Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI XCI, knj. 30.

Rezaković, Džemal

2002

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/bd15ed37-b36d-4fde-9b5a-2482564851dc

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

ISSN 1512-8245



AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XCI

Odjeljenje medicinskih nauka

Knjiga 30

Centar za medicinska istraživanja

Knjiga 1

Redakcioni odbor

Jela Grujić-Vasić, Faruk Konjhodžić, Slobodan Loga

Urednik

Džemal Rezaković
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

SARAJEVO 2002

Istraživanje akutnog gastroenteritisa, encefalitisa i meningitisa virusne etiologije

Đemo Subašić[1)], Faruk Konjhodžić [2)], Džemal Rezaković[2)], Kemal Šerić [1)], Faris Gavrankapetanović [1)], Rijad Konjhodžić [1)], Irma Salimović [1)], Mensura Šeremet [1)]

Uvod

Virusi uzročnici akutnog gastroenteritisa kod ljudi su Rotavirusi (grupe A, B i C) i Enteroadenovirusi (tipovi 40 i 41). Rotavirusi pripadaju familiji Reoviridae a specifični su po tome što virioni posjeduju 11 molekula linearne dvostruke RNA, dok su Enteroadenovirusi članovi familije Adenovirusa te imaju monopartitnu, linearnu dvostruku DNA. Ostali virusi koji izazivaju akutni gastroenteritis su mali i okrugli te ima dosta teškoća oko njihove klasifikacije. Na osnovu morfoloških, molekularnih, kliničkih i imunoloških studija ovi virusi su provizorno svrstani u četiri skupine: Norwalk i Norwalk-like virusi, Calicivirusi, Astrovirusi i Small round structured virusi (SRSV) ili virusi sa malim strukturalnim prstenovima. Posjeduju jednostruku, pozitivnu RNA, virusne partikule su sferične, promjera 27-38 nm dok Rota virusi Enteroadenovirusi imaju promjer 70-75 nm, odnosno 70-80 nm. (Blacklow and Greengerg, 1991.; Singleton and Sainsbury, 1993.).

Svake godine u USA ima registrovanih 3,5 miliona slučajeva bolesti od čega 35% otpada na virusni gastroenteritis koji često imaju fatalni kraj. Najčešći uzročnik gastroenteritisa kod dojenčadi jesu Rotavirusi. Kliničku slika ove bolesti karakteriše dehidrirajući gastroenteritis (5-7dana) koji je praćen povraćanjem i groznicom. Najveća incidenca rotavirusnih infekcija utvrđena je kod dojenčadi u dobi od 3-15 mjeseci života.

Uobičajeni tretman kod ove bolesti je upotreba oralnih dehidratacijskih tečnosti (Kapikan and Chanock, 1996.).

SRSV su čest uzročnik akutnog gastroenteritisa. Infekcije su specifične za ustanove kao što su bolnice, domovi gdje je kontakt medicinskog osoblja i

[1)] Klinički centar Univerziteta u Sarajevu, Institut za mikrobiologiju, imunologiju i parazitologiju

[2)] Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

oboljelih pacijenata čest i blizak. SRSV partikule se prenose hranom i vodom (Hedberg and Osterholm, 1993.).

Metode koje se danas koriste za dijagnosticiranje navedenih virusa su ELISA- test, elektronska mikroskopija, Polymerase chain reaction-reverse transcriptase (RT-PCR) ili lančana reakcija polimeraze s upotrebom enzima reverzne transkriptaze, kojim se virusna RNA prevodi u DNA radi PCR amplifikacije. DNA sekvenciranjem se ispituje diverzitet nukleotidnih virusnih sekvenci specifičnih genotipova (Blacklow and Greenberg, 1991. ; Tsai et al., 1994.; Govea et al., 1990.; Gray et al., 1997.; Boom et al, 1990.).

Virusi koji inficiraju centralni nervni sistem kod ljudi su: Herpes simplex virus (HSV), Varicella zoster virus (VZV), Enterovirusi i Mumps virusi.

