از میزبانی به میزبان دیگر، پاتوژنز و بیماری‌زایی متفاوتی می‌توانند داشته باشند. برخی ویروس‌ها پس از تولید پروتئین‌های مورد نیاز و تولید ذرات ویروسی جدید، سلول‌ها را از بین می‌برند، درحالی‌که برخی دیگر به روش جوانه‌زدن از سلول خارج می‌شوند. بسیاری از عفونت‌های ویروسی تحت بالینی هستند؛ به این معنا که سیستم ایمنی آن‌ها را قبل از بروز علایم متوقف می‌کند. بنابراین بسیاری از افراد نسبت به ویروس‌های متنوع، آنتی‌بادی‌های محافظت کننده‌ای دارند.

1. Capsid
2. Envelope

مدت زمان بین ورود ویروس تا شروع علایم بیماری، دوره کمون[۳] نام دارد که شامل ورود ویروس به سلول‌های هدف، تکثیر موضعی و گسترش ویروس است.

تشخیص بیماری‌های ویروسی در آزمایشگاه

روش‌های متفاوتی در شناسایی و ردیابی انواع ویروس‌ها وجود دارد. از آن‌جایی که این ذرات عفونی با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده نیستند، روش‌های در دسترس در آزمایشگاه‌های طبی و تخصصی ویروس‌شناسی، برپایه‌ی مشاهده میکروسکوپی تغییرات ساختاری در سلول میزبان و کشت سلول (CPE)[۴] ، بررسی پروتئین‌های ویروسی و آنتی‌بادی‌های اختصاصی تولیدشده با متدهای الایزا و ایمونوفلورسنس، بررسی حضور ژنوم ویروس بصورت کمّی یا کیفی با روش‌های مبتنی بر PCR، هیبریداسیون اسید نوکلئیک، و ... هستند. روش‌های دیگری نیز در شناسایی ویروس‌ها وجود دارد که جنبه پژوهشی دارند یا روتین نیستند؛ مانند انواع روش‌های کشت سلولی، تکثیر ویروس در تخم‌مرغ جنین‌دار، آزمایشات برپایه آگلوتیناسیون و نوترالیزاسیون، مشاهده با میکروسکوپ الکترونی، و آزمایش پلاک[۵].

بخش سرولوژی در ویروس‌شناسی

یکی از مهم‌ترین تکنیک‌های سرولوژی در آزمایشگاه ویروس‌شناسی، ELISA[۶] است که از سرعت، حساسیت و دقت خوبی نیز برخوردار است. با این‌حال در برخی بیماری‌های ویروسی بعنوان روش غربالگری بوده و تأیید آن نیازمند سایر روش‌ها می‌باشد. مهم‌ترین آزمایشات سرولوژی مبتنی بر تکنیک ELISA، مجموعه آزمایشات TORCH (**T**oxoplasmosis - **O**ther (شامل عفونت‌های HIV، سیفلیس، ویروس‌های هپاتیت، واریسلا زوستر، پارووویروس) - **R**ubella – **C**ytomegalovirus – **H**erpes simplex virus) در غربالگری مادران باردار و پنل آنتی‌بادی‌های ضد هپاتیت و HIV در افراد در معرض، از جمله کارکنان بهداشت ودرمان، بیماران دریافت‌کننده خون و پیوند، و ... می‌باشد.

بخش مولکولی ویروس‌شناسی

با گسترش روش‌های تشخیصی انواع بیماری‌ها، و به دنبال افزایش سرعت و دقت در شناسایی عوامل بیماری‌زا، انواع روش‌های مولکولی در آزمایشگاه تشخیص طبی راه‌اندازی شده است. تشخیص مولکولی شامل روش‌های تجزیه و تحلیل

3. Incubation Period
4. Cytopathic effects
5. Plaque
6. Enzyme-linked immunosorbent assay

DNA، RNA، پروتئین‌ها و مولکول‌های مهم در شناسایی اختلالات ژنتیکی، بیماری‌های عفونی، و ... است که علاوه بر تأیید، در پایش و ارزیابی روند درمانی نیز اهمیت ویژه‌ای دارد.

تشخیص مولکولی، نقش مهمی در پزشکی ایفا می‌کند؛ زیرا ارائه‌دهندگان مراقبت‌های بهداشتی را قادر می‌سازد تا برنامه‌های درمانی را برای بیماران فردی براساس مشخصات ژنتیکی آن‌ها تنظیم کنند. با شناسایی تغییرات ژنتیکی و نشانگرهای مولکولی مرتبط با بیماری‌های خاص، آزمایش‌های تشخیصی مولکولی می‌توانند به بهبود نتایج بیمار و مدیریت کلی مراقبت‌های بهداشتی کمک کنند.

در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی از تکنیک‌های متفاوتی جهت شناسایی جهش‌های ژنتیکی، الگوهای بیان ژن، و انواع ژن‌های درگیر در بیماری‌های مختلف استفاده می‌شود.

PCR (polymerase chain reaction)

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، یک تکنیک مولکولی رایج است که بخش خاصی از ژن مورد نظر (انسانی یا عامل عفونی) را در آن تکثیر داده و قابل شناسایی می‌کند. پس از آماده‌سازی نمونه مورد نظر در مرحله استخراج[۷] ژن، چرخه‌های متناوبی از دمای بالا و پایین با زمان‌های مشخص توسط دستگاه ترموسایکلر[۸] اجازه تکثیر هدفمند ژنوم را به میزان میلیون‌ها نسخه از آن قطعه خواهد داد.

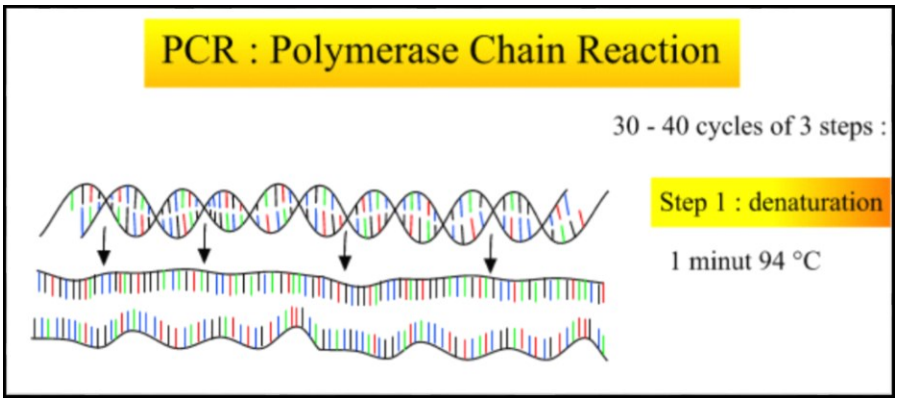
هدف از PCR، تولید قطعه DNA مورد نظر (انسانی یا عفونی) با استفاده از یک جفت پرایمر اولیگونوکلئوتیدی است که بخاطر مکمل بودن با دو طرف توالی DNA مورد نظر به آن متصل شده و سپس محلی برای اتصال و آغاز فعالیت DNA پلی‌مراز می‌شوند. این آنزیم از محل پرایمر، آغاز به سنتز رشته‌ی مکمل DNA کرده و این کار را تا انتهای رشته و رسیدن به پرایمر مقابل ادامه می‌دهد. در نتیجه می‌توان گفت در هر سیکل دمایی از هر تک رشته DNA، یک رشته دیگر ساخته می‌شود و تا پایان، میلیاردها کپی از نسخه اولیه تولید خواهد شد.

چرخه‌های متناوب دمایی شامل سه مرحله کلی است:

دناتوراسیون یا واسرشت‌سازی[۹]، انلینگ[۱۰]، اکستنشن یا گسترش[۱۱]

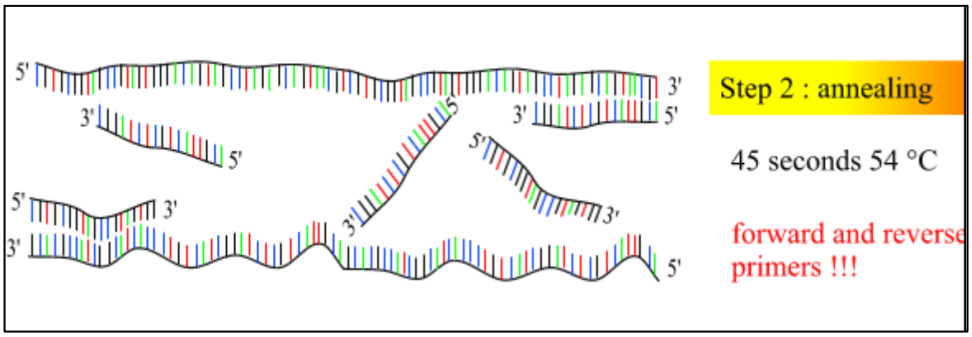
۱- ابتدا DNA الگو، تحت دمای بالا قرار گرفته و پیوندهای هیدروژنی بین جفت بازهای دورشته در ۹۴ درجه سانتی‌گراد از هم جدا می‌شود و دو رشته مکمل از هم جدا می‌شوند.

