



ADENOVİRUSLAR
Prof. Dr. İştar Dolapçı
ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ AD

14 Nisan 2017

Öğrenim amaç ve hedefleri

- ✓ Adenovirusların genel özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak
- ✓ Yapı ve replikasyonlarını, konakta meydana getirdikleri hastalıkların patogenezi bilmek
- ✓ Hangi hastalıkları oluşturduklarını tanımlayabilmek
- ✓ Epidemiyolojik özellikleri ve bağışıklıkları hakkında bilgi sahibi olmak
- ✓ Laboratuvar tanı yöntemlerini sıralayabilmek
- ✓ Hastalıklarının tedavi, korunma ve kontrol yöntemlerini tanımlamak

Ders içeriği

- ✓ Adenovirusların; yapısı ve replikasyonları
- ✓ Patogenezi ve yaptıkları hastalıklar
- ✓ Epidemiyolojik özellikleri ve bağışıklık mekanizmaları
- ✓ Laboratuvar tanı yöntemleri
- ✓ Hastalıklarının tedavi, korunma ve kontrol yolları

Adenoviridae Familyası

Adenovirus ailesi içerisinde ; Mastadenovirus & Aviadenovirus olmak üzere biri memelileri diğeri kuşları enfekte eden 2 cins vardır.

Sınıflandırma

İnsan adenovirusları; **Nükleotid dizi analizine**, fiziksel, kimyasal, biyolojik özelliklerine göre; 7 (6) gruba bölünmüştür:A, B, C, D, E, F, (G)

Antijenik yapılarına göre de; serotiplere ayrılırlar. İnsanları enfekte eden en az 57 farklı serotip vardır (toplamda 100'den fazla!). **1-7; 11; 12; 21; 31; 35; 37; 40; 41** en sık etken olanlardır.

Yapı

Çift zincirli, **lineer DNA** viruslarıdır.

Kapsid: **İkozahedral** simettrili

Çap: 90-100 nm

Zarf: **YOK**

Çift zincir DNA 5' ucunda kovalan olarak bağlanmış, virus tarafından kodlanan, 55 kDa büyüklüğünde bir protein ile sonlanır. Bu terminal protein proteolizis ile ayrılırsa, viral enfektivite 100 kat azalır.

Antijenler

Kapsid; 252 kapsomerden oluşur. Major adenovirus antijenleri, kapsid yapısındaki **hekzon** ve **pentonlar** ile yüzeydeki uzantıları oluşturan **fiber** antijenleridir. **12 köşede penton tabanlarından uzanan 12 adet fiber denilen yapılar bulunur.** Adenoviruslar, ikozahedral simettrili viruslar içerisinde "**fiber**" yapısı taşıyan tek virus grubudur. Fiber antijenleri; viral tutunma proteinleridir. **Hemaglütininin** aktivitesi taşırlar. Hemaglütininin tip spesifik olduğu için; izolatların serotiplendirilmesinde **hemaglütinasyon-inhibisyon testi** kullanılır.

Onkojenik potansiyel

Adenovirus serotiplerinin **G+C/DNA** oranı onkojenik potansiyeli ile orantılı olarak değişir:

Onkojenik potansiyel	G+C/DNA
Yüksek onkojenik olanlar	% 48-49
Orta derecede onkojenik olanlar	% 49-52
Onkojenik olmayanlar	% 57-59

Tip 12, 18, 31'i içeren Grup A'da G + C / DNA oranı diğerlerinden belirgin oranda düşüktür. Bu grup hayvanlarda onkogeniktir (Yeni doğan kemirgenlerde!). İnsan kanserleriyle adenoviruslar arasında bugüne kadar bağlantı kurulmamıştır.

Replikasyon

Hücre kültüründe? Ürer

Hangi hücrelerde? İnsan kaynaklı epitelyal hücrelerde

Nerede? Çekirdekte

Histolojik belirteç? Santral intranükleer inklüzyon cisimcikleri

Sitopatik etki? Üzüm salkımına benzer kümeler oluşumu şeklinde..