HSV (tip l i 2) pripadaju familiji Herpesviridae, odnosno subfamiliji Alfa herpesvirinae. Virusne partikule su sferične i sadrže monopartitnu linearnu DNA. HSV-1 je uobičajen uzročnik virusnog encefalitisa. Član familije Herpesviridae je i VZV.

Enterovirusi pripadaju familiji Picornaviridae. Izometrične virusne partikule posjeduju jednostruku, pozitivnu, monopartitnu i linearnu RNA. Mnogi Enterovirusi se mogu umnožavati u kulturi ćelija (HeLa, Vero, Wi-38). Postoji preko 70 različitih tipova Enterovirusa (Poliovirusi 1-3; Coxcackie virusi tipovi A1-A23; B1-B6; Echovirusi tipovi 1-9, 11-27 i 29-33). Meningitis uzrokuju Coxackie virusi, Echovirusi a također i neklasificirani enterovirusi (tip 70 i 71). Enterovirusne infekcije su najčešće tokom ljetnih mjeseci, a infekcije uzrokovane sa HSV uobičajene su tokom cijele godine. Ovi virusi inficiraju dojenčad, malu djecu kao i odrasle osobe. Bez pravovremene odgovarajuće terapije procenat smrtnosti u slučajevima encefalitisa je veći od 70%. Promptnom terapijom sa acyclovirom ovaj procenat se u slučaju HSV infekcija može smanjiti za 20%.

Mumps virus pripada rodu Paramyxvirus, odnosno familiji Paramixoviridae. Virioni imaju nesegmentiranu negativnu jednostruku RNA, sferični su dijametra 150-200 nm.

Danas se brza, visokospecifična i senzitivna detekcija navedenih virusa u kliničkim uzorcima vrši pomoću PCR i RT-PCR (Desselberger, 1995.; Cone et al., 1991.).

Ranije i sadašnje stanje dijagnosticiranja virusa uzročnika gastroenteritisa, encefalitisa i meningitisa u BiH

Dijagnostika raznih tipova enterovirusa u BiH ustanovljena je 1976. godine kada je prof. dr. Kemal Šerić sa saradnicima formirao Laboratorij za proizvodnju kultura ćelija u Institutu za mikrobiologiju, imunologiju

i parazitologiju, na kojima su se vršile izolacije, identifikacije i tipizacije virusa. Enterovirusi su bili detektovani u sporadičnim slučajevima infekcija sa različitom kliničkom simptomatologijom (meningitis, enteritis, egzantemi i razna febrilna stanja). U tom laboratoriju su izolovani uzročnici epidemija seroznog meningitisa koje su bile 1979. i 1988. godine (Coxackie virus A-9, ECHO virus-30, ECHO virusi tip 4 i 7). U BiH također i uzročnici epidemije novorođenčadi sa simptomima miokarditisa i perikarditisa (Coxackie virus B-3).

Za izolaciju i tipizaciju virusa metodom kulture tkiva potrebno je oko mjesec dana, s tim što ovaj metod ima relativno visok stupanj senzitivnosti i specifičnosti. Molekularno-biološkim metodama kao što su PCR i RT-PCr moguće je za 1-2 dana izvršiti identifikaciju virusa uzročnika encefalitisa, meningitisa i gastroenteritisa sa tačnošću od 99,9%. Brzina, senzitivnost i specifičnost su glavni razlozi što je danas PCR metod umjesto ranije kulture tkiva i ćelija, postao "zlatni standard" u dijagnostici infektivnih agenasa (virusa, bakterija, gljivica).

Danas u BiH ne postoji dijagnostika HSV, SRSV, Enterovirusa i Rotavirusa.

