



PİCORNAVİRUSLAR
Prof. Dr. İştar Dolapçı
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ AD
28 Nisan 2017

Öğrenim amaç ve hedefleri

- *Picornaviridae ailesi içindeki virusları sıralamak
- *Picornavirusların genel özellikleri ve replikasyonlarını bilmek
- *Poliovirusların patogenezi ve oluşturdıkları hastalık tablolarını tanımlayabilmek
- *Poliovirusların laboratuvar tanı yöntemlerini sıralayabilmek
- *Poliovirusların epidemiyolojik özellikleri ve hastalıklarından korunma yolları hakkında detaylı bilgi sahibi olmak

Ders içeriği

- *Picornaviridae ailesinin genel özellikleri ve replikasyonları
- *Poliovirus patogenezi ve kliniği
- *Poliovirus laboratuvar tanı yöntemleri
- *Polioviruslarda epidemiyoloji ve korunma yolları

Picornaviridae Familyası

1. Genus: **Enterovirus**
 - **Poliovirus**
 - Cocksackievirus
 - Cocksackievirus A
 - Cocksackievirus B
 - Echovirus
 - **Rhinovirus**
2. Genus: **Hepatovirus**
 - Hepatit A virüs
3. **Kobuvirus**
 - Aichivirus
4. Genus: **Parechovirus**
 - Parechoviruslar
5. Genus: **Aphthovirus**
 - Foot and mouth disease virusları (sığırlarda)
6. Genus: **Cardiovirus**
 - Cardioviruslar
 - Encephalomyelocarditis virüs (kemirgenlerde)

Picornaviridae Familyası

Geniş bir virus ailesidir. En küçük viruslardır. Sublinik enfeksiyonları daha yaygındır. Etiyolojiyi tahmin etmek güçtür çünkü; “farklı viruslar aynı klinik sendroma yol açabileceği gibi aynı virus farklı klinikler yapabilir”.

Picornavirusların özellikleri

Genom

Tek iplikli,
(+) polariteli RNA

Zarf

Yok

Kapsid

İkozahedral simetri

Replikasyon

Sitoplazmada

4 adet major protein (VP 1 – 4); 1 adet minör proteinleri (VPg) vardır.

Viral Genom

VPg

- Viral protein genom
- Genoma 5' ucundan bağlıdır
- Genomun kapsid içerisine paketlenmesinde görev alır
- Viral RNA sentezini başlatır

PolyA

- 22-24 aa büyüklüğündedir
- Genoma 3' ucundan bağlıdır
- RNA'nın enfektivitesi üzerine etkilidir

VP 1, 2 ve 3 virus yüzeyinde bulunan ana antijen bağlama bölgeleridir. Bu bölgeler viral enfeksiyonun nötralizasyonunda tutulurlar. VP4 daha iç bölgede yer alır; viral RNA ile ilişkilidir. Virus partikülünün yüzeyinde bir "yarık" (kanyon) bölgesi vardır. Konak hücreye tutunmayı sağlayan "reseptör bağlayıcı bölge" bu kanyonun tabanının hemen yanında yer alır. Bu yerleşim şekli, antikorlar bu yarıktan içeri sığmadığı için; virusun konaktaki antikorlardan etkilenmesini önler. Picornaviruslar hücre yüzey reseptör spesifitelerine göre gruplandırılabilir.

Replikasyon

VP1 proteini ile konak hücreye bağlanır. Polio ve Rhinovirus için reseptörü Ig gen süperailisi üyeleridir.

Endositoz ile hücreye girer. Viral RNA hücre sitoplazması içine salınır. Hücre içine giren viral RNA'nın ribozoma bağlanması için **VPg'nin ayrılması** gerekir. Viral RNA, mRNA olarak ribozomlarda okunur (**Pozitif polariteli** RNA enfeksiyöz olup, doğrudan polipeptin sentezini sağlar). Yeni viral RNA'ların sentezlenmesi için RNA bağımlı RNA-polimeraz üretimi gerçekleşmelidir. Diğer taraftan üretilen polipeptin proteinazlarla kesilerek VP1-4 oluşturulur. Progenivirüs RNA'larının sentezi, bunların okunması ile yapısal proteinlerin oluşturulması ve viral genomla birleştirilme aşamalarının tümü **sitoplazma** da gerçekleşir. Olgunlaşan yeni viral partiküller **hücrenin lizisi ile** dışarı çıkarlar. Tomurcuklanma ile dışarı çıkmadıkları için zarf yapısı kazanamazlar. Zarfları olmadığı için; eter, kloroform, alkole dirençlidirler. Bu aşamaların tamamı çoğu picornaviruslarda 5-10 saat sürer.