*Cytomegalovirus'tan farkı?

Replikatif siklus erken ve geç olmak üzere keskin sınırlarla ! ayrılmıştır. Virus hücrelerdeki bir Ig gen süperailisi üyesi olan CAR (coxackie-adenovirus reseptörü) reseptörlerine fiber yapılarıyla tutunur. Bazı ADV'lar MHC I moleküllerini reseptör olarak kullanabilir. Tutunmadan sonra reseptör aracılı endositozla hücre içine girer. (Unutma: Zarfsız virus!) Penton tabanı hücresel integrin ile etkileşmesi internalizasyon basamağını başlatır. Clathrin-kaplı vezikül içinde reseptör aracılı endositoz gerçekleşir. Adsorbsiyon & internalizasyon farklı proteinleri gerektiren farklı basamaklardır. Virus hücre içinde, endozom içindeki asidik pH'nın tetiklemeyle başlayan bir süreçle, hızla (5 dakikada) endozomdan sitoplazmaya geçer. Sonrasında nükleusa taşınır. Viral partiküllerin sitoplazmadan nükleusa taşınmasında mikrotübüller rol oynar. Kapsidden sıyrılma sitoplazmada başlar, nükleusta sonlanır. Viral DNA sentezinin başlamasından önceki kısımlar **erken dönemi** oluşturur.

Erken fazın amacı, konak hücrede viral replikasyon için gerekli ortamı yaratmak, enfekte hücreyi konak immün yanıtından koruyacak viral fonksiyonları eksprese etmek ve viral DNA replikasyonu için gerekli gen ürünlerini sentezlemektir.

Erken dönemde; çoğu yapısal olmayan ve viral DNA sentezinde görev alan 20'den fazla "early" protein sentezlenir. Genom replikasyonunda görev alan "**DNA polymerase**" da erken proteinlerden birisidir.

E1A; Bu dönem antijenlerinin en önemlisidir; diğerlerinin transkripsiyonu için şarttır!

E1B ; Enfekte hücrenin (erken) apoptoza gitmesini önleyen antijendir. (Kemirgen hücrelerini transformasyona uğratan genlerin E1A ve E1B bölgelerinde lokalize oldukları bulunmuştur)

*Erken genler tüm siklus boyunca eksprese edilir; enfekte hücre içerisinde gen ekspresyonu keskin sınırlarla ayrılmaz !

Geç dönem; viral DNA sentezinin başlamasıyla başlar. Okunan m-RNA'lar sitoplazmaya taşınarak, burada geç proteinlerin (L1-L5) sentezini gerçekleştirirler. Viral proteinler sitoplazmada sentezlenir!

Geç proteinler virusun yapısal proteinleridir (hekzon, penton, fiber, core proteinleri gibi). Sitoplazmada üretilen kapsid proteinleri "viral bir araya gelme" (montaj/assembly) için nükleusa taşınır. Kapsomerler önce nükleusta içleri boş olarak oluşur, çıplak DNA daha sonra boş kapsidlerin içine girer. Virion son halini nükleusta alır. Virus hücrenin dejenere olması ve parçalanması ile salınır.

Virusun konak savunma mekanizması üzerine etkileri

VA RNA kodlarlar (Küçük virus ilişkili RNA)

- İnterferon tarafından indüklenen protein kinazların aktivasyonunu önler
- Protein kinazların görevi: viral protein sentezini inhibe etmek!

E3 ve E1A proteinleri; (Hücre kültüründe üreyen virus için gerekli değıllerdir)

- Enfekte hücrenin konak cevabı ile sitolizini önlerler
- TNF alfa gibi sitokinler ya da T hücre aracılı apoptoza engel olurlar

E3 proteini;

- MHC I'in hücre yüzeyine çıkışını önler,
- Enfekte hücreyi sitotoksik T lenfosit aracılı hücre ölümünden korur

(Onkogenik potansiyelde rolü var...)

Adenovirus enfeksiyöz döngüsü ortalama 24 saat sürer. Hücre başına yaklaşık 100.000 yeni viral partikül oluşur.

Patogenez

Solunum sistemi (solunum sistemi enfeksiyonları),

Göz (faringokonjonktivit),

GIS (gastroenterit) ve

Üriner sistemde (hemorajik sistit) enfeksiyon yapar.

Epitel hücrelerinde replike olur.

- Litik (mukoepitelyal hücrelerde)
- Latent (lenfoid ve adenoid hücrelerde)
- Transforming (hamster, insan değil) enfeksiyon yapar.

Epitel hücrelerinde nekroz ve inflamasyona yol açarak replike olur. Hücelere olan toksik etkiden pentonlar sorumludur. Lokal replikasyondan sonra viremi görülebilir! Yayılım genellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde izlenir. Böbrekler, mesane, karaciğer, lenf nodları (mezenter dahil); bazen SSS'ne gidebilir. Hastalığın akut fazından sonra özellikle tonsiller, adenoid doku ve intestinal Peyer plakları gibi lenfoid dokularda virus kalabilir, reaktif olabilir ve hastalık oluşturmaksızın 6-18 ay virus çıkarımı görülebilir. Bu reaktivasyon immün sistem baskılandığında belirginleşir (Diğer ajanlarla enfeksiyon varlığı gibi). Bazı durumlarda ADV DNA'sı konak hücre genomuna entegre olabilir ve bu latent faz, tonsillerde ve periferik kan lenfositlerinde yıllarca sürebilir. Çoğu insan ADV'u oral alımı takiben barsak epitelinde replike olur fakat çoğunlukla subklinik enfeksiyon tablosu oluşturur. Primer enfeksiyon başlangıcından sonra aylarca dışı ile atılabilirler (Enfeksiyon asemptomatik de olsa!).

Klinik Bulgular

"Tek bir serotip birden fazla klinik tabloya yol açabileceği gibi, tek bir klinik tablodan da birden fazla tip sorumlu olabilir"

En sık 1 – 7 arasındaki serotiplerle enfeksiyon görülür. Enfeksiyonların çoğu orta şiddette ve kendi kendini sınırlayıcı özelliktedir .

Yaptığı Hastalıklar

- ✓ Akut ateşli farenjit
- ✓ Faringokonjonktival ateş
- ✓ Akut solunum yolu hastalığı
- ✓ Göz hastalıkları
 - Akut folliküler konjonktivit
 - Epidemik keratokonjonktivit
- ✓ Gastrointestinal enfeksiyonlar
- ✓ Akut hemorajik sistit
- ✓ Nadiren nörolojik hastalıklar

Diğer Hastalıklar

- İnvaginasyon
- Genital enfeksiyonlar
- Kas-iskelet bozuklukları
- Boğmaca benzeri hastalık tablosu
- İmmün sistemi baskılanmış kişilerde enfeksiyon tablosu

Solunum yolu hastalıkları

Farenjit ve tonsillit şeklindedir

- Öksürük
- Burun akıntısı
- Ateş
- Boğaz ağrısı

Genellikle yenidoğan ve çocuklarda izlenir.

Grup C (serotip 1, 2, 5) sorumludur.

Tip 3, 4 ve 7 adolesan ve yetişkin enfeksiyonlarında izlenir.

"Benzer semptomlar nedeniyle diğer viral hastalıklardan ayırımı güçtür"

Bronşit, pnömoni gibi alt solunum yolu enfeksiyonları genellikle komplikasyon olarak izlenir.

Özellikte **tip 3, 7 ve 21** (Grup B), çocukluk çağında görülen pnömonilerin yaklaşık%10-20'sinden sorumludur.

Adenoviral pnömoninin bebeklerde %8-10 mortalite ile seyrettiği bildirilmektedir.