Značaj realizacije projekta "Istraživanje akutnog gastroenteritisa, encefalitisa i meningitisa virusne etiologije"

Institut za mikrobiologiju, imunologiju i parazitologiju Kliničkog centra Univerziteta u Sarajevu je zbog svih navedenih razloga pokrenuo istraživački projekat čija bi realizacija dovela do estabiliranja vrhunskih molekularnih metoda (PCR, RT-PCR, DNA sekvenciranje), te ostalih metoda kao što su ELISA, PAGE (Poliakril amid gel elektroforeza) i elektronska mikroskopija a u svrhu dijagnostike i karakterizacije virusa uzročnika gastroenteritisa, encefalitisa i meningitisa na području BiH. Također bi bila omogućena kontrola ovih oboljenja i odgovarajuća pravovremena zaštita pacijenata, osobito dojenčadi i djece.

Na osnovu komparativnih analiza diverziteta nukleotidnih sekvenci detektiranih virusa biće moguće korigirati dizajniranje sekvenci specifične PCR-detekcionih primera za virusne izolate u BiH. Omogućila bi se kontinuirana edukacija mladih stručnjaka iz domena PCR-tehnologije, DNA-sekvenciranja i dizajniranja PCR primera i saradnja sa odgovarajućim institucijama u razvijenim zemljama.

Detekcija virusa i istraživanje nukleotidnih sekvenci dovelo bi do prvih podataka o prisustvu specifičnih virusnih genogrupa na području BiH što je osnov za buduća molekularno-epidemiološka istraživanja. Rana i brza dijagnostika, bazirana na molekularno-biološkim metodama, čini mogućom i realnom pravovremenu i efikasnu terapiju.

Projekat će trajati tri godine, a realizirat će se u Odjeljenju za molekularnu dijagnostiku i istraživanje Instituta za mikrobiologiju pri Kliničkom centru Univerziteta u Sarajevu.

LITERATURA

1. **Blacklow, N. R. and Greenberg, n., 1991:** *Viral gastroenteritis.* The New England Journal of Medicine, vol. 325, No. 4, 252-264.
2. **Boom, R., Salimans, J., Wertheim-Van Dillen, P. And Noordaa van der J. A., 1990:** *A rapid and simple method for purification of nucleic acids.* J. Clin. Microbiology 28, 495-503.
3. **Tsai, Y. L., Tran, B., Sangermano, L. R., Palmer, C. J., 1994:** *Detection of poliovirus, hepatitis A virus and rotavirus from sewage and ocean water by triplex reverse transcriptase PCR.* Appl. Environm. Microbiology 60, 2400-2407.
4. **Govea, V., Glass, R. I., Woods, P., Taniguchi, K., Clarc, H. F., Forrester, B., Fang, Z. Y., 1990:** *Polymerase chain reaction amplification for typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens.* J. Clin Microbiology, 28, 276-282.
5. **Kapikan, A. Z. and Chanock, R. M., 1996:** *Rotaviruses.* In: Fields Virology, 3rd Editian, edited by B. N. Fields et al., p 1657-1708. Lippincott-Raven, Philadelphia.
6. **Gray, J. J., Green, J., Cunliffe, C., Gallimore, C., Lee, J. V., Neal, K. And Brownn, D. W. G., 1997:** *Mixed genogroup SRSV infections among aparty of Canoeists exposed to contaminated recreational water.* Journal of medical Virology, 52, 325-429.
7. **Cone, R. W., Hobson, A. C: , Palmer, J., Remington, M. and Corey, L., 1991:** *Extended duration of herpes simplex virus DNA in genital lesions detected by Polymerase chain reaction.* J. Infect. Dis. 164, 757-760.
8. **Desselberger, U., 1995.:** *Medical Virology- A practical approach.* IRL PRESS, Oxford University Press.
9. **Hedberg, C. W., Osterholm, M. T., 1993:** *Outbreaks of food- borne and water-borne viral gastroenteritis.* Clin. Microbiol. Rev., 6, 199-210.
10. **Singleton, P., Sainsbury, D., 1993:** *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology, 2nd edition.* John Wiley & Sons.