



FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ

Yrd.Doç.Dr. Müjde ERYILMAZ

- **Virolojinin Tarihçesi**
- **Virüslerin Yapısı**
- **Virüslerin Özellikleri**
- **Virüslerin Çoğaltılması**
- **Virüslerin Fiziksel ve Kimyasal Etkenlere Karşı Duyarlılıkları**
- **Viral Replikasyon**

Viroloji

Virüsler organizmada hastalık yapabilen oldukça küçük enfeksiyon etkenleridir. Yapı bakımından en ilkel hücre tipi olan bakterilerden daha da ilkel yapıda olup, bir hücre yapısı göstermezler

Büyüklikleri 20-450 nm arasında değişir
(bakteriler 1000-2000 nm arasındadır (1-2 mikron))

Işık mikroskopunda görülemezler, ancak büyütme gücü fazla olan elektron mikroskobu ile görülebilirler

Tarihçe

- 1798'de Jenner inek çiçeğini, insana bulaştırmak suretiyle çiçek hastalığına karşı koruyuculuk sağlayarak immunolojinin temelini atmıştır
- 1885'de Pasteur tarafından kuduz aşısı bulunmuştur
- 1892'de Iwanowski ilk defa tütün mozaik virüsünü bulmuştur. Yine aynı yıllarda, Löffler ve Frosch sığırlarda önemli hastalıklara yol açan şap virüsünün filtreleri geçtiğini saptamışlardır

Tarihçe

1931'de ilk kez virüsler tavuk embriyosunda üretilmiştir

1954'de Poliyo (çocuk felci) aşısı bulunmuştur

1983'de AIDS etkeni olarak HIV tanımlanmıştır

Virüslerin Özellikleri

- Virüsler tam bir hücre yapısı göstermezler
- Organelleri ve ribozomları yoktur
- Tek başlarına yaşamak için gerekli olan enerjiyi ve makromolekülleri sentezleyemezler
- Gereksinim duydukları enerjiyi içinde buldukları konak hücreden sağlarlar, hücre dışına çıkan virüsler enerji sağlayamazlar

Virüslerin Özellikleri

- Virüslerde kendine özgü yapıdaki moleküllerin yapılmasını yöneten genetik bilgi vardır
- Ancak bu moleküllerin oluşturulması için gerekli prekürsörleri ve sentez mekanizmasını konak hücre sağlar
- Virüsler enfekte ettikleri konak hücrenin metabolik sistemlerinden yararlanırlar

Virüslerin oğaltılması

Virüsler yalnızca canlı hücrelerin bulunduğu ortamlarda çoğalabilirler

- hücre kültürlerinde
- embriyolu tavuk yumurtasında
- deney hayvanlarında üreyebilirler

Virüslerin oğaltılması

Duyarlı deney hayvanlarında virüsler önemli değişiklikler yapabilirler. Bu değişiklikler bazı virüsler için özgüldür (deney hayvanının ölmesi, ateş, felçler vb)

Embriyolu yumurtaya aşılana virüsün türüne ve inokülasyon yerine bağlı olarak çeşitli belirtiler saptanabilir (embriyonun ölmesi, koriyo allantoik zarlara yapılan inokülasyonlarda zarlar üzerinde plakların ve pok denilen içi sıvı dolu kabartıların oluşması vb)

Virüslerin oğaltılması

- Doku kùltürlerinde virüslerin üremeleri çeşitli belirtilerle anlaşılabilir. Bazı virüsler doku kùltürlerinde üretildiklerinde hücrelerde mikroskop ile görülebilen çeşitli değişiklikler oluştururlar. Bu tür değişikliklere **Sitopatik Etki** denir.
- Değişiklikler hücrelerin parçalanarak ölmesi, hücreler arası zarların kalkması ile hücrelerin birleşerek dev hücreler oluşturması, hücrelerin yuvarlaklaşır kümeleşerek üzüm salkımı görünümünü alması şeklinde olabilir.

Virüslerin Özellikleri

Antibiyotikler bakteriler üzerine etkili olup, üremelerini durdurmakta ya da ölümüne yol açmaktadır

Virüsler ise antibiyotiklerin varlığından hiç etkilenmezler

Virüsler iyi antijenik özellik göstermekte olup, organizmada kuvvetli ve kalıcı bir antikor yanıtı oluştururlar

Virüslerin Özellikleri

Bakteriler genellikle interferonun olumsuz etkisinden etkilenmemesine rağmen, virüsler interferon varlığında üremelerini sürdürmezler

İnterferon (İFN), vücut hücrelerinin çoğunluğunca sentezlenen, bakterilere, parazitlere, virüslere ve tümörlere karşı etki gösteren bir proteindir. Sitokin olarak bilinen, glikoproteinlerin en büyük sınıfı altında incelenirler. Virüsle karşılaşan her türlü canlı hücre tarafından hazırlanabilirler. İnterferonların en önemli etkileri, virüslerin çoğalmasını önleyebilmeleridir. Vücudun diğer hücrelerinde viral replikasyonu inhibe ederek immün cevaba yardımcı olurlar

Virüslerin Yapısı

- **Genetik materyali** saran ve **kapsid** adı verilen **protein kılıftan** oluşmuş temel yaşam biçimidir.
- Bazı virüslerde kapsidi saran, **lipid** kaynaklı ve **glikoproteinler** içeren bir **zarf** bulunur.
- Virüsler tek tip nükleik asit içerirler.
- Genetik materyal ya DNA ya da RNA'dır. İkisi bir arada hiçbir zaman bulunmaz.
- Virüsün yapısal ve yapısal olmayan proteinlerinin sentezi için gerekli genetik şifreyi taşır.
- Küçük virüslerde genom 3-4 gen taşırken, büyük virüslerde bu sayı 200-300 gene çıkabilir.

Virüslerin Yapısı

Bilinen tüm hücrelerin genomları **çift iplikçikli (ds: double-stranded) DNA**'dan oluşurken, virüs genomları **tek iplikçikli (ss: single-stranded) veya çift iplikçikli DNA veya RNA**'dan oluşabilir.

Nükleik asitler:

- tek iplikçikli (ss) veya çift iplikçikli (ds)
- düz ya da çembersel
- segmentsiz (tek molekül) veya segmentli (iki veya daha fazla molekül) olabilirler

Virüslerin Yapısı

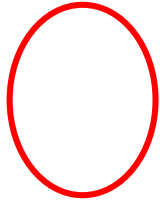
DNA Genomes



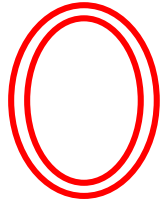
ss, linear ————— Parvoviruses



ds, linear



ss, circular



ds, circular

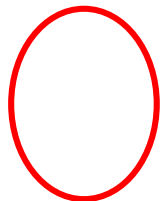
RNA Genomes



ss, linear



ds, linear ————— Reoviruses



ss, circular

Virüslerin Yapısı

ssRNA; pozitif (+) polariteli tek iplikli RNA veya negatif (-) polariteli tek iplikli RNA'dan oluşabilir.

- **pozitif (+) polariteli tek iplikli RNA genomu, mRNA olarak görev yapabilir ve doğrudan proteine dönüştürülür**
- **negatif (-) polariteli tek iplikli RNA, doğrudan mRNA olarak görev yapamaz ve proteine çevrilemez**

Virüslerin Yapısı

- Birçok virüsün nükleik asidi tek molekül halinde bulunurken, bazı virüslerde **genom parçacıklı** olarak görülür.
- **Segmentli genomlar, RNA virüslerinde yaygın olarak görülür**
- **Genomun segmentli olması, bu virüslerde yüksek sıklıkta rekombinasyon oluşmasına neden olur. Buna bağlı olarak da yeni antijenik tipler ortaya çıkar.**

Virüslerin Yapısı

- Viral genomu çevreleyen, protein yapısındaki kılıfa **kapsid** adı verilir. Kapsidi oluşturan her bir yapısal üniteye **kapsomer** adı verilir. (5-6 protomerin birleşmesi ile oluşan ortası delik, çembersel birime kapsomer adı verilir)

Kapsidin Başlıca Görevleri:

- Nükleik asidi, nükleaz enzimlerinden ve dış etkilere korur
- Virüslerin özgül hücre reseptörlerine yapışmasını sağlar
- Virionun yapı simetrisini verir ve biçimini oluşturur
- Virüsün antijen özelliğini verir

Virüslerin Yapısı

Kapsomerler, farklı virüslerde farklı şekillerde dizilmiş olup, bu dizilimler virüslerin simetrik yapılarını oluşturur. Bu farklı simetrik yapılar ise virüslere şeklini verir.

Virüsler kapsidlerinin oluşturduğu simetrik yapıya göre 3 gruba ayrılırlar.

- İkozahedral simetrik virüsler
- Helikal simetrik virüsler
- Kompleks simetrik virüsler

Virüslerin Yapısı

İkozahedral Simettrili Virüsler (Kübik Simettrili)

- İkozahedral simettrili kapsidler, kapsomerlerin eşkenar üçgen şeklinde düzenlenmesiyle oluşur.
- Daha sonra 20 eşkenar üçgen bir araya gelip, ikozahedron oluşturur.
- **Kübik simetri gösteren başlıca virüs familyaları:**
DNA Virüslerinden: Parvoviridae, Papovaviridae, Adenoviridae, Herpetoviridae
RNA Virüslerinden: Picornaviridae, Reoviridae, Togaviridae

Virüslerin Yapısı

Helikal (Sarmal=Spiral) Simetrili Virüsler

- Kapsidi oluşturan kapsomerler, nükleik asidin etrafını çevreleyerek onunla birlikte merdivensi bir sarmal oluştururlar
- Helikal simetrili kapsidler yalnızca RNA virüslerinde bulunmaktadır.
- İnsanda hastalık oluşturan bütün helikal simetrili virüsler zarflıdır.
- **Helikal simetrili başlıca virüs familyaları:**
Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae

Virüslerin Yapısı

Kompleks (Karışık) Simetrikli Virüsler

- Bazı virüs grupları belirgin bir simetri yapısı göstermezler, karmaşık ve daha farklı bir kapsid yapıları vardır.
- **Kompleks yapı gösteren başlıca virüs familyaları:**
Poxviridae, Arenaviridae, Coronaviridae

Virüslerin Yapısı

Viral **nükleik asit** ile kendini çevreleyen **kapsidin** oluşturduğu yapıya **nükleokapsid** adı verilir.

Sadece nükleokapsidden ibaret olan virüslere **çıplak virüsler** adı verilir.

Virüslerin bir kısmı yalnız nükleokapsidden yapıları olduğu halde (Parvoviridae, Adenoviridae, Picornaviridae, Reoviridae) bazılarının en dış kısmında **zarf** bulunmaktadır.

Virion: virüs partikülü (hücre dışı form)

Virüslerin Yapısı

Zarf konak hücre membranından köken alır. Viral zarfta, hücre membranında olduğu gibi bir **lipid tabaka** ve **virüse özgül fonksiyonları olan proteinler** bulunur

Proteinler iki çeşit olup, bunlardan **glikoproteinler peplomer** adını alır. **Virüsün konak hücreye adsorpsiyonu**, bazı virüslerde **hemaglütinasyon özelliğini** bu proteinler verir.

İkinci grup proteinler, **matriks proteinleri** adını alır. Matriks proteinleri, glikoprotein çıkıntılarının taban kısmında, virüsü çevreleyen proteinlerdir.

Virüslerin Yapısı

Bu proteinler birçok hidrofobik bağlarla zarfın lipit tabakasına bağlanırlar. **Matriks proteinleri virüslerin hücre membranından tomurcuklanmasında önemli rol oynarlar.**

Çıplak virüsler (nükleokapsid), içinde buldukları hücreden **hücre zarının parçalanmasıyla** ayrılırlar (çoğunlukla **Apoptozis**=virüs veya konakçı tarafından başlatılan programlanmış hücre ölümü)

Zarflı virüsler, üredikleri hücreden **tomurcuklanma** ile ayrılırlar

Virüslerin Yapısı

- **Zarflı virüsler** lipit içermeleri nedeniyle eter ve kloroform gibi **lipit eriticiler karşısında dayanıksızdır.**

Glikoproteinler zarflı virüslerin hedef hücre reseptörleri ile birleşmelerini sağladıkları gibi aynı zamanda da önemli viral antijenlerdir.

Kuduz virüsünün zarfında bulunan glikoproteinler, beyin hücrelerinde asetil kolin reseptörlerine bağlanarak **nörotoksik etki** gösterirler.

Virüslerin Yapısı

Influenza virüsünde **nöroaminidaz** etkisi gösteren **glikoproteinler** bulunur. Virüs bu sayede üst solunum yolunda bulunan **musin tabakasını eriterek**, hücrelerin yüzeyini açığa çıkarır. Böylece yüzeyi açığa çıkmış hücrelere **virüs daha kolay adsorbe olur**.

Viral Enzimler

Bazı virüsler, viral genler tarafından kodlanan ve replikasyonda rol oynayan enzimler içerirler.

Polimerazlar

- **DNA polimeraz** (DNA virüslerinde bulunur, DNA'dan DNA sentezi yapar)
- **RNA polimeraz** (Negatif polariteli RNA virüslerinde, viral RNA'yı mRNA'ya çevirirler)

Revers transkriptaz (RNA'dan, DNA sentezi yapar)

Viral Enzimler

RNA polimeraz: Viral RNA'yı mRNA şekline transkribe eder. Yalnızca negatif polariteli virüslerde bulunur. Bu enzim insan ya da hayvan hücrelerinde bulunmaz.

DNA polimeraz: DNA'dan DNA sentez eden bir enzimdir. DNA virüslerinde bulunur.

Revers transkriptaz: RNA'dan DNA sentezini yöneten bir enzimdir. Bu enzim sayesinde hücre içerisine giren virüs RNA'dan çift iplikçikli DNA oluşturarak, yeni oluşan bu DNA'nın hücre kromozomu ile entegre hale gelmesini sağlar.

Retrovirüslerde bulunan bir enzimdir.

İnklüzyon Cisimcikleri

Bazı virüsler girdikleri hücre içerisinde **çekirdekte** (Herpes, Papova, Adenovirus), **sitoplazmada** (Kuduz, Çiçek virüsleri) ya da **bazıları hem çekirdek hem de sitoplazmada** (Kızamık, Cytomegalovirus) çoğu kez asit boyalarla boyanıp ışık mikroskobu ile görülebilen cisimler yaparlar.

İnklüzyon cisimcikleri preparatlarda boyanarak incelenebilir ve böylece bazı virüslerin tanısı ışık mikroskobu ile yapılabilir.

Kuduzda sitoplazma içi (**Negri cisimcikleri**), **çiçekte** sitoplazma içi (**Guarnieri**) ve su çiçeğindeki çekirdek içi inklüzyon cisimcikleri mikroskopta görülebilir.

İnterferans

- Bazı virüslerin konak hücrede üremeleri halinde artık başka virüslerin aynı hücreye girmelerini önlemeleri olayıdır.
- (Hücreyi enfekte eden virüsün, hücrenin diğer bir virüsle enfekte edilmesini engellemesi)

Virüslerin Fiziksel-Kimyasal Etkenlere Karşı Duyarlılıkları

Isı

- Virüsler genellikle yüksek ısıya karşı dayanıksızdırlar. Virüslerin bir çoğu 60 °C ısıda 60 dakika içinde inaktive olurlar.
- Yüksek ısı etkisi ile kapsid proteinlerinin yapısı bozularak, virüsün konak hücreye bağlanma yeteneği kaybolur.
- **Zarflı virüsler, yapısındaki lipit nedeniyle ısıya daha dayanıksızdır.** Daha düşük ısılarda bile kısa sürede inaktive olurlar.

Virüslerin Fiziksel-Kimyasal Etkenlere Karşı Duyarlılıkları

Isı

Virüsler soğuk havaya karşı oldukça dayