

Enterovírusy I: Ich význam vo verejnom zdravotníctve.

Mária Borsányiová, Shubhada Bopegamage

Súhrn

Infekčné ochorenia vyvolané vysoko patogénnym potenciálom mikroorganizmov predstavujú stálu hrozbu vplývajúcu na zdravie ľudí, zvierat a dokonca rastlín. Výskyt nových prenosných ochorení a znovu sa objavujúce ochorenia, ktoré boli v minulosti pod kontrolou, komplikujú globálnu situáciu ohrozovaním zdravia obyvateľstva. Často im venujeme pozornosť až po prepuknutí klinických príznakov, kedy je už liečba komplikovanejšia. V poslednej dobe sa zameriava pozornosť výskumu na hľadanie nových stratégií prevencie a terapie. Medzi najčastejšími pôvodcami vírusových infekcií u ľudí majú svoje nepopierateľne miesto enterovírusy. Tieto vírusy patria do jednej z najväčších a dôležitých vírusových čeľadí *Picornaviridae*, sú celosvetovo rozšírené. V posledných rokoch sa enterovírusovým infekciám a ochoreniam nimi spôsobenými kladie väčší význam pre ich asociáciu s chronickými ochoreniami postihujúcimi rôzne orgány, ako srdce a pankreas.

Kľúčové slová:

patogénny, enterovírusy, klasifikácia

Infekčnými ochoreniami sa často zaoberáme až po ich zjavnej klinickej manifestácii. Vznikajú ako dôsledok prítomnosti patogénneho mikrobiálneho agens, vrátane patogénnych vírusov, baktérií, húb, protozoa, mnohobunkových parazitov a bielkovinových infekčných častíc – priónov. Patogény vyvolávajú ochorenia ľudí, živočíchov a /alebo rastlín. Infekčná patológia sa zvyčajne kvalifikuje ako nákazlivé (prenosné) ochorenie na základe potenciálneho medziľudského alebo medzidruhového prenosu. Infekčné ochorenie sa prenáša priamym fyzickým kontaktom s infikovanou osobou (jej telovými tekutinami), ingesciou, nedostatočnou hygienou rúk, prostredníctvom kontaminovaných predmetov dennej hygieny, inhaláciou infikovaného aerosólu (1,2) a inokuláciou. Možný je aj prenos prostredníctvom múch alebo iného hmyzu. Vírusy sú obligátne intracelulárne parazity, rozmnožujúce sa na úkor hostiteľa. Vírusové infekcie často prebiehajú asymptomaticky, a preto ostávajú nepovšimnuté; mnohým infekciám sa venuje pozornosť až keď sú klinicky evidentné a následky katastrofálne.

Infekčné ochorenia vyvolané vysoko patogénnym potenciálom mikroorganizmov predstavujú stálu hrozbu vplývajúcu na zdravie ľudí, zvierat a dokonca rastlín. Výskyt nových prenosných ochorení a znovu sa objavujúce ochorenia, ktoré boli v minulosti pod kontrolou, komplikujú globálnu situáciu ohrozovaním zdravia obyvateľstva. Podľa Indikátora vodou prenosných patogénov (3) Indicators for Waterborn Pathogens sa na vývoji nových ochorení podieľa viacero humánnych a enviromentálnych faktorov: *Zmeny v ľudskej demografii* – Narastá množstvo „náchylnejšej subpopulácie“ ako novorodenci, deti, tehotné ženy, starší a imunokompromitovaní ľudia (napr. pacienti trpiaci na AIDS), ktorí sú zvlášť vnímaví na infekcie a závažnosť ochorení je u nich väčšia ako u bežnej populácie. *Zmeny v ľudskom správaní* – V dôsledku urbanizácie vidieckych oblastí sa pôvodne izolované, nepovšimnuté lokality menia na husto osídlené miesta, umožňujúce vzostup infekcií. *Zlyhanie systému verejného zdravotníctva* – Hoci verejné zdravotníctvo kontroluje pitné a odpadové vody v snahe minimalizovať expozíciu obyvateľstva vodou prenosnými patogénmi a redukovať tak incidenciu vodou prenosných nákaz, tieto systémy môžu z času na čas zlyhať – často s rozsiahlym dopadom na zdravie obyvateľov. Takého zlyhania poskytujú vhodné podmienky pre návrat znovu sa objavujúcich patogénov. *Adaptácia mikroorganizmov* – mikroorganizmy