7. DNA/RNA extraction
8. Thermocycler
9. Denaturation
10. Annealing
11. Extension



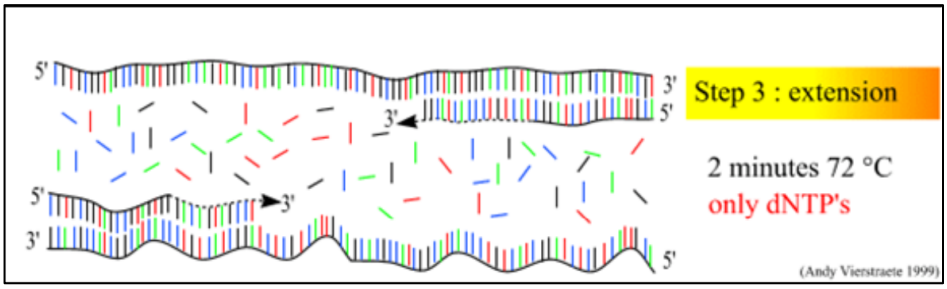
شکل ۲: مرحله اول PCR شامل باز شدن دو رشته DNA

۲- سپس واکنش در دمایی قرار می‌گیرد که پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی بتوانند بـه دو انتهـای DNA الگـو متصـل شوند. این کار موجب مشخص شدن ناحیه مشخصی از الگـوی هـدف در رشـته‌ی بسـیار بـزرگ DNA می‌شـود. نهایتـاً DNA پلی‌مراز با اضافه کردن دی‌اکسی‌نوکلئوتیدها (dNTP) از انتهای یک پرایمـر شـروع بـه سـاخت زنجیـره جدیـد می‌کنند.



شکل ۳: مرحله دوم PCR برای اتصال پرایمرهای اختصاصی به هر رشته

۳- واکنش تا رسیدن به دمایی نزدیک به دمای اپتیمم فعالیت آنـزیم پلی‌مـراز (۷۲ درجـه سـانتی‌گراد) حـرارت داده می‌شود. در هر چرخه تعداد نسخه‌های DNA هـدف دوبرابـر می‌شـود و البتـه ایـن درصـورتی اسـت کـه بـازده PCR، ۱۰۰درصد باشد.



شکل ۴: مرحله سوم PCR و سنتز دو رشته DNA

تجزیه و تحلیل نمونه بدست آمده با روش الکتروفورز برروی ژل و به صورت کیفی برای امور تشخیصی و اغلب پژوهشی ارائه می‌شود.

Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

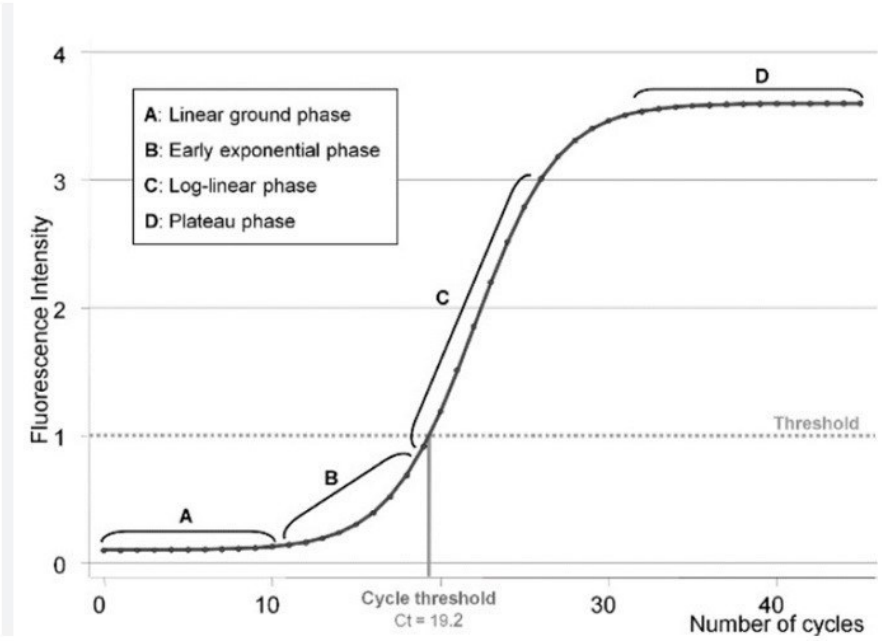
در مواردی که بدنبال تشخیص ویروس‌های RNAدار یا بررسی بیان ژن باشیم، نیاز است از روش RT-PCR استفاده کنیم. واکنش نسخه‌برداری معکوس با استفاده از یک DNAپلی‌مراز وابسته به RNA انجام می‌شود. در این روش، از روی mRNA یک رشته مکمل DNA ساخته و باقی مراحل مانند قبل ادامه می‌یابد.

Real Time PCR (q-PCR)[۱۳]

تکنولوژی ریل‌تایم به مشاهده لحظه به لحظه فرایند PCR اشاره دارد. به این صورت که دستگاه می‌تواند در هر لحظه فرایند تکثیر DNA را در بدست‌آوردن پروفایل ژن نشان دهد. در این تکنیک، طی دو مرحله تقویت و تشخیص، نموداری بصورت خروجی ارائه می‌شود. دستگاه‌های ریل‌تایم بر حسب تعداد کانال (دو، ۴، ۵، و ۶)، تعداد حفره‌های بلاک (۱۶، ۳۶، ۴۸، و ۹۶ خانه)، داشتن مانیتور مستقل یا کنترل از طریق کامپیوتر، close یا open بودن دستگاه انواع متفاوتی دارند.

همانند PCR، دستگاه ریل‌تایم در مرحله تقویت با سه مرحله دناتوراسیون، انلینگ و اکستنشن، نسخه‌های DNA موجود را بصورت لگاریتمی افزایش می‌دهد (شکل ۵). سپس در مرحله تشخیص بر اساس فناوری فلورسنس، پس از تابش اشعه و بر اساس انرژی دریافتی، طیفی از امواج مرئی را روی مانیتور نمایش می‌دهد.

13. Quantitative PCR



شکل ۵: نمودار لگاریتمی تکثیر DNA طی سیکل‌های دمایی ریل‌تایم

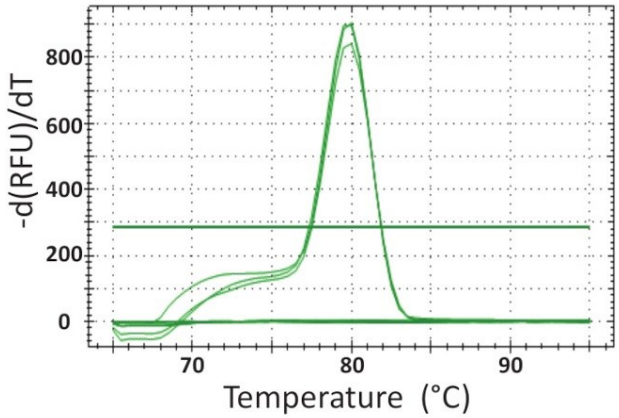
همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده است، هر منحنی تکثیر شامل ۳ فاز است. در فاز اول، همانندسازی بصورت تصاعدی انجام می‌شود؛ ولی میزان فلورسنس ساطع شده زیر خط آستانه و غیر قابل تشخیص است. در فاز دوم ابتدا تکثیر DNA بصورت تصاعدی و قابل تشخیص است، سپس تکثیر بصورت غیر تصاعدی تا انتهای فاز ادامه می‌یابد. در فاز سوم که پلاتو نامیده می‌شود، سرعت تکثیر کاهش یافته و در نهایت متوقف می‌شود. آستانه تشخیصی از انتهای فاز اول و از حدود سیکل ۱۰ به بعد است و اندازه‌گیری کمّی نیز در فاز تصاعدی قابل انجام خواهد بود.

انواع سنجش کمّی با روش Real time PCR

سنجش میزان ژنوم با دو روش اختصاصی و غیر اختصاصی انجام می‌شود. در روش غیر اختصاصی از پرایمر و رنگ SYBR Green که خاصیت اتصال به DNA دارد استفاده می‌شود. گرچه هزینه این رنگ پایین است، اما احتمال ایجاد محصولات غیر اختصاصی بالاتری دارد و همچنین نمی‌تواند بین محصولات مختلف تفاوتی قائل شود. بنابراین ارائه نتایج، نیازمند تفسیر منحنی ذوب[۱۴] پس از اتمام فرایند PCR است که توسط دستگاه رسم می‌شود (شکل ۶). این منحنی با ارائه نقطه ذوب پرایمر تأیید می‌کند که آیا یک محصول اختصاصی تکثیر یافته یا محصولات جانبی نیز باید درنظر گرفته شوند.

14. Melt curve

در روش اختصاصی از رنگ‌ها و پروب‌های اختصاصی استفاده می‌شود. هنگامی که پروب‌ها به رشته الگو متصل می‌شوند، تغییر ساختار داده و نور با طول موج خاصی را ساطع می‌کنند. این نور توسط دستگاه به صورت فلورسانس اندازه‌گیری می‌شود. انواع رنگ‌های مورد استفاده شامل CY5، FAM، HEX، Texas red، Yellow 5555، VIC، LC Red 610، Joe و ... می‌باشند که هریک برحسب طول قطعه هدف می‌توانند مفید باشند.



شکل ۶: نمونه منحنی ذوب رسم شده قابل قبول توسط دستگاه ریل تایم

Multiplex PCR

تکنیک مولتی‌پلکس،تشخیص همزمان چندین الگوی هدف در یک واکنش PCR را ممکن می‌سازد. برای مثال در مواردی که چندین پاتوژن می‌توانند علایم بالینی یکسانی ایجاد کنند –مانند مننژیت و آنسفالیت، بیماری‌های تنفسی، بیماری‌های STD[۱۵]، ژنوتیپ‌های متفاوت HPV – استفاده از روش مولتی‌پلکس کمک می‌کند تا در زمان بسیار کوتاهی عامل یا عوامل بیماری‌زا در یک نمونه بیمار تشخیص و افتراق داده شود.

توالی‌یابی DNA[۱۶]

از این تکنیک برای ارزیابی دقیق‌تر نوکلئوتیدها در یک ژن خاص استفاده می‌شود. ارزیابی توالی ژنتیکی و مقایسه آن با یک DNA اولیه و سالم، اطلاعات دقیقی در مورد چگونگی جهش‌ها، الگوی بیان ژن و ارتباط آن با بیماری‌های مختلف را ارائه می‌دهد. از این روش هم در شناسایی بیماری‌های ژنتیکی و هم بررسی تأثیر جهش در ژن‌های عوامل بیماری‌زا در ایجاد بیماری‌های شدیدتر، یا پیشرفت سرطان استفاده می‌شود. برای مثال، انواع جهش در ژن‌های

15. Sexually transmitted disease
16. DNA Sequencing

بیان‌کننده پروتئین‌های سطحی ویروس کرونا، می‌تواند منجر به رفتار متفاوتی از این ویروس در برابر سیستم ایمنی و قدرت بیشتر آن در فرار از سیستم ایمنی و ایجاد علایم شدیدتر/ضعیف‌تر و همچنین شیوع بالاتر/پایین‌تر این ویروس در جمعیت شود. لذا پایش و ارزیابی مداوم این جهش‌ها هم در شاخه اپیدمیولوژی و هم صنعت واکسیناسیون و هم تغییر روش‌های درمانی و سایر سیاست‌های مرتبط با حوزه سلامت بسیار مفید خواهد بود. از انواع تکنیک‌های توالی‌یابی ژنومی می‌توان به روش سانگر سکوئنسینگ[۱۷] برای توالی‌های جزئی، و روش NGS[۱۸] برای بررسی طیف وسیع‌تری از جهش‌ها نام برد.

در تشخیص مولکولی، توالی‌یابی DNA می‌تواند برای موارد زیر استفاده شود:

۱. شناسایی جهش‌های ژنتیکی مرتبط با اختلالات یا بیماری‌های ارثی.

۲. شناسایی جهش‌های مهم در سلول‌های سرطانی برای هدایت گزینه‌های درمانی شخصی.

۳. تعیین مبنای ژنتیکی بیماری‌ها یا شرایط نادر با علت ناشناخته.

۴. مطالعه ژنوم‌های میکروبی برای تشخیص بیماری‌های عفونی و بررسی‌های اپیدمیولوژیک.

۵. پروفایل‌های بیان ژن برای درک مکانیسم‌های بیماری و توسعه درمان‌های هدفمند تجزیه و تحلیل.

ویروس‌های دارای اهمیت تشخیصی در آزمایشگاه طبی

Parvo virus (B19)

این ویروس که کوچکترین DNA ویروس انسانی نیز شناخته می‌شود، دارای DNA تک‌رشته خطی می‌باشد. اکثر افراد در دوران کودکی با این ویروس مواجهه داشته و در سنین بزرگسالی آنتی‌بادی علیه آن را دارا هستند. عوارض این ویروس در دوران جنینی اهمیت بالینی بیشتری دارد. مهمترین عضو خانواده ویروسی پارووویریده، B19 نام دارد که از طریق گیرنده‌های پیش‌ساز اریتروئیدی در مغز استخوان وارد شده و با اثر بر کبد، جفت، و قلب جنین و ... می‌تواند باعث بیماری‌های جدی شود. این ویروس از طریق تنفس و انتقال خون و از راه جفت قابل انتقال است. علایم اولیه بیماری شبه آنفلوآنزا و شامل تب و سپس راش پوستی، درد مفاصل است. سایر عوارض بسته به سلامت ایمنی در افراد، متفاوت می‌باشد:

- آپلازی خالص گلبول‌های قرمز
- بحران آپلاستیک گذرا

17. Sanger Sequencing
18. Next Generation Sequencing

- هیدروپس فتالیس در جنین با خطر مرگ در مادری که از نظر آنتی‌بادی منفی بوده است.

- اریتما اینفکتیوزوم که به بیماری پنجم[۱۹] معروف است و در کودکان سنین مدرسه‌ای دیده می‌شود. این بیماری با بروز بثورات پوستی در صورت و ایجاد فرم «گونه سیلی‌خورده» نیز می‌تواند همراه باشد. این بیماری در کودکان پس از دو هفته بهبود می‌یابد؛ درحالی‌که در بزرگسالان با علایم آرتریت و آرترالژی می‌تواند تا ماه‌ها طولانی شود.

تشخیص از طریق شناسایی ژنوم ویروس در نمونه‌های سرم، CBC، ترشحات تنفسی و یا بثورات بافتی به روش PCR می‌باشد. ماده ضد انعقاد برای جداسازی ویروس‌ها از خون، EDTA است. برای جداسازی DNAویروس‌هایی مانند پارو‌ویروس، نمونه را می‌توان ۲۴ ساعت در دمای اتاق و تا ۷۲ ساعت در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد. نمونه‌ها باید در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد حمل شوند و پس از جداسازی پلاسما در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند.

واکسیناسیون یا درمان خاصی برای این ویروس در دسترس نیست و بیشتر درمان‌ها، علامتی و حمایت‌کننده می‌باشد (بجز بحران آپلاستیک که نیازمند درمان است).

BK/JC viruses

این دو، تنها ویروس‌های انسانی از خانواده پولیوماویریده بوده، و ژنوم مشابهی دارند. ژنوم آن‌ها دورشته حلقوی است که بخاطر عدم پوشش انولوپ توسط **فرمالین** از بین می‌روند. هر دو در دوران کودکی و از طریق سیستم تنفسی وارد بدن شده و پس از ویرمی (ورود به گردش خون) از طریق لنفوسیت‌ها به کلیه می‌رسند. لذا نمونه ادرار در ردیابی ویروس بر نمونه خون ارجحیت دارد. ابتلا به این دو ویروس در افراد با ایمنی سالم بدون علامت و خود محدود شونده است؛ ولی در بیماران با نقص ایمنی، و بیماران دریافت‌کننده داروهای پیوند کلیه یا مغز استخوان و سنین پیری، اهمیت بیشتری دارند. BK می‌تواند باعث سیستیت هموراژیک (التهاب مثانه خونریزی‌دهنده) و نفروپاتی و اختلال عملکرد کلیه شود. JC اگرچه در کلیه عفونت ایجاد می‌کند؛ اما می‌تواند بیماری‌های سیستم عصبی مانند لکوانسفالوپاتی پیش‌رونده چند کانونی (PML) را در بیماران مبتلا به نقص ایمنی نیز ایجاد کند.

بهترین تست تشخیصی این دو ویروس، PCR بوده که از روی CSF (برای تشخیص PML)، خون و ادرار قابل انجام است. همچنین سیتولوژی نمونه ادرار و مشاهده انکلوزیون‌های بازوفیلی درون هسته‌ای در سلول‌های بزرگ نشان‌دهنده حضور این ویروس می‌باشد. درمان در افراد با نقص ایمنی بر پایه تقویت سیستم ایمنی می‌باشد.

19. Fifth disease, or Erythema infectiosum

Adeno virus

این DNAویروس‌ها با ژنوم دو رشته‌ای خطی، از طریق ترشحات تنفسی و مدفوعی- دهانی انتشار و اکثراً در سلول‌های اپیتلیال مجاری گوارشی، تنفسی، چشم، مثانه و کبد قابل ردیابی هستند. عفونت اولیه بیشتر در نوزادان ایجاد می‌شود. تمام سویه‌های این ویروس برای انسان بیماری‌زا نیستند و برخی هم تنها در بیماران با نقص ایمنی اهمیت بالینی دارند. مهمترین بیماری‌های آدنوویروسی شامل:

- بیماری‌های گوارشی (گاستروانتریت، اسهال کودکان، انسداد روده نوزادان) توسط تیپ ۴۰ و ۴۱؛

- بیماری‌های چشمی (التهاب ملتحمه فولیکولار[۲۱]، بیماری چشم صورتی معروف به بیماری چشم کارکنان کشتی توسط تیپ‌های ۸ و ۱۹ و ۳۷)؛

- بیماری‌های تنفسی (فارنژیت حاد، تب حلقی-ملتحمه‌ای در اردوگاه‌های تابستانی کودکان یا استخرهای شنا توسط تیپ ۳ و ۷ و ۱۴، پنومونی در کودکان، سربازان جوان، توسط تیپ‌های مختلف، و بیماری شدید تنفسی[۲۲] بیشتر در کودکان)؛

- التهاب مثانه، التهاب مجاری ادراری در بزرگسالان، و هپاتیت در افراد با نقص ایمنی.

آزمایش PCR برای تشخیص عفونت مخفی با ارزش است. سایر تکنیک‌های آزمایشگاهی از قبیل ایمونوفلورسانس، مشاهده اجسام انکلوزیونی بازوفیلیک و کریستالی ناشی از فعالیت ویروسی در سلول‌ها، و روش‌های آگلوتیناسیون و ثبوت کمپلمان نیز در انواع درگیری‌های ناشی از ویروس وجود دارند.

واکسیناسیون برای گروه‌های خاصی مانند سربازان در محیط‌های اردوگاهی پیشنهاد می‌شود. درمان دارویی خاصی وجود ندارد و اغلب حمایتی و بیماری خودمحدودشونده است.

Human Papilloma virus (HPV)

این ویروس با ژنوم DNA دو رشته‌ای حلقوی، عامل زگیل در نواحی مختلف بدن است. HPV با الکل غیر فعال نمی‌شود؛ اما وایتکس و دمای اتوکلاو می‌توانند ویروس را از بین ببرند.

HPV معمولاً از راه جنسی یا تماس با پوست آسیب‌دیده انتقال می‌یابد. با این‌حال انتقال از مادر به نوزاد نیز محتمل است؛ اگرچه تقریبا تمام نوزادان بعد از یک‌سال از ویروس پاک می‌شوند و لذا زایمان طبیعی در این مادران منعی ندارد.

21. Conjunctivitis
22. ARD

لازم به ذکر است ویروس از طریق استخر، وسایل نقلیه عمومی، سرویس بهداشتی، حوله و لباس در صورت رعایت بهداشت منتقل نمی‌شوند.

ویروس پس از ورود در لایه‌های مختلف پوست و مخاط تکثیر می‌کند. دوره نهفتگی ویروس از چندهفته و گاهی تا چندسال دیده شده است. انواع HPV به دو گروه سویه‌های پرخطر و کم‌خطر از نظر سرطان‌زایی دسته‌بندی می‌شود. درحالیکه اکثر ویروس‌ها عفونت ماندگار و خفته در سلول‌های بازال اپیدرم ایجاد می‌کنند، تیپ‌های سرطان‌زا، قابلیت اینتگره[۲۳] شدن در DNA انسان و تکثیر مادام‌العمر همراه با تکثیر سلول‌های عادی و کمک به تومورزایی را دارند. HPV 6, 11 در تومورهای مقعدی و سرطان سر و گردن (اغلب با درگیری حلق، لوزه‌ها و انتهای زبان) و همچنین بیماری پاپیلوماتوز تنفسی راجعه با درگیری مسیر هوایی در کودکان بیشترین اهمیت را دارد. HPV 16 بعنوان شایع‌ترین تایپ و HPV 18 انکوژن‌ترین انواع HPV در سرطان دهانه رحم شناخته می‌شوند. انواع کم خطر دیگر ژنوتیپ‌های ایجاد کننده زگیل تناسلی شامل ۶ و ۱۱ و ۴۰ و ۴۲ و ۴۳ و ۴۴ و ۵۴ و ۶۱ و ۷۲ و ۷۳ و ۸۱ هستند. سایر تیپ‌ها می‌توانند بسته به گرایش بافتی آن ویروس نواحی مختلفی را درگیرکنند. زگیل[۲۴] بصورت ضایعات خوش‌خیم و خود بهبود یابنده، اکثراً کف پا، روی دست و سطح را درگیر می‌کنند.

زگیل‌ها خودمحدودشونده و با قابلیت عود مجدد هستند؛ اما عفونت ظرف ۳ سال از طریق ایمنی سلولی محدود و برطرف می‌شود. با اینحال در افرادی از جمله بیماران با نقص ایمنی، عودهای مکرر با تظاهرات شدید اتفاق می‌افتد.

تشخیص زگیل با معاینه بالینی انجام می‌شود. انجام آزمایش پاپ اسمیر (اسمیر پاپانیکولائو)[۲۵] جهت غربالگری برای دیدن تغییرات سیتولوژیکی ناشی از فعالیت HPV و سلول‌های کویلوسیت واکوئله در زنان به طور مرتب پیشنهاد می‌شود.

روش انتخابی تشخیص ابتلا به HPV و تشخیص ژنوتیپ‌های درگیر در بیماری به منظور ارزیابی تیپ‌های کم‌خطر و پرخطر PCR است. این روش حساس‌تر از روش سیتولوژی است؛ اما اختصاصیت کمتری دارد و بنابراین باید همراه با سیتولوژی سرویکس به‌کار رود.

اگرچه زگیل‌ها خودمحدودشونده هستند، درمان‌های برپایه کرایوتراپی، سوزاندن بافت، مواد شیمیایی مانند پودوفیلین، تزریق اینترفرون، اسیدتری‌کلرواستیک (TCA) یا اسید بی‌کلرواستیک (BCA) و جراحی برای پاپیلومای حنجره پیشنهاد می‌شود.

در حال حاضر واکسن‌های دوظرفیتی (سرواریکس) برای ژنوتیپ‌های ۱۶ و ۱۸، واکسن دو ظرفیتی (گارداسیل) برای دو نوع کم‌خطر ۶ و ۱۱ و پرخطر ۱۶ و ۱۸ و واکسن ۹ ظرفیتی گارداسیل نیز علیه انواع ۶ و ۱۱ و ۱۶ و ۱۸ و ۳۱ و ۳۳

23. Integration
24. Wart
25. Papanicolaou

و ۴۵ و ۵۲ و ۵۸ در دسترس‌اند. بیشترین اثربخشی واکسن در سنین قبل از شروع فعالیت جنسی است. تزریق واکسن برای دختران و زنان تا ۲۶ سالگی توصیه شده؛ گرچه مطالعات، تأثیرگذاری تزریق در سنین بالاتر را هم گزارش کرده‌اند. بطور کلی بازه زمانی طلایی تزریق در مردان و زنان ۲۶-۹ سال است.

Herpes simplex viruses (HSV)

خانواده هرپس‌ویروس‌ها طیف وسیعی از ویروس‌ها و بیماری‌ها را شامل می‌شوند. همه آن‌ها خاصیت ایجاد عفونت نهفته و فعال شدن دوره‌ای را دارند. ژنوم آن‌ها DNA دو رشته‌ای خطی بوده و پروتئین‌های بسیاری را پس از ورود به سلول کد می‌کنند. این ویروس‌ها دارای پوشش هستند و در برابر اسید، دترجنت‌های قلیایی، حلال‌های آبی مانند کلروفرم و آنزیم‌های پروتئولتیک و خشکی حساس می‌باشند. تمام ویروس‌های این خانواده پس از ورود به سلول‌ها و تکثیر اولیه، منجر به تولید آنتی‌بادی شده و سپس در نورون‌ها مخفی و نهفته می‌شوند تا از دسترس سیستم ایمنی محفوظ بمانند.

ویروس‌های انسانی خانواده هرپس‌ویریده شامل: هرپس سیمپلکس ۱و۲، واریسلا زوستر، ویروس اپشتین-بار ، سایتومگالوویروس، هرپس انسانی تیپ ۶، هرپس ویروس انسانی تیپ ۷ و هرپس ویروس انسانی تیپ ۸ و ویروس B هستند.

Herpes simplex virus 1,2 (HSV 1,2)

این ویروس که ابتدا به عنوان Cold sore شناخته شده بود، سرعت تکثیر بسیار بالایی دارد و اگرچه شدیداً سلول‌ها را تخریب می‌کند (عفونت سیتولتیک)؛ با این‌حال می‌تواند در سلول‌های عصبی عفونت نهفته ایجاد کند. اغلب عفونت‌های اولیه بی‌علامت هستند. با این وجود HSV-1 می‌تواند منجر به بیماری‌های زیر شود:

- ژنژیواستوماتیت در کودکان با علایم تب و گلودرد و ضایعات وزیکولار و التهاب لثه و مخاط تا ۳ هفته، عفونت با ضایعات مشهور به تبخال در اطراف لب‌ها.

- کراتوکنژنکتیویت: در قرنیه و ملتحمه چشم همراه با امکان عود مجدد و کدورت دائمی چشم.

- آنسفالیت: این ویروس در برخی کشورها مانند آمریکا شایع‌ترین عامل آنسفالیت است و در بررسی‌های بیماران مشکوک به این بیماری حتماً یکی از آزمایشات، HSV-1 DNA PCR می‌باشد.

- عقربک هرپسی: بصورت اگزمای پوستی روی انگشتان دست که بیشتر در دندانپزشکان و پرسنل بیمارستانی شایع است.

HSV-2 بیشتر در تبخال‌های تناسلی اهمیت دارد و معمولاً عودکننده است. همچنین تبخال نوزادی به علت تماس نوزاد با ترشحات ویروسی حین زایمان طبیعی مرتبط با این ویروس است. علایم آن شامل ضایعات پوستی، آنسفالیت، و پنومونی در نوزاد می‌باشد. بنابراین در صورت ابتلای مادر لازم است نوزاد با روش سزارین متولد گردد.

در حال حاضر، واکسنی برای این ویروس وجود ندارد و هیچ دارویی روی عفونت نهفته مؤثر نیست. داروهای کنترل‌کننده شکل فعال ویروس مانند آسیکلویر، والاسیکلویر، پن‌سیکلویر و ... می‌باشند.

درخواست بررسی این ویروس می‌تواند جهت تشخیص عفونت‌حاد اولیه هرپس، تشخیص عفونت دستگاه تناسلی، ارزیابی آنتی‌بادی در زنان باردار، ارزیابی کمی آنتی‌بادی در دریافت‌کنندگان پیوند عضو، ارزیابی بیماران مبتلا به تب با علت نامعلوم به‌ویژه در بیماران نقص ایمنی داده شود. این ویروس در CSF، خون، نمونه گلو، مدفوع و وزیکول‌های پوستی قابل جداسازی است. استاندارد طلایی تشخیص HSV کشت ویروس است. سایر روش‌های تشخیص این ویروس شامل بررسی مولکولی به روش PCR و بررسی سرولوژی با روش ایمونوفلورسانس و الایزا در نمونه‌های مشکوک است. لازم به ذکر است امکان واکنش متقاطع آنتی‌بادی‌های این ویروس با واریسلا زوستر و آبله‌مرغان نیز وجود دارد که در تفسیر تست‌های سرولوژی بایستی لحاظ شود. جداسازی ویروس در تشخیص آنسفالیت ویروسی نیز با استفاده از PCR بر نمونه CSF ارجحیت دارد. باید توجه داشت نمونه CSF برای جداسازی ویروس‌های DNAدار مانند HSV، VZV، EBV و CMV باید در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شود و اگر امکان بررسی بلافاصله وجود نداشته باشد باید در دمای ۲۰- تا ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند.

Herpes simplex virus 6 (HSV-6)

این ویروس عامل اگزانتم سوبیتوم یا بیماری ششم نوزادان است و باعث بروز تب، تشنج، راش پوستی با الگوی مشخص شده و اغلب خفیف است. بهترین راه تشخیص این بیماری PCR می‌باشد.

Varicella zoster virus (VZV)

واریسلا زوستر، عامل بیماری بسیار مسری آبله‌مرغان[۲۷] است. بثورات پوستی بصورت وزیکوله و منتشر و دارای غشای مخاطی می‌باشند. این ویروس معمولاً در سنین کم در اکثریت جامعه ایجاد بیماری می‌کند و تا آخر عمر در نورون‌ها مخفی باقی می‌ماند (مانند HSV)؛ اما در تعدادی از بالغین بدنبال افزایش سن و نیز کاهش سیستم ایمنی مجدد فعال شده و ایجاد زونا[۲۸] با علایم شدیدتر می‌کند.

27. Varicella
28. Shingles

این ویروس از راه مجاری تنفسی فوقانی و ملتحمه چشم قابل انتقال است و ابتدا در گره‌های لنفاوی عفونت اولیه ایجاد می‌کند. سپس به کبد و طحال رفته و علایم پوستی بعد از آن قابل مشاهده خواهد بود. مشخصه اصلی راش‌های ایجاد شده، امکان مشاهده همزمان مراحل مختلف بثورات پوستی (ماکول، پاپول، وزیکول، پاسچور) در فرد است. بلافاصله همراه با تب علایم پوستی آشکار می‌شود و محل آن‌ها روی تنه بیشتر از کف دست و پا است.

اگرچه آبله‌مرغان بسیار مسری است، با این حال زونا بعلت نبودن ویروس در سیستم تنفسی تنها از طریق مواجهه با مایع درون راش‌های پوستی قابل انتقال است و همچنین آبله‌مرغان را در افرادی که از قبل با ویروس مواجه نبودند ایجاد می‌کند.

از مشخصه‌های اصلی افتراقی آبله مرغان و آبله (آبله میمونی) این است که در آبله درگیری لنفاوی وجود ندارد و تمام بثورات پوستی پس از قطع شدن تب و تنها در یک مرحله دیده می‌شوند.

شیوع آبله‌مرغان در فصل بهار و ابتدای تابستان بیشتر است و بیشترین شیوع آن در سنین ۶-۲ سالگی گزارش شده است. واکسن آبله‌مرغان در بیماران خاص با نقص سیستم ایمنی به علت احتمال ایجاد عوارض شدیدی چون DIC و عفونت منتشره توصیه می‌شود؛ اما باید توجه داشت این واکسن مانع از بروز زونا نمی‌گردد.

اگرچه شناسایی بیماری اغلب بر اساس تظاهرات بالینی و راش‌های پوستی است، اما وجود انکلوزیون بادی‌های درون هسته‌ای معروف به Cowdry A یا چشم جغدی در نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده از وزیکول‌ها مؤید حضور ویروس است. تست PCR برای این ویروس از حساسیت بالایی برخوردار می‌باشد. بهترین نمونه جهت استخراج ویروس از سلول، ضایعات تاولی هستند. با توجه به درخواست پزشک می‌توان از نمونه‌های خون کامل و مایع مغزی-نخاعی نیز استفاده کرد؛ با این تفاوت که احتمال پاسخ منفی کاذب افزایش می‌یابد. آزمایشات سرولوژی برای بررسی ایمنی‌زایی و تولید آنتی‌بادی ضد ویروس نیز انجام می‌شود. حدود دو هفته بعد از عفونت، IgM قابل شناسایی و نشانه فعال بودن ویروس است. چند هفته بعد نیز IgG افزایش و ایمنی ماندگاری در بدن ایجاد می‌کند و حضور آن می‌تواند نشان‌دهنده واکسینه‌شدن یا عفونت قبلی باشد.

درمان ویروس بر اساس علایم خفیف (حمایتی) و شدید (داروهای آسیکلوویر، فام سیکلوویر، فوسکارنت و همچنین ویدارابین در موارد ابتلا به پنومونی و کودکان با نقص ایمنی) توصیه می‌شود.

Epstein-Barr virus (EBV)

این ویروس لنفوسیت‌های B را آلوده می‌کند و عامل بیماری‌های مونونوکلئوز عفونی[۲۹]، کارسینوم نازوفارنکس، لنفوم‌های هوچگین و غیر هوچگین، و همچنین یکی از عوامل مرتبط با سرطان معده شناخته شده است. مشخصه اصلی این بیماری «هتروفیل مثبت» بودن آن است. این ویروس در سلول‌های اپیتلیال دهانه رحم، حلق، و غدد پاروتید تکثیر می‌کند و در لنفوسیت‌های B بصورت نهفته باقی می‌ماند. اغلب افراد در سنین کودکی با این ویروس مواجه می‌شوند و عفونت بی‌علامتی را تجربه می‌کنند؛ زیرا سیستم ایمنی باعث ایجاد علایم این بیماری می‌شود و کودکان در سنین پایین از سیستم ایمنی ضعیف‌تری برخوردار هستند. ابتلا در سنین جوانی می‌تواند علایم مونونوکلئوزیس را بروز دهد. مونونوکلئوز عفونی نتیجه تولید ایمونوگلوبولین و اتوآنتی‌بادی از سلول‌های جاودان B و آنتی‌بادی‌های هتروفیل مثبت است. این آنتی‌بادی نوعی IgM برعلیه آنتی‌ژن‌های سطحی RBC می‌باشد. دوره کمون این بیماری تا ۵۰ روز و علایم آن شامل سردرد، بی‌حالی، خستگی، گلودرد و سپس بزرگی طحال[۳۰] و غدد لنفاوی می‌باشد. در موارد کمی علایم هپاتیت نیز دیده می‌شود. مورفولوژی سلول‌های T ، سلول‌هایی بزرگ و آتیپیک و معروف به Downey cells بوده و تعداد آن‌ها در خون افزایش می‌یابد. پس از دوره ده روزه‌ی تب، و شروع درمان، علایم راش پوستی مشاهده می‌شود که مؤید این بیماری است.

بیماران معمولاً نیازی به درمان ندارند و طی ۴-۲ هفته خودبخود بهبود می‌یابند. در افراد با نقص ایمنی یا دریافت‌کننده پیوند و برخی موارد دیگر، علایم شدیدتری از جمله مننگوآنسفالیت، سندروم گیلن‌باره، انسداد و پارگی حلق ممکن است دیده شود.

انتقال این ویروس دهانی-حلقی بوده و یک‌بار عفونت منجر به مصونیت دائمی می‌شود.

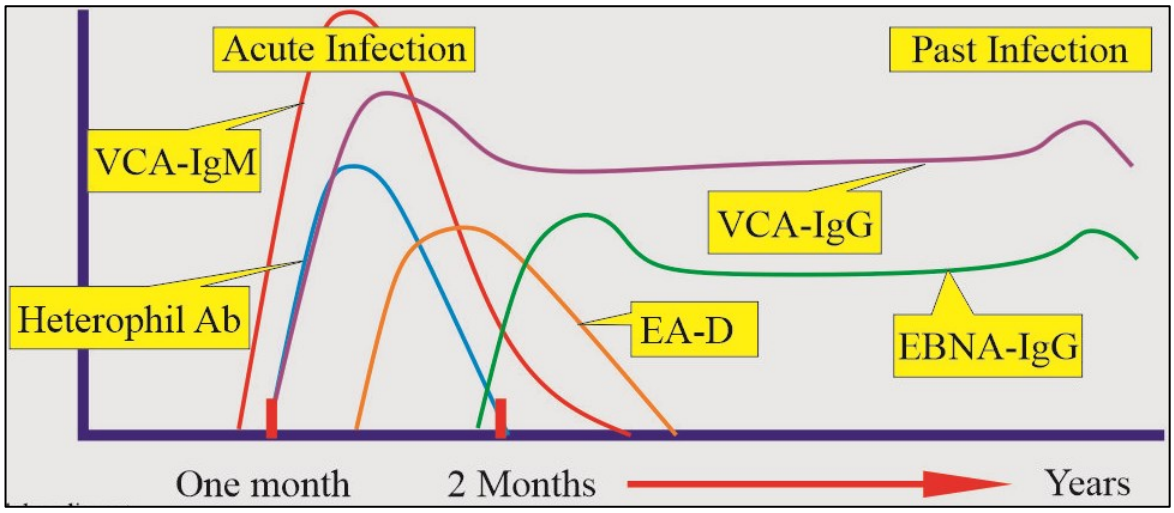
نمونه‌های مناسب جهت آزمایش شامل بزاق، خون، و بافت لنفوئیدی هستند. حساس‌ترین روش آزمایشگاهی هیبریداسیون اسید نوکلئیک و سپس PCR است. اما سرولوژی نیز به تشخیص کمک می‌کند.

الگوهای آنتی‌بادی در تأیید عفونت ارزشمندند. افزایش IgG علیه VCA[۳۱] یا آنتی‌ژن کپسید ویروس در ابتدای عفونت دیده می‌شود و پس از بهبودی و کاهش، تا پایان عمر ماندگار است (شکل ۷). گرچه وجود آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن هسته‌ای (EBNA-1) نشان‌دهنده عفونت قبلی است؛ اما افزایش آن می‌تواند عفونت اولیه را نیز تأیید کند. بررسی حضور آنتی‌بادی هتروفیل حین عفونت با روش آگلوتیناسیون در بیماری مونونوکلئوز اهمیت دارد. تست مونواسپات[۳۲] با استفاده از گلبول‌های قرمز اسب به روش لاتکس آگلوتیناسیون برای مشاهده آنتی‌بادی‌های هتروفیل جهت غربالگری استفاده می‌شود. حضور این اتوآنتی‌بادی‌ها منجر به کلامپ و آگلوتیناسیون RBCهای جداشده از اسب

29. Infectious mononucleosis (IM)
30. Splenomegaly
31. Viral Capcid Antigen
32. Monospot

می‌شود. گرچه مونواسپات بعنوان روشی سریع و در دسترس ارزشمند است؛ اما باید توجه داشت وجود آنتی‌بادی هتروفیل تنها در بزرگسالان اهمیت دارد و نه نوزادان. به علت حساسیت پایین مونواسپات، این تست به تنهایی جهت تشخیص توصیه نمی‌شود.