Göz enfeksiyonları**Faringokonjonktival ateş**

Respiratuvar – faringeal sendromun bir parçası olarak orta şiddetli göz tutulumu olabilir. **Tip 3 ve 7** sorumludur (Grup B). Özellikle yüzme havuzu kaynaklı faringokonjonktival ateş salgınları olabilir. Özellikle çocukların yaz kamplarında! 1-2 hafta süren konjonktivit tablosu, herhangi bir sekel bırakmadan iyileşir.

Epidemik keratokonjonktivit olabilir. Özellikle yetişkinlerde görülür. Çok bulaşıcıdır. ADV lavabolarda ve havlularda birkaç hafta boyunca canlı kalabilir (kaynak!). **Tip 8, 19, 37** (Grup D) ile olur. Akut konjonktiviti keratit takip eder, genellikle 2 hafta içinde iyileşse de bazı durumlarda iki yıla kadar korneada opasite kalabilir.

Gastrointestinal enfeksiyonlar

Adenovirusların çoğu GIS'de replike olup, dışkıda bulunabilir; ancak bütün serotipler gastroenterit ile ilişkili değildir. **Serotip 40 ve 41** (Grup F); infant gastroenteritinden sorumludur. Küçük çocuklardaki viral gastroenterit olgularının %5-15'inden sorumludurlar. **Enterik adenovirusların hücre kültüründe üretilmeleri çok güçtür.**

Diğer enfeksiyonlar

✓ Transplant hastalarında;

Ciddi, ölümcül pnömoni

Hepatit

Myokardit

✓ AIDS hastalarında;

Ciddi GIS tutulumu

✓ Özellikle erkek çocuklarda;

Hemorajik sistit (**tip 11, 21** ile) (Grup B)

Epidemiyoloji

İnsanlar tek kaynaktır. Virus gastrointestinal sistem enzimleri ve kuruluğa dayanıklıdır. Hastalık semptomları diğer solunum yolu virus enfeksiyonlarını taklit eder. Bulaş; solunum yolu damlacıklarıyla, fekal-oral yolla, direkt temasla, kontamine materyallerle, eller yoluyla (elden göze transfer), havlu, kontamine tıbbi aletler gibi yüzeylerle (kontamine oftalmik solüsyonlar), yetersiz klorlanmış yüzme havuzu sularıyla gerçekleşir. 14 yaşın altındaki çocuklar ve kalabalık yerlerde yaşayanlar (kreşler, askeri birlikler vs) risk grubunu oluşturur. En yüksek insidans 2 yaş altındaki çocuklardadır.

Virus tüm dünyada yaygındır. Mevsimsel insidans göstermez; bütün mevsimlerde görülür.

Klinik örneklerde en sık rastlanan serotipler düşük numaralı olanlardır: **1, 2, 3, 5, 7**. Gastroenterit tipleri; **40 ve 41**'dir.

Bağışıklık

Pek çok solunum yolu enfeksiyöz ajanının aksine adenoviruslar etkin ve uzun süreli bağışıklık bırakır. Bağışıklık heksan ve fiber antijenlere karşı oluşan nötralizan antikorlara bağlıdır. Muhtemelen hayat boyu kalıcıdır. Yeni doğanlar genellikle anneden geçen birkaç tip antikor nedeniyle ADV enfeksiyonlarından bazılarında bağışıklıdır. Transplant hastalarında ADV enfeksiyon kaynağı endojen viral reaktivasyon; pediatrik yaş grubundaysa primer enfeksiyon olarak düşünülür.

Laboratuvar Tanı

✓ Virusun üretilmesi

✓ Direkt tanı yöntemleri

✓ Serolojik testler

Virus izolasyonu için örnekler ilgili bölgeden & erken dönemde alınmalıdır!

Adenovirus çıkarma süresi hastalığa göre 1-3 gün ile 2-12 ay arasında değişir.

Örnek hastalığa bağlı olarak;

- Dışkı
- Rektal sürüntü
- İdrar
- Boğaz sürüntüsü
- Konjonktival sürüntü olabilir.

Virusun Üretilmesi

İnsan kaynaklı hücre kültürleri kullanılır.

- ✓ HEK (human embryonic kidney) (en duyarlısı)
- ✓ Hep-2, HeLa, KB vs

2-20 (ort. 6) günde hücrede şişme & agregasyon (litik etki) şeklinde karakteristik CPE yapar. Yoğun santal yerleşimli intranükleer inklüzyon cisimcikleri görülmesi karakteristiktir. Ancak bu inklüzyonlar nadiren izlenir ve sitomegalovirus'unkilerden ayırımı yapılmalıdır.

Hücre kültüründe üreyen virusun ADV olduğunun ispatı;

- ✓ Antihexon antikorları ile yapılan İF testi ile ADV tanısı ya da
- ✓ HI ya da nötralizasyon testleri ile tip spesifik antijenlerin tanınması ile serotip tayini yoluyla gerçekleştirilir.

Tip 40 ve 41 dışındaki Adenovirusların hücre kültüründe üretilmesi en iyi tanı yöntemidir. Tip 40 ve 41 bilinen epitelyal hücre dizilerinde (pratik olarak) üremezler.

Shell vial tekniđi:

Örnek santrifüj edilip doğrudan doku kültür şişesine alınır. 1-2 gün sonra hekzon antijenine karşı monoklonal antikorlarla test edilir. Hızlı tanı sağlanmış olur.

Direkt Tanı Yöntemleri

Virus izolasyonu olmaksızın klinik örnekte doğrudan viral antijenin gösterilmesidir

1. İmmunolojik yöntemler
2. Moleküler yöntemler

İmmunolojik yöntemler

- ✓ ELİSA
- ✓ FAT
- ✓ Lateks aglütinasyon testi
- ✓ Elektron mikroskopi ile direkt muayene
-Fekal örneklerde

Moleküler yöntemler

- ✓ PCR
-Hızlı ☺
-Latent enfeksiyonu saptayabilir ☹
- ✓ DNA prob analizleri
-Özellikle kültürü yapılamayan tip 40 ve 41'in tanısında!
-Korunmuş viral bölgeden elde edilen primerler ile bütün serolojik tipler ve gruplar saptanabilir

YORUM

- ADV barsaklarda ve lenfoid dokuda uzun süreli kalabildiğinden ve diğer enfeksiyonlar tarafından viral yayılım tetiklenebildiğinden, viral izolasyon dikkatle yorumlanmalıdır.
- Göz, akciğerler ve genital sistemden yapılan izolasyonlar mevcut enfeksiyon tanısı olarak yorumlanmalıdır.
- Boğaz sekresyonlarından yapılan virus enfeksiyonu hastanın kliniği ile birlikte değerlendirilmelidir.
- Fekal örneklerden yapılan ADV izolasyonu, gastroenteritli bir hastadan etken serotipler izole edilmediği sürece dikkate alınmamalıdır.

Serolojik Testler

Adenovirus enfeksiyonlarında bütün tiplerde ortak olan grup antijenlerine karşı **komplemanı fikse edici antikorlar** oluşur. Kompleman fiksasyon testi ile kolayca tanınabilirler. Kolay ancak duyarlılığı düşüktür.

Akut / konvelesan dönem serum örnekleri arasında 4 kat antikor titre artışı anlamlı ancak spesifik tip hakkında bilgi vermez.

- ELİSA
 - Hemaglütinasyon İnhibisyon Testi
 - Nötralizasyon Testi (en duyarlısı)
- } tip spesifik tanı

Epidemiyolojik amaçlar dışında seroloji (antikorun gösterilmesi) tanıda nadiren kullanılır.

Tedavi

Önerilen spesifik bir tedavi yoktur.

Aşı

Toplum için önerilen bir aşısı yoktur. Tip 4 ve 7'yi içeren aşı bir dönem Amerikan askerleri için uygulanmış...

Korunma / Kontrol

El yıkama en etkili yöntemdir. Kağıt havlu kullanımı çözüm olabilir. Yüzeylerin sodyum hipoklorid ile silinmesi ve yüzme havuzlarının yeterli klorlanması etkilidir.

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.



AÜTFED2014