sa neustále prispôsobujú zmenám svojho vonkajšieho prostredia. V posledných rokoch zaznamenávame nadmerné používanie antibiotík a liekov, s čím súvisí aj ich uvoľňovanie sa do životného prostredia a vodných plôch. Následne sa zvýšila izolácia a identifikácia na antibiotiká - a lieky - rezistentné kmene mikroorganizmov. *Zmeny v poľnohospodárskej praxi* – Intenzívne poľnohospodárske prevádzky (najmä koncentrované/stiesnené chovy zvierat) produkujú animálny odpad vo vysokej koncentrácii, ktorý prispieva ku kontaminácii vôd a životného prostredia (zámerné/náhodne). Tento problém sa týka záujmu verejného zdravotníctva, nakoľko kvantum patogénov bežne obsiahnutých vo fekáliách sa môže prenášať na ľudskú populáciu nedostatočne upravenou pitnou vodou alebo pri rekreačných vodných športoch. Turistika a interkontinentálny transport tiež zohrávajú svoju úlohu pri zmenách ľudského správania.

Na základe výsledkov vedeckého výskumu môžeme konštatovať, že výsledný stav vírusovej infekcie v organizme závisí na jednej strane od imunitného stavu hostiteľa, jeho genetickej predispozície, veku, pohlavia, výživy a životného štýlu ako aj od prítomnosti vírusu a jeho genetických vlastností, brány vstupu, na druhej strane od aktuálnej interakcie vírus-hostiteľ. Nepatrné odlišnosti hostiteľa môžu mať za následok veľké zmeny virulencie patogénna. Weiss vo svojej recenzii „Virulence and Pathogenesis“ (4) pripomína, že na virulenciu a patogenézu sa nemožno pozerat' šablónovite z aspektu vírusu (sú ako dve strany jednej mince) a jeho ďalšieho pôsobenia v hostiteľovi. Autor prichádza k záveru, že je potrebné vyvinúť koncept virulencie a patogenézy vírusu so zreteľom na pochopenie patogenézy na molekulárnej úrovni, ktorá sa mení v dôsledku zmeny životného štýlu ľudskej populácie a enviromentálnych podmienok. Pochopenie patogenézy vírusových infekcií je dôležité pre prevenciu a liečbu vírusových ochorení. Výskum v oblasti infekčných chorôb je progresívny, zameraný na pochopenie mechanizmu ochorenia na úrovni hostiteľ - patogén. V poslednom čase sa koncentruje na hľadanie nových a moderných stratégií prevencie a terapie (5).

Enterovírusy

Rod Enterovírus (EV) zahŕňa 7 druhov infikujúcich ľudskú populáciu (Enterovírus ľudí A, Enterovírus ľudí B, Enterovírus ľudí C, Enterovírus ľudí D, Rinovírus ľudí A, Rinovírus ľudí B a Rinovírus ľudí C; Poliovírus ľudí sa zaraďuje do skupiny Enterovírus ľudí C a ako samostatný druh už neexistuje). Spolu s ďalšími 11 rodmi (Cardiovírus, Aphthovírus, Hepatovírus, Parechovírus, Erbovírus, Kobuvírus, Teschovírus a Sapelovírus, Senecavírus, Tremovírus a Avihepatovírus) patrí do radu *Picornavirales*, čeľade *Picornaviridae*, ktorá predstavuje veľkú skupinu malých, neobalených vírusov jednovláknovej RNA pozitívnej polarít. Z hľadiska klinickej závažnosti ochorení ľudí sú významné rody Enterovírus, Parechovírus, Hepatovírus a Kobuvírus. *Picornaviridae* obsahuje 12 rodov s 28 druhmi a 306 sérotypmi (6,7). Klasifikácia enterovírusov sa stále mení, upresňuje a modernizuje. Súčasná klasifikácia enterovírusov je založená na porovnávaní sekvencií genómov jednotlivých sérotypov, molekulárna taxonómia je dôležitá z hľadiska molekulárno-epidemiologických štúdií enterovírusových ochorení. Vďaka pribúdajúcim genetickým dátam sa predpokladá, že bude obsahovať až 22 rodov so 45 druhmi.