تاکنون واکسنی علیه این ویروس ساخته نشده است و درمان اغلب حمایتی است.



شکل ۷: وضعیت سرولوژیک ویروس اپشتین-بار در مرحله عفونت حاد و گذشته

Cytomegalovirus (CMV)

اهمیت این ویروس در ناهنجاری‌های مادرزادی است. سایتومگالوویروس در فیبروبلاست، اپیتلیال و ماکروفاژها تکثیر و در لنفوسیت‌ها، غدد بزاقی، سلول‌های بنیادی مغز استخوان، سلول‌های کبد و کلیه مخفی می‌شود. بنابراین اصلی‌ترین منبع انتشار ویروس، بزاق و ادرار خواهد بود. اغلب عفونت‌ها در افراد سالم فاقد علامت یا خفیف است؛ اما در بیماران با نقص ایمنی احتمال عفونت منتشر از جمله پنومونی وجود دارد.

ابتلا به بیماری نیازمند تماس مستقیم شخص با شخص است. این ویروس از طریق خون، بافت و پیوند عضو، ترشحات بدن (بزاق، ادرار، شیر و مایع اسپرم) قابل انتقال است. ویروس پس از عفونت اولیه، در بدن مخفی می‌ماند، اما با تغییر شرایط سیستم ایمنی می‌تواند مجدداً فعال شود و عفونت سیستمیک ایجاد کند.

در افراد با ایمنی طبیعی، علایم مونونوکلئوز مشابه EBV ممکن است مشاهده شود؛ با این تفاوت که از نظر آنتی‌بادی هتروفیل منفی هستند.

مهم‌ترین عارضه عفونت مادرزادی این ویروس، اختلالات ذهنی، ناشنوایی یک یا دوطرفه، بزرگی کبد و طحال و آهکی شدن مغز است. اهمیت دیگر CMV در پیوند عضو است؛ چرا که عامل ناموفق بودن بسیاری از پیوندهای کلیه است.

در تشخیص این ویروس، مشاهده سلول‌های معروف به سیتومگال (بزرگ‌شده) اهمیت دارد. مشاهده انکلوزیون بادی‌های چشم جغدی بازوفیلیک درون هسته و سلول‌های چند هسته‌ای نیز مشخصه سیتولوژی این ویروس است. نمونه مناسب جهت جداسازی ویروس CMV، شامل نمونه گلو، بزاق، خون، ادرار و بیوپسی بافت است.

اگرچه کشت سلولی قطعی‌ترین روش شناسایی CMV است، اما در آزمایشگاه‌ها روش PCR جایگزین شده است. باید توجه داشت PCR تنها در عفونت فعال کاربرد دارد و نه برای ویروس نهفته. بهترین نمونه برای آزمایش PCR خون و ادرار است. آزمایشات سرولوژی در افراد با ایمنی سالم جهت شناسایی عفونت کنونی (IgM) و عفونت قبلی (IgG) با ارزش است.

واکسنی علیه این ویروس وجود ندارد؛ با این حال در بیماران پیوند کلیه، ایمونوگلوبولین قابل تجویز است.

داروی اختصاصی برای عفونت سیتومگالوویروس، گان‌سیکلووویر بخصوص در بیماران پیوند کلیه است.

Hepatitis A virus (HAV)

این ویروس از خانواده فلاوی‌ویریده و جنس هپاتوویروس دارای RNA تک‌رشته است و درحدود ۴۰ درصد موارد، حاد هپاتیت را ایجاد می‌کند.

ویروس از طریق گوارشی منتقل می‌شود و انتقال از طریق خون و نیدل به ندرت ممکن است ایجاد شود. HAV از طریق دهان و حلق وارد شده و سپس از طریق اپیتلیال روده وارد خون می‌شود و از آنجا به کبد هدایت و در پارانشیم کبد تکثیر می‌کند و از طریق صفرا خارج و در مدفوع دفع می‌شود. احتمالاً اثرات تخریبی کبدی و زردی، ناشی از سیستم ایمنی است. برخلاف HBV و HCV این ویروس هپاتیت مزمن ایجاد نمی‌کند و خودمحدود شونده است.

ویروس از ۱۰ روز قبل از تولید آنتی‌بادی و ایجاد زردی، در مدفوع قابل ردیابی است. دوره کمون ۵۰-۱۰ روزه است و پس از انتقال گوارشی بطور ناگهانی علایم هپاتیت را ایجاد می‌کند. هپاتیت برق‌آسا[۳۳] می‌تواند منجر به مرگ تعداد زیادی از موارد مبتلا شود. بیماری در بزرگسالان شدیدتر و در اکثر کودکان، عفونت مخفی و بدون علامت است. عود بیماری تا

33. Fulminant

۴ ماه بعد از بهبود شایع می‌باشد. یکی از وجه تمایزهای هپاتیت A با سایر ویروس‌ها، تب بیش از ۳۸ درجه سانتی‌گراد است. نارسایی کبد، آنسفالوپاتی و به‌ندرت علایم ازدیاد حساسیت تیپ III نیز دیده می‌شود. یک بار ابتلا به ویروس منجر به مصونیت دائمی می‌شود.

ضد عفونی از طریق UV، هیپوکلریت، اتوکلاو، و کلر زدن به آب امکان‌پذیر است.

بهترین راه ردیابی ویروس، تشخیص آنتی‌بادی IgM علیه ویروس با الایزا یا رادیوایمونواسی است. همچنین شناسایی ویروس از طریق RT-PCR در نمونه مدفوع و یا بیوپسی انجام می‌شود. ظرف مدفوع در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد باید به آزمایشگاه منتقل شود.

بهترین راه پیشگیری از ابتلا، عدم استفاده از آب و غذای مشکوک به آلودگی، و قطع مسیر انتقال مدفوعی-دهانی است. کلرزنی آب، شست‌وشوی دست‌ها خصوصاً در مراکز نگهداری کودکان و بیمارستان‌های اعصاب و روان توصیه می‌شود. واکسن HAV در نوزادان زیر ۲ سال و با دو دوز می‌تواند تزریق شود.

Hepatitis E virus (HEV)

HEV در خانواده هپویریده و جنس هپویروس قرار دارد و ژنوم آن RNA تک‌رشته است. انتقال ویروس مدفوعی-دهانی بوده و بیشتر در آب‌های آلوده به فاضلاب دیده می‌شود. اگرچه گزارشات محدودی از علایم مزمن داده شده، اما این ویروس اغلب مسئول بیماری‌های حاد و مشابه علایم HAV است. HEV سنین بالاتری را نسبت به HAV درگیر می‌کند و مرگ و میر بیشتری نیز دارد. این ویروس مشترک بین انسان و حیوان است و در زنان باردار می‌تواند منجر به علایم شدید هپاتیت برق‌آسا شود که در ۲۰٪ موارد منجر به مرگ می‌شود.

Hepatitis B virus (HBV)

ویروس‌های هپاتیت B و C شایع‌ترین علل سیروز کبدی، سرطان کبد و مرگ و میر ناشی از هپاتیت‌های ویروسی هستند. امروزه بالغ بر ۱۲۰ کشور در جهان از جمله ایران به هدف سازمان جهانی بهداشت مبنی بر حذف هپاتیت‌های ویروسی تا سال ۲۰۳۰ متعهد شده‌اند. HBV دارای DNA دورشته‌ای از خانواده هپادناویروس‌ها است. در ایران شیوع این ویروس بین ۳-۱ درصد در مناطق مختلف گزارش شده است.

دوره کمون بین یک تا ۶ ماه است.

راه‌های انتقال ویروس: ۱- انتقال خون و فرآورده‌های خونی (وسایل مشترک تزریقی، خالکوبی، بیماری‌های نیازمند دریافت خون، دیالیز، و پیوند عضو، دندان پزشکی با تجهیزات غیراستریل، نیدل استیک شدن پرسنل بهداشت و درمان،

ماشین اصلاح و مسواک آلوده مشترک و ...)، ۲- ارتباط جنسی محافظت نشده، ۳- انتقال از مادر به نوزاد در دوران بارداری و حین زایمان هستند.

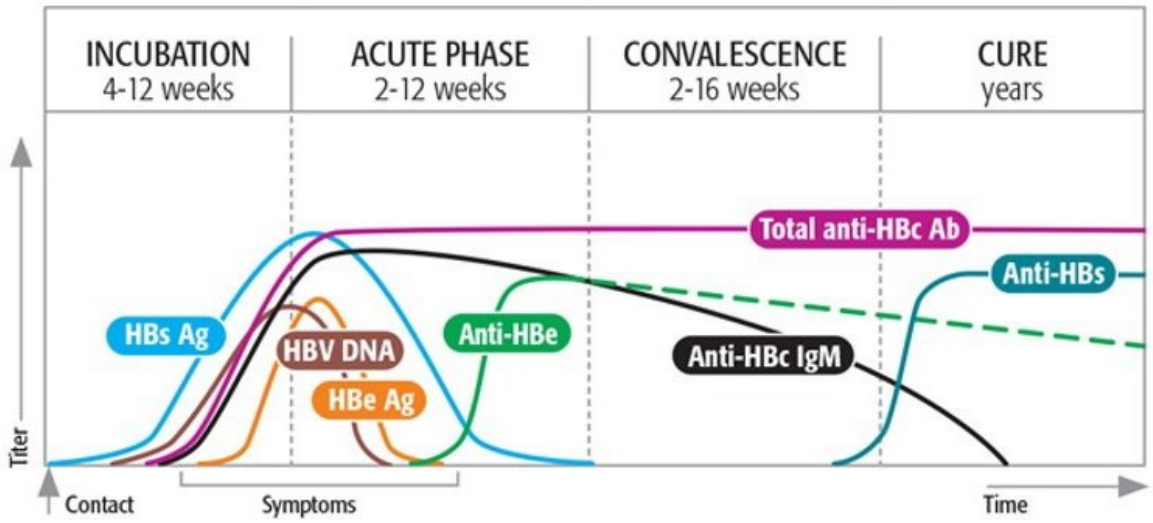
تشخیص عفونت از طریق تست‌های سرولوژی و مولکولی در دسترس است. ۱۰-۲ هفته بعد از تماس با ویروس و قبل از شروع علایم بالینی، HBs Ag در سرم شناسایی می‌شود. اگر عفونت حاد خود محدود شونده باشد، ویروس طی ۶ ماه از سرم پاک می‌شود؛ اما اگر بیش از ۶ ماه HBs Ag در خون وجود داشته باشد، عفونت مزمن شده است.

HBs Ab بعد از چند روز از پاک شدن آنتی‌ژن آن در خون ظاهر می‌شود که در این فاصله (یعنی از زمان ناپدیدشدن HBs Ag تا ظاهر شدن HBs Ab که دوره پنجره نامیده می‌شود) تنها اندازه‌گیری HBc Ab (IgM) به تشخیص عفونت حاد کمک می‌کند. تست HBV DNA PCR نیز برای تشخیص ژنوم ویروس کاربرد دارد.

نمونه سرم جهت آزمایش HBV فاقد همولیز، لیپمیک، و ایکتروس می‌باشد و تا ۲۴ ساعت در دمای محیط، تا یک هفته در یخچال و تا ۲۸ روز در فریزر قابل نگهداری است.

Commonly Encountered Serologic Patterns of Hepatitis B Infection					
HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc	HBeAg	Anti-HBe	Interpetation
+	-	IgM	+	-	Acute hepatitis B, high infectivity
+	-	IgG	+	-	Chronic hepatitis B, high infectivity
+	-	IgG	-	+	1.Late acute or chronic hepatitis B ,low infectivity 2.HBeAg negative("precore-mutant") hepatitis B (chronic or , rarely, acute)
+	+	+	+/-	+/-	1.HBsAg of one subtype and heterotypic anti-HBs(common) 2.Process of seroconversion from HBsAg to anti-HBs(rare)
-	-	IgM	+/-	+/-	1.Acute hepatitis B 2.Anti-HBc"window"
-	-	IgG	-	+/-	1.Low-level hepatitis B carrier 2.Hepatitis B in remote past
-	+	IgG	-	+/-	Recovery from hepatitis B
-	+	-	-	-	1. Immunization with HBsAg(after vaccination) 2 .Hepatitis B in the remote past (?) 3.False-positive

شکل ۸ : الگوهای معمول سرولوژی در عفونت HBV



شکل ۹: الگوی زمانی تشخیصی ویروس HBV

تشخیص عفونت حاد بر مبنای وجود HBs Ag و HBc Ab IgM است. در این بیماران INR بیشتر از ۱/۵ و تا بیش از ۴ هفته از شروع علایم، بیلی‌روبین آن‌ها بالای ۳ خواهد بود. درمان آن هم بر مبنای وضعیت بالینی و حمایتی است. احتمال نارسایی کبد در این مرحله بسیار ناچیز است. در افرادی که سیستم ایمنی سالمی دارند احتمال تبدیل این مرحله به عفونت مزمن کمتر از ۵٪ است. دربیماران با نقص ایمنی یا مسن یا مبتلایان به HIV و HCV همزمان، می‌توان از درمان‌های ضد ویروسی مانند تنوفوویر و انتکاویر استفاده کرد. اگر HBs Ag بیماران در دو آزمایش متوالی با ۴ هفته فاصله منفی شد، می‌توان درمان را قطع نمود. HBe Ab نشان‌دهنده پایان عفونت حاد و بهبودی است.

در عفونت مزمن، HBe Ag نشانگر پیش‌آگهی بد است. این آنتی‌ژن تنها هنگامی که ویروس در خون باشد قابل مشاهده است و نشان‌دهنده عفونی‌بودن و امکان انتشار بیماری به افراد دیگر است. در عفونت مزمن که با تداوم HBs Ag بیش از ۶ ماه در خون مشخص می‌شود، درمان بسته به متغیرهای بالینی اعم از التهاب کبد و سیروز، پاسخ ایمنی به عفونت (مانند HBe Ag) و فاکتورهای ویروسی (بار ویروس و ژنوتیپ ویروس) و سایر عوامل خطر برای پیشرفت (مانند سن بالای ۴۰ سال، سابقه خانوادگی سرطان) تعیین می‌شود.

هدف از درمان ضد ویروسی، سرکوب HBV DNA و منفی شدن HBe Ag و در نهایت منفی شدن HBs Ag است. انواع مختلفی از داروها در مرحله مزمن مانند اینترفرون پگیله، تنوفوویر و انتکاویر تجویز می‌شود.

مهمترین راه پیشگیری از ابتلا به HBV واکسیناسیون است. ایمونوگلوبولین اختصاصی برای نوزادانی که از مادران آلوده متولد شده‌اند و افرادی که نیدل استیک شده باشند و یا افراد غیر ایمنی که رابطه جنسی با افراد مشکوک داشته‌اند

نیز محافظت کننده است. رعایت نکات بهداشتی و جلوگیری از رفتارهای پرخطر و آموزش‌های فرهنگی در این زمینه نیز به پیشگیری بسیار کمک می‌کنند.

واکسن نوترکیب HBV در سه نوبت (۰، یک‌ماه، و شش‌ماه بعد از اولین تزریق) به صورت عضلانی تزریق می‌شود.

Hepatitis C virus (HCV)

HCV از ویروس‌های Blood born و از خانواده فلاوی‌ویریده با ژنوم RNA تک‌رشته است. شایع‌ترین راه انتقال آن خونی و از طریق وسایل مشترک تزریقی و سایر وسایل نوک تیز، خالکوبی، و ... است. انتقال از طریق رفتارهای پرخطر و محافظت‌نشده جنسی، انتقال مادر به جنین، با احتمال و درصد کمتری می‌توانند رخ دهند. مهمترین گروه‌های در معرض ویروس در ایران معتادان تزریقی و افراد با روابط پرخطر جنسی و همچنین گروه‌های نیازمند به دریافت مداوم خون و دیالیزی هستند.

ایران جزو کشورهای با شیوع کم HCV در جمعیت عمومی (کمتر از ۰/۵٪) به شمار می‌رود.

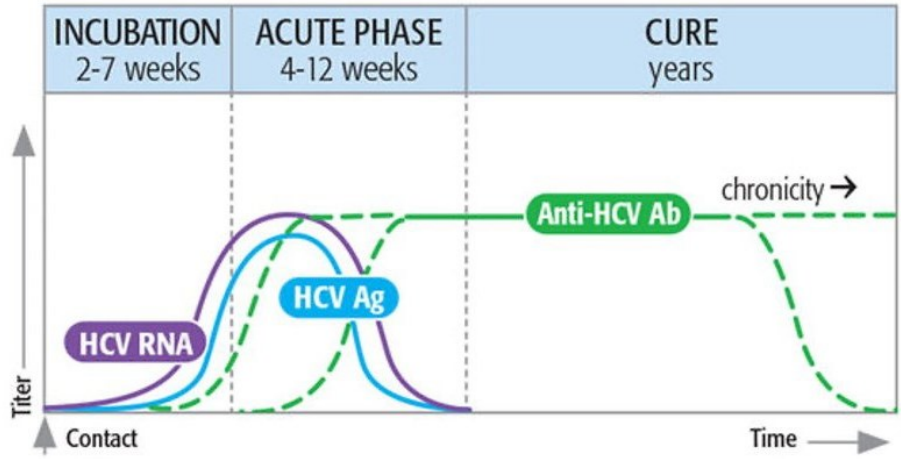
غربالگری برای تشخیص HCV در ایران بر اساس بررسی آنتی‌بادی ضد ویروسی در گروه‌های زیر بطور سالانه توصیه می‌شود:

بیماران دریافت‌کننده خون و فرآورده‌های خونی قبل از سال ۱۳۷۴؛ افراد با سابقه مصدومیت و جانبازی در جنگ؛ تزریق‌کنندگان مواد مخدر و انواع نیروزا بدون تجویز پزشک؛ زندانیان یا افراد با سابقه زندان؛ بیماران هموفیلی و تالاسمی؛ بیماران با سابقه پیوند عضو؛ افراد با رفتارهای جنسی پرخطر؛ افراد با سابقه حجامت و خالکوبی؛ افرادی که با بیماران HIV مثبت زندگی می‌کنند؛ بیماران دیالیز یا با سابقه قبلی دیالیز؛ مردان با گرایش‌های هم‌جنس‌بازی؛ کارکنان مراکز بهداشتی و درمانی با سابقه تماس‌های شغلی از طریق سوزن آلوده؛ دریافت‌کنندگان خون و عضو.

دوره کمون بیماری بین دو هفته تا ۵ ماه متغیر است. عفونت HCV به دو شکل حاد و مزمن رخ می‌دهد. تشخیص طی ۶ ماه اول مواجهه، ابتلای به عفونت حاد را تأیید می‌کند. با اینکه اکثر موارد این فاز علامتی ندارند؛ اما شایع‌ترین علایم گزارش شده شامل علایم شبه آنفلوآنزا، خستگی، درد شکم، تهوع، زردی چشم و پوست است. ۱۵٪ افراد طی این بازه زمانی خودبخود بهبود می‌یابند. در سایر افراد بیماری به فرم مزمن تبدیل می‌شود که بی‌علامت است؛ اما می‌تواند آسیب‌های پیشرونده کبدی را ایجاد کند. طی ۲۰ سال حدود یک سوم بیمارانی که درمان نشده باشند، در این فاز به سیروز کبدی مبتلا می‌شوند که از میان آن‌ها حدود یک سوم بعد از گذشت ده سال به کارسینوم هپاتوسلولار (سرطان کبد) مبتلا می‌گردند. میانگین عمر و بقای افراد مبتلا به سرطان ناشی از HCV حدود ۲۰ ماه است.

باتوجه به اینکه حدود ۱۵درصد موارد مبتلا به فرم حاد، بدون درمـان بهبـود می‌یابنـد، HCV Ab در آن‌هـا مثبـت می‌ماند و راه تشخیص بهبودی، تست منفی HCV RNA RT-PCR و منفی بـودن Core-Ag اسـت. (روش HCV Core Ag در ایران فعلا امکان‌پذیر نیست.)

مثبت بودن آنتی‌بادی به روش الایزا یا RIBA لزوماً عفونت فعال را ثابت نمی‌کند و تست تأییدی یکی از دو آزمایش مذکور خواهد بود. برای شروع درمان بایستی PCR بصورت کیفی یا کمی مثبت شده باشد (شکل ۸).



شکل ۱۰ :الگوی تشخیص آنتی‌ژن، آنتی‌بادی و ژنوم HCV

هدف از درمان HCV پیشگیری از عوارض کبدی از سیروز و فیبروز و التهاب نکروز کبد تا کارسـینومای هپاتوسـلولا، بهبود کیفیت زندگی، و پیشگیری از انتقـال HCV اسـت. بـا توجـه بـه اینکـه داروهـای موجـود در کشـور علیـه تمـام ژنوتیپ‌های ویروسی در چرخش در ایران مؤثر هستند، انجام تست ژنوتایپینگ لزومی ندارد و صرفاً اهمیت پژوهشی دارد. تست HCV PCR کمّی نیز در انتخاب نوع دارو و مدت درمان لازم نیست و تست کیفی کفایـت می‌کنـد. بـرای شـروع درمان، اگرچه آنزیم‌های کبدی (ALT، AST) باید چک شوند؛ اما در صورتی که نرمال باشند، بـا وجـود RNA مثبـت درمان شروع می‌شود و آنزیم کبدی مبنا قرار نمی‌گیرد. انجام تست HBsAg و HIV Ab در بیماران مبـتلا بـه HCV برای تعیین نوع درمان ضروری است. بررسی ALT، AST و کراتی‌نین سرم در بیماران درمـان شـده بصـورت دوره‌ای و هر چهار هفته پیگیری می‌شود. (ALT و AST بیش از دوبرابر نتیجه قبل، و کراتی‌نین بالای ۳ نیاز به ارجاع بـه مراکـز تخصصی درمانی دارد.) مثبت شدن HCV PCR کیفی در معتادان تزریقی بعد از درمان به معنای ابتلای مجـدد اسـت؛ امّا در سایر بیماران نشانه شکست درمانی محسوب و نیاز به ارجاع به مراکز سطح بالاتر دارد. آزمایش AFP و سونوگرافی کبد در بیماران سیروتیک درمان‌شده بصورت دوره‌های ۶ ماهه توصیه می‌شود.

رژیم‌درمـــانی شـــامل داروهـــای Daclatasvir-Sofosbuvir ، Velpatasvir-Sofosbuvir ، Sofosbuvir-Ledipasvir برحسب شرایط بین ۱۲ تا ۲۴ هفته (بسته به شرایط سیروتیک و غیر سیروتیک) تجـویز می‌شـود. هـدف نهایی درمان، SVR است. به این‌معنا که RNA ویروس در سرم یا پلاسما، ۱۲ هفته بعد از درمان (SVR 12) بـا روش مولکولی حساس به 15 IU/ml یا کمتر از آن (غیر قابل تشخیص) برسد.

تاکنون واکسنی برای این ویروس تأیید نشده است و پیشگیری تنها از طریق کاهش احتمال مواجهه با ویروس اسـت. در مبتلایان به HCV که سـابقه واکسیناسـیون HBV ندارنـد، تزریـق سـه نوبـت واکسـن HBV و همچنـین HAV پیشنهاد می‌شود.

Hepatitis D virus (HDV)

این ویروس کوچکترین ویروس بیماری‌زای انسانی است و دارای RNA تک‌رشته حلقوی است. آنتی‌ژن‌های سـطحی این ویروس HBsAg (برگرفته از آنتی‌ژن سطحی HBV هنگام خروج از سلول آلوده) هستند.

HDV به دلیل کوچکی ژنوم، ویروس ناقصی اسـت و انگـل ویـروس HBV شـناخته می‌شـود. بیمـاری‌زایی HDV وابسته به HBV است. به این صورت که یا عفونت مضاعف[۳۷] رخ می‌دهد (اضافه شدن عفونت HDV به عفونت HBV) که در این صورت بسیار سریع و شدید پیشرفت می‌کند؛ و یا عفونت همزمان[۳۸] رخ می‌دهد (آلودگی همزمان با دو ویروس که بصورت حاد و خود محدودشونده است و به ندرت مزمن می‌شود و تا ۳ برابر خطر ابتلا بـه هپاتوسـلولار کارسـینوما را افزایش می‌دهد).

در مبتلایان به HDV، هپاتیت برق‌آسا[۳۹] شایع است و با آنسفالوپاتی کبدی، نکروز توده‌های کبدی و مرگ و میـر در ۸۰٪ موارد همراه است.

تشخیص بالینی با ردیابی آنتی‌ژن دلتا به روش الایزا یا رادیوایمونواسی و یا ردیابی ژنوم توسط RT-PCR امکان‌پـذیر است.

در مبتلایان به HDV، آنتی‌بادی علیه HBe مثبت است و ویرمی بالا است. تکثیر HDV منجـر بـه کـاهش تکثیـر HBV و منفی‌شدن HBV DNA می‌شود.

37. Superinfection
38. Co-infection
39. Fulminant Hepatitis

در عفونت همزمان، Anti HBc اولین آنتی‌بادی قابل مشاهده است که پس از HBsAg و سپس HDV Ag مثبت می‌شود. در عفونت مضاعف، Anti HDV مثبت و Anti HBc منفی است. در عفونت مخفی نیز تنها آنتی‌ژن دلتا مثبت است. بنابراین HBc IgM فاکتور مهمی در افتراق عفونت همزمان از عفونت مضاعف است.

HDV در تمام جهان شیوع دارد. انتشار ویروس از راه خون بوده و انتقال جنسی با احتمال کمتری نسبت به HBV همراه است. پیشگیری از ابتلا به HDV از طریق پیشگیری از ابتلا به HBV می‌تواند انجام شود. عفونت HDV درمانی ندارد و تنها اینترفرون آلفا می‌تواند اثرات هپاتیت مزمن ناشی از آن را کاهش دهد.

منابع

- Fenner and White's Medical Virology, 5th Edition.

- Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, Leman PA, Mynhardt JH, Harvey S. The clinical pathology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. Rev Infect Dis. 1989; 11(suppl 4): 794 – 800.

- Richard A. Mc Pherson, Matthew R. Pincus. Henry’s Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Method, 23rd edition, 2017, Elsevier

- اصول مستندسازی و مستندات در آزمایشگاه پزشکی، حسین دارآفرین، پیام‌رسان، تهران، ۱۳۹۱

- مجموعه دستورالعمل‌های مراقبت و درمان، مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی، فصل مشاوره و تشخیص HIV ، ویرایش چهارم.

- راهنمای درمان هپاتیت سی مزمن در ایران، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر، اداره هپاتیت ۱۳۹۹.

- راهنمای کشوری مراقبت و درمان عفونت‌های آمیزشی، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، اداره کنترل ایدز و بیماری‌های آمیزشی، ۱۴۰۱

- راهنمای درمان هپاتیت بی مزمن در ایران، محمدمهدی گویا، معاونت بهداشت، مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر، ۱۳۹۹

- دستورالعمل کشوری مراقبت،پیشگیری از حیوان‌گزیدگی و هاری در انسان، مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر، ۱۴۰۱. دسترسی در سایت : icdc.behdasht.gov.ir

- مراقبت‌های ادغام‌یافته سلامت میانسالان، ویروس پاپیلومای انسانی، ویژه کارکنان ستادی و ارائه‌دهندگان خدمات، طاهره سوری، انتشارات اندیشه ماندگار، قم ۱۳۹۸.

- راهنمای مراقبت و کنترل بیماری آنفلوانزا (آنفلوانزای فصلی-آنفلوانزای پرندگان-آنفلوانزای پاندمی)، معاونت سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، ۱۳۸۷.

- دستورالعمل اجرایی مراقبت از آنفلوانزا و شبه آنفلوانزا، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، ۱۳۹۴

- راهنمای مدیریت، برنامه‌ریزی و آمادگی مقابله با پاندمی و اپیدمی‌های گسترده ناشی از آنفلوانزا و بیماری‌های تنفسی حاد واگیردار، مرکز مدیریت بیماری‌های واگیر، اداره مراقبت، ۱۴۰۱

- راهنمای جامع نظام مراقبت بیماری‌های واگیر برای پزشک خانواده، دکتر احمد رئیسی، تهران، اندیشمند، ۱۳۹۱