POLİOVİRUS

Poliomyelit etkenidir. MSS'nin ciddi bir akut enfeksiyonudur. Spinal korddaki motor nöronların yıkımı nedeniyle flask paralizi ile sonuçlanan bir hastalıktır. Bununla birlikte, poliovirus enfeksiyonlarının çoğu subklinik seyirlidir!

Genel Özellikleri

***Tipik bir enterovirusdur.** 55°C'de 30 dk.da inaktive olur. Magnezyum varlığında stabilitesi artar. Oda ısısında günlerce, +4°C'de haftalarca, -20°C'de yıllarca canlı kalır. UV ışınına ve kuruluğa dayanıksızdır.

*Bilinen tek enfeksiyon kaynağı insanlardır. Sınırlı konak dağılımı vardır (uygun reseptör taşıyan). Çoğu suş doğrudan beyinlerine inoküle edildiğinde maymunları enfekte eder. Şempanzeler oral yolla enfekte olabilir ve asemptomatik olmakla birlikte intestinal taşıyıcı haline gelirler.

*İnsan ve maymun kaynaklı primer hücre kültürlerinde üretilebilir. Hücre kültürlerinde SPE oluşturur.

*Antijenik olarak üç farklı tipi vardır: Tip 1-3 (VP1, VP2, VP3 proteinlerinde bulunan epitop farklılıklarına göre). Özellikle tip 1 ve tip 2 polioviruslar ile oluşan enfeksiyonlarda birbirlerine karşı düşük dereceli heterotipik direnç gelişimi olabilir. Paralizi en çok tip 1 poliovirus enfeksiyonlarında izlenir.

Patogenez

Virus giriş yeri: Ağız

İlk replikasyon : Tonsiller, boyun lenf bezleri, ince barsaklardaki peyer plaklarında

↓
Viremi → kan-beyin bariyeri → MSS

↓
Kas doku (burada çoğalmaz!)

↓
Periferik sinir aksonları

↓
MSS

Bulaşta önemli:

Hastalık **linik olarak başlamadan önce** de boğaz sekresyonlarında ve dışkıda virus vardır. Enfeksiyon tablosunun gelişiminden bir hafta sonra boğazdaki virus miktarı azalmakla beraber; kandaki yüksek antikor titresine rağmen **dışkıyla virus atımı haftalarca** devam eder.

Virus MSS'de başlıca medulla spinalis ön boynuz motor hücrelerinde replike olur. Motor nöronlar tarafından innerve edilen kaslarda felçlere neden olur.

ÖNEMLİ!!!

Felçler virusun kas hücrelerini enfekte edip harap etmesine değil, bu kasları aktive etmekten sorumlu motor sinirleri enfekte edip harap etmesine bağlıdır.

Virus motor nöronlar için sitolitiktir. Hastalıkta paralizisi ortaya çıkıp çıkmaması, etkilenen nöron sayısı ile ilgilidir. Paralizinin yerini de hangi nöronların etkilendiği belirler.

Sinir sistemindeki patolojik değişikliklere ek olarak; miyokardit, lenfatik hiperplazi, Peyer plaklarında ülserasyon görülebilir.

Klinik

İnkübasyon süresi 7-14 gündür (3-35 gün)

Olguların sadece %1'i klinik hastalıkla sonuçlanır; gerisi subklinik (asemptomatik)

Aseptomatik (subklinik) enfeksiyon

Abortif poliomyelit (minör hastalık)

Paralitik olmayan poliomyelit (aseptik menenjit)

Paralitik poliomyelit

İlerleyici postpoliomyelit kas atrofisi

Aseptomatik (subklinik) enfeksiyon: Viral enfeksiyon orofarinks ve barsaklar arasında sınırlıdır. Hiç bir **hastalık belirtisi olmaz**. Bu kişilerde **virus** vücutta çoğalır, **dışkı ile dışarı atılır**. Bir epidemi sırasında **hastalığın % 90-95'i** böyle seyreder.