Na základe sérologických štúdií rozdelíme enterovírusy na sérotypy. Identifikácia vírusových izolátov sa robí v neutralizačných testoch pomocou hyperimúnných sér. Pretože variabilita sérotypov je veľká, typizačné sérum by malo byť polyklonálne, pripravené z kmeňov, ktoré majú široké spektrum neutralizačných epitopov. Významnú úlohu v diagnostike zohralo spájanie monotypových referenčných konských sér do zmesí, ktoré sa používajú na identifikáciu izolátov na základe typu neutralizačných protilátok (8). Proces typizácie sa značne zjednodušil zavedením jednotných medzinárodne štandardizovaných hyperimúnných antisér v zmesiach (9). Doteraz sa používajú zmesi podľa Lim a Benyesh-

Melnick (10), v skratke „LBM-pools“ (11). Všetky izolačné a identifikačné metódy sú časovo i finančne náročné. V snahe šetrenia času sa do praxe zavádzajú citlivejšie a rýchlejšie imunoenzymatické testy na pevnej fáze (ELISA) s typovo-špecifickými antisérmi (12,13), imunoelektrónová mikroskopia s polyvalentnými a typovo-špecifickými antisérmi (14,15) alebo včasná detekcia enterovírusových antigénov v bunkových kultúrach pomocou nepriamej imunofluorescencie alebo enzymatických imunoreakcií s monoklonálnymi protilátkami voči skupinovo-reagujúcim (16-20) či typovošpecifickým determinantom (20-23).

Na základe patogenézy enterovírusových infekcií u ľudí a experimentálnych zvierat sa pôvodne klasifikovali do 4. skupín: Poliovírusy (PV), Coxsackievírusy A (CVA), Coxsackievírusy B (CVB) a Echovírusy (ECHO). Táto klasifikácia presahovala biologické vlastnosti vírusov. Neskôr diagnostikované enterovírusy boli pomenované systémom po sebe nasledujúcich čísel (ako Enterovírus 68, 69, 70, 71). Porovnávaním nukleotidov a korešpondujúcich sekvencií aminokyselín na 5'konci vírusového proteínu 2 (VP2) sa identifikovali 4 významné fylogenetické skupiny rodu Enterovirus: vírusy podobné CVA16 (klaster A), vírusy podobné CVB a Echovírusom ako CVA9 a EV69 (klaster B), vírusy podobné poliovírusom (klaster C) a EV68 a EV70 (klaster D). Párové zoskupenia a fylogenetické analýzy v týchto skupinách demonštrujú, že nukleotidové sekvencie VP2 nie celkom korelujú so sérotypom vírusu a preto zoskupovanie do klastrov nie je najsprávnejším riešením.

Enterovírusy sa stali ideálnym komplexným objektom na vedecké štúdium patogenézy vďaka ich schopnosti vyvolať široké spektrum klinických ochorení, ich virulencii a perzistencii, ako aj využívaniu rôznych bunkových receptorov na väzbu. Pre tieto vírusy je charakteristické šírenie sa fekálno-orálnou cestou, menej často vdýchnutím infekčného aerosólu. Po počiatočnom pomnožení vírusu v bunkách lymfatického tkaniva horných dýchacích ciest alebo tráviaceho traktu, sa dostáva do krvného riečiska, primárnou virémiou dosahuje retikuloendotelový systém a preniká k cieľovým orgánom (mozog, meningy, miecha, myokard, koža a pankreas), ktoré majú bunkové receptory potrebné na adsorpciu vírusu. Replikácia vírusu v bunkách cieľového orgánu hostiteľa vedie k sekundárnej virémii a ku vzniku klinických symptómov ochorenia. Tropizmus týchto vírusov a replikácia v špecifických orgánoch úzko súvisí so stavom hostiteľa (vekom, imunitným stavom a genetickým vybavením) a od vírusových faktorov (genetika, patogenita, virulencia).

EV možno izolovať zo stolice, faryngeálneho výplachu, likvoru, miechy, mozgu, srdca, krvi, spojovky a jej exudátov, kožných lézií a mukoidných membrán. Intenzívny je prenos v uzavretých komunitách (domácnosť, škôlky, preplnené ubytovne). Nepredpokladá sa, že by voda zohrávala dôležitú úlohu pri šírení EV infekcií vo vyspelých krajinách, na druhej strane v rozvojových krajinách sa tento faktor prenosu uplatňuje pomerne často. Vyššia incidencia nákaz sa zaznamenáva v lete a na jeseň. Najčastejšie sú postihnutí novorodenci, deti a imunokompromitovaní ľudia. Klinické a patologické manifestácie enterovírusových ochorení sú rôzne (24): poliomyelitídy, aseptické meningitídy, paralýzy, encefalitídy, syndróm chronickej únavy, epidemická pleurodynia (Bornholmská choroba), kongenitálne a neonatálne infekcie, ochorenia srdca, herpangína, aftózna stomatitída s vezikulárnymi erupciami na rukách a nohách (detské ochorenie), akútna hemoragická konjunktivitída, respiračné ochorenia, zápal stredného ucha, diabetes, zriedkavejšie gastroenteritídy a hepatitídy. Infekcie vyvolané týmito vírusmi prebiehajú prevažne asymptomaticky, bez zjavných príznakov alebo len s miernym priebehom. Väčšina pacientov sa spontánne uzdraví, u menšej časti infikovaných sa po niekoľkých dňoch objaví sekundárne postihnutie orgánov, ojedinele môžu vyvolať paralýzy alebo smrť. *Nie-polio* (non-polio) vírusy majú celosvetové rozšírenie, patria medzi najčastejšie ľudské vírusové infekcie. Napriek tomu, že pre enterovírusy je charakteristický prevažne subklinický priebeh a infekcie často ostávajú

nepovšimnuté, vyskytnú sa však aj prípady akútnych a chronických ochorení ojedinele končiace fatálne.

Podakovanie: Práca bola podporená Projektom nórskeho finančného mechanizmu (NFM), Finančného mechanizmu EHP (FM EHP) a Úradu vlády SR číslo SK0082.

Literatúra

1. Couch, R.C., Cate, T.R., Gerone, P.J., Fleet, W.F., Lang, D.J., Griffith, E.R., Knight, V.: Production of illness with a small-particle aerosol of coxsackie A21. In: *Journal of Clinical Investigation* 1965, 44: 535-542.
2. Morag, A., Morgalith, M., Haberschaim, N., Fattal, B.: Antibodies to coxsackieviruses and hepatitis A viruses in populations exposed to waste water utilisation. In: *Monograf of Virology* 1984, 15:207-215.
3. Indicators for Waterborne Pathogens. In: Committee on Indicators Indicators for Waterborne Pathogens, Board on Life Sciences, Water Science and Technology Board, Division on Earth and Life Studies, National Research Council of The National Academies., Washington D.C. 2004, www.nap.edu
4. Weiss, A.: Virulence and pathogenesis. In: *Trends in Microbiology* 2002, 10:314-317.
5. Hammerschmidt, S., Hacker, J., Klenk, H.D.: Threat of infection: microbes of high pathogenic potential-strategies for detection, control and eradication. In: *International Journal of Medical Microbiology* 2005, 3: 141-151.
6. Rajčáni, J.: Čeľaď Picornaviridae. In: Rajčáni, J., Čiampor, F. (eds): *Lekárska virológia*, Bratislava: Veda 2006, 402-420.
7. <http://www.picornaviridae.com/>
8. Kapsenberg, J.G.: Picornaviridae: The Enteroviruses (Polioviruses, Coxsackieviruses, Echoviruses). In: Lennette, E.H., Halonen, P., Murphy, F.A.(eds): *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Principles and Practice*, vol II Viral, Rickettsial, and Chlamidial Diseases, New York: Springer-Verlag 1988, 692-722.
9. Melnick, J. L., Rennick, V., Hampil, B., Schmidt, N. J., Ho, H. H.: Lyophilized combination pools of enterovirus equine antisera: preparation and test procedures for the identification of field strains of 42 enteroviruses. In: *Bulletin WHO* 1973, 48: 263 – 268.
10. Lim, K. A., Benyesh-Melnick, M.: Typing of viruses by combinations of antiserum pools: application to typing of enteroviruses (Coxsackie and echo). In: *Journal of Immunology* 1960, 84: 309 –317.
11. Bendig, J., Earl, P.: The Lim Benyesh-Melnick antiserum pools for serotyping human enterovirus cell culture isolates-still useful, but may fail to identify current strains of echovirus 18 .In *Journal of Virological Methods* 2005, 127: 96 - 99.
12. Yolken, R.H., Torsch, V.M.: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection and identification of coxsackieviruses A. In: *Infection and Immunity* 1981, 31:742-750.
13. Edevag, G., Wahren, B., Osterhaus, D.M.E., Sunquist, V.A., Grandstorm, M. Enzym-linked immunosorbent assay – based inhibition test for neutralising antibodies to polioviruses as an alternative to the neutralisation test in tissue culture. In: *Journal of Clinical Microbiology* 1995, 38:2927-2930.
14. Narang, H. K., Codd, A. A.: Enterovirus typing by immune electron microscopy using low-speed centrifugation. In: *Journal of Clinical Pathology* 1980, 33: 191 - 194.
15. Lee, T. W, Megson, B., Kurtz, J. B.: Enterovirus typing by immune electron microscopy. In: *Journal of Medical Microbiology* 1996, 44: 151 - 153.
16. Yousef, G.E., Brown, I.N., Mowbray, J.F.: Derivation and biochemical characterisation of an enterovirus group-specific monoclonal antibody. In: *Intervirolgy* 1987a, 28: 163-170.

17. Yousef, G.E., Mann, G.F., Brown, I.N., Mowbray, J.F.: Clinical and research application of an enterovirus group-reactive monoclonal antibody. In: *Intervirology* 1987b, 28: 199-205.
18. Hofner, M.C., Carpenter, W.C., Lyons, S.A., Hamblin, C: An indirect sandwich ELISA for the identification of bovine enteroviruses. In: *Journal of Virological Methods* 1993, 41: 239-244.
19. Trabelsi, A., Grattard, F., Nejmeddine, M., Aouni, M., Bourlet, T., Pozzetto, B.: Evaluation of an enterovirus group-specific anti-VP1 monoclonal antibody, 5-D8/1, in comparison with neutralisation and PCR for rapid identification of enteroviruses in cell culture. In: *Journal of Clinical Microbiology* 1995, 33: 2454-2457.
20. Klespeis, S.L., Cebula, D.E., Kelley, C.L., Galehouse, D., Maurer, C.C.: Detection of enteroviruses from clinical specimens by spin amplification shell vial culture and monoclonal antibody assay. In: *Journal of Clinical Microbiology* 1996, 34: 1465-1467.
21. Muir, P., Nicholson, F., Tilzey, A.J., Signy, M., English, T.A.H., Banatvala, J.E.: Chronic relapsing pericarditis and dilated cardiomyopathy: Serological evidence of persistent enterovirus infection. In: *Lancet* 1989, 1: 804-807.
22. Bastis, D., Simonet, S., Patterson, M.A., Neill, S.: Identification of enteroviruses by indirect immunofluorescence using monoclonal antibodies. In: *Clinical and Diagnostic Virology* 1995, 3: 83-93.
23. Cohen-Abbo, A., Culley, B.S., Sannella, E.C., Wright, P.F.: Diagnostics tests for poliovirus infection: a comparison of neutralisation and immunofluorescence for the identification and typing of stools isolates. In: *Journal of Virological Methods* 1995, 52: 35-39.
24. Minor, P.D.: Picornaviruses: Topley and Wilson's microbiology and microbial infections. In: Mahy, B.W.J., Collier, A.C. (eds): *Virology London: I. Arnold* 1998, 485 -510.

Adresa autora:

Mgr. Mária Borsányiová, PhD.

Laboratórium pre enterálne vírusy

Oddelenie virológie SZU

Limbová 12, 833 03 Bratislava 37

e-mail: maria.borsanyiova@szu.sk

vedúca oddelenia: MUDr. Anna Petrovičová, CSc.