Abortif poliomyelit (Minör Hastalık): Hastalığın en yaygın olan formudur. Spesifik olmayan ateş vardır; boğaz ağrısı, halsizlik, baş ağrısı, bulantı, kusma eşlik eder. MSS tutulumu olmadığı için, **MSS'ne ait bulgular olmaz**. Birkaç gün içinde iyileşme izlenir. Tipe özgü bağışıklık (enfeksiyonu oluşturan virus tipine karşı antikorlar) oluşur.

Nonparalitik poliomyelit (Aseptik Menenjit): Poliovirus enfeksiyonlu hastaların %1-2'sinde görülür. Poliovirus aseptik menenjit yapan viruslardan sadece biridir. Hastalık abortif poliomyelit belirtileri ile başlar. Sonra virusun MSS ve meninkleri etkilemesiyle aseptik menenjit gelişir. Sırt ve boyunda ağrı ve sertlik; kas spazmları vardır. Poliovirus aseptik menenjite neden olan etkenlerden sadece biridir. 2-10 günde tam iyileşme olur. İyileşme hızlı ve tamdır. Nadiren paralitik forma dönüşebilir.

Paralitik poliomyelit (Major Hastalık): Poliovirus enfeksiyonunun en ciddi formudur. Olguların yaklaşık **%0.1-0.2'sinde** gelişir. Minör hastalık başlangıcından 3-4 gün sonra izlenir. Alt motor nöron hasarına bağlı asimetrik flask (gevşek) paraliziler ile karakterizedir. Paralizilerin derecesi etkilenen nöron miktarına bağlıdır. Beyin sapının sekonder invazyonuna bağlı, paralize olmayan kaslarda da ağrılı spazmlar olabilir. Duyu kaybı yoktur. Paralitik polio olgularının %85'inden poliovirus tip 1 sorumludur. Olguların çoğunda 6 ay içinde iyileşme gözlenirken bazen bu süre 2 yıla çıkabilir.

İlerleyici postpoliomyelit kas atrofisi: Paralitik poliomyelit geçirdikten dekadlar sonra; paraliz ve kas erimesi nöksleri ile seyreden nadir görülen bir tablodur. Persistan bir enfeksiyon olarak kabul edilmez. Zamanla ortaya çıkan fizyolojik aşınma sonucudur.

Hangi klinik tablo olursa olsun; enfeksiyonu oluşturan virus tipine karşı serumda nötralizan antikorlar gelişir. Nazofarinks ve sindirim kanalında virus tipine karşı sekretuar IgA antikorları gelişir. Bunlar aynı tip virusla reeneksiyonu önlerler. Ortak grup antijenleri yoktur; tipler arasında antijenik benzerlik azdır; pratik olarak birbirlerine karşı çapraz bağışıklık oluşturmaları kabul edilir!

Laboratuvar Tanı

- 1.Virus üretilmesi
- 2.Direkt tanı yöntemleri
- 3.Serolojik testler

Virus üretilmesi

VİRUS;

Faringeal sekresyonda: ilk 3-5 gün

Feçes veya rektal sürüntüde: yaklaşık 5 hafta

BOS'da: nadiren bulunur.

Dolayısıyla örnek olarak hastalığın ilk döneminde boğaz sürüntüsü; daha ileri dönemlerde rektal sürüntü ve dışkı alınır (Örnekler transport sırasında dondurulmalıdır). Çeşitli insan veya maymun kaynaklı hücre kültürleri kullanılır. SPE (3-6 günde) oluşur, üreyen virus poliovirus mu? Nötralizasyon testi (spesifik antiserum ile), IF, EIA ile.

Direkt tanı yöntemleri

Elektron mikroskopi

-Virus

ELISA

IF

-Viral antijenler

Polimeraz zincir reaksiyonu

-Viral nükleik asit

Serolojik testler

Ya serumda spesifik IgM ya da hastalığın akut fazında ve iyileşme döneminde alınan serum örnekleri arasında antikor titresinde 4 katı ve üzerinde artış olup olmadığı araştırılır. Kompleman Birleşmesi Deneyi ve nötralizasyon testleri kullanılabilir.

Bağışıklık

Enfeksiyona neden olan virus tipine karşı antikor bağımlı kalıcı bağışıklık oluşur. Anneden bebeğe geçen pasif bağışıklık bebeği ilk 6 ay korur. Virus nötralize eden antikorlar, virusla karşılaşmadan hemen sonra, muhtemelen hastalık başlamadan önce oluşur ve hayat boyu kalıcıdır. Beyin ve medulla spinalisteki virus kandaki yüksek antikor titresinden etkilenmez[⊗]

Global eradikasyon çalışmaları

DSÖ tarafından 1988'de çiçek virusunda olduğu gibi büyük bir kampanya başlatılmıştır. 1988'de tüm dünyada görülen polio olgusu 350.000 olarak tahmin edilmekteydi. **Amerika'da 1994'de, Avrupa genelinde ise 2002'de vahşi polio virusunun dolaşımından kalktığı bildirilmiştir.** 2014'de sadece 3 ülke polio için endemik olarak kalmıştır (Afganistan, Nijerya, Pakistan). Yine de tüm dünyada seyahatlere ve göçlere bağlı olgular görülebilmektedir.

Epidemiyoloji

Tüm dünyada yaygındır. 1 hafta faringeal sekresyonlarda, ortalama 5 hafta dışkıda bulunur. Hastalık her yaşta görülebilir. Erişkinlerde kazanılmış bağışıklık olduğundan esas olarak çocukları etkiler. Ancak ileri yaşlarda daha ağır klinik tablo oluşturur. Ilıman (tropik) bölgelerde **yaz ve sonbahar** aylarında siktir. Kalabalık, hijyen ve sanitasyonun kötü olduğu sıcak iklimlerde çocuklar erken yaşta immünize olur. Aşılama

epidemiolojik tabloyu değiştirmiştir. Bilinen tek rezervuarı insandır. Özellikle aile içinde çok hızlı yayılır. Türkiye’de antikor prevalansı %80-90’dır. Türkiye’de genellikle tip 1 epidemilerine rastlanır.

Korunma

Aktif immünizasyon yapılır.

İki çeşit poliovirus aşısı vardır:

-İnaktif virus aşısı (ölü-salk)

-Attenüe virus aşısı (canlı-sabin)

İki aşı da poliovirusun 3 serotipini de içermektedir.

İnaktif virus aşısı (IPV) / Salk aşısı

Maymun böbrek hücre kültüründe üretilen virusdan hazırlanır. Formalinize edilerek öldürülür. Parenteral uygulanır. 1-2 yıllık süre içinde en az 4 inokülasyon gerekir; bağışıklığın devamı için de booster dozlar (periyodik immünizasyon) gereklidir. Üç doz aşılama sonunda her 3 tipe karşı oluşan antikor oranı %92-100’dür. 5 yılda bir rapel doz yapılır. Serumda IgM ve IgG cinsi nötralizan antikorlar oluşur, ancak barsakta IgA oluşumunu sağlamaz. Oysa korunmada lokal intestinal immünite önemlidir! Aşı MSS tutulumunu ve paralizileri önler, fakat vahşi virusun barsakta üremesini engelleyemez; bu nedenle alınan vahşi virusun barsakta taşınması ve yayılması önlenemez. Uygulanması canlı-attenüe aşıya göre daha zor ve pahalıdır ancak; yan etki riski daha azdır. İmmün yetmezlikli çocuklara ölü aşı yapılmalıdır.

Canlı attenüe virus aşısı (OPV) / Sabin aşısı

İnsan ya da maymun diploid hücre kültürlerinde üretilmiş canlı virus içerir. Aşı MgCl₂ ile stabilize edilmiştir. Oda ısısında (25°C) birkaç hafta, buzdolabında (+4°C) bir yıl boyunca etkinliğini korur. Stabilize edilmemiş aşılar dondurularak saklanır. Ağız yolu ile verilir. Virus tonsiller ve barsakta çoğalır. Doğal enfeksiyondakine benzer bir bağışıklık gelişir. Kanda IgM ve IgG; barsakta salgısal IgA (reenfeksiyonlara karşı korur) oluşturur. Aşı MSS tutulumunu ve paralizileri önler, bunun yanı sıra vahşi virusun **barsakta üremesini de engeller**. Alınan vahşi virusun **barsakta yerleşmesi, çoğalması ve çevreye yayılması** önlenir. Aşılanan kişilerde barsakta üreyen aşı suşları 4-6 hafta süreyle dışkıyla atılmaktadır. Özellikle tip 2 ve 3 içeren aşılar nadir de olsa çoğalırken mutasyona uğrayarak aşılanan çocuklarda paralitik polio yapabilir! Tip 1 aşı suşu genetik olarak stabildir. Tip 2 ve özellikle de tip 3 aşı suşları tekrar virulan hale gelebilir. Buna bağlı olarak yaklaşık aşılanan her 3x10⁶ kişiden birisinde **aşıya bağlı paralitik poliomyelit** geliştiği tahmin edilmektedir. Oral aşılama için sınırlayıcı bir diğer faktör **VİRAL İNTERFERANS**’tır: Aşılama sırasında GIS’de diğer enteroviruslarla enfeksiyon varsa aşı suşları GIS’e yerleşemez. Polio’ya karşı immünizasyon bloke edilmiş olur. Enterovirus enfeksiyonlarının yaygın olduğu tropikal bölgelerde bir sorundur... Aşılama programları kışın veya ilkbahar başında yapılır. İmmün yetmezliği olan kişilere ve ailelerindeki bireylere uygulanmamaktadır (Hatırla: Aile içi bulaş yüksek...)

Aşı şeması (T.C.Sağlık Bakanlığı)

İnaktif polio aşısı

2, 4, 6. aylarda

18-24. ay rapel

Canlı polio aşısı

6. ay

18-24. ay

İlköğretim 1. Sınıf

Aşıların eleştirisi

Her iki aşının da avantajları ☺ ve dezavantajları ☹ vardır

İNAKTİF AŞI	
AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
Doğru ve tam olarak uygulandığında emniyetli ve etkilidir	Her doz enjektörle yapıldığından çocuk tarafından kabul edilmesi zorluğu
İmmün sistemi baskılanmış kişilere uygulanabilir	Daha pahalı olması
	Her 5 yılda bir rapel aşı yapılması zorunluluğu
	Vahşi virusun barsakta yerleşmesini, çoğalmasını ve çevreye saçılmasını engelleyememesi

CANLI ATTENÜE AŞI	
AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
Uygulaması kolay, steril ekipmana ihtiyaç yok	Attenüe suşların tekrar virulans kazanması (özellikle tip 3)
Nispeten ucuz	İmmün yetmezliği olan kişilerde emniyetli olmaması ve hastalığa neden olabilmesi
Barsağın vahşi virusla enfekte olmasını engeller, böylece virus bulaşmasında bu yolun elimine edilmesini sağlar	Aşılanan kişilerin dışkı ile aşı suşlarını 4-6 hafta süre ile çevreye saçmaları ve aşılanmamış kişilere temasla aşı suşlarının bulaşması
%100'e yakın bir bağışıklık sağlar	

Tedavi

Spesifik antiviral ilaç yoktur. Ig verilmesi ancak virusla karşılaşmadan sonra çok kısa süre içinde uygulanırsa anlamlıdır. Ig uygulaması subklinik enfeksiyonu engellemez, birkaç hafta etkilidir, semptomlar başladıktan sonra verilmesinin anlamı yoktur.

Destek tedavi:

Ağrı ve kas spazmlarının azaltılması,
Solunum ve hidrasyonun sağlanması gibi..
Karantina hastalığın kontrolünde etkisizdir.

KAYNAKLAR

- Medical Microbiology, Murray, Rosenthal, Pfaller, 7th ed, Elsevier Saunders, 2013.
- Sherris Medical Microbiology, Ryan KJ, Ray CG (eds), 6th ed, McGraw Hill Education, 2014.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S, 27th ed, McGraw Hill Lange, 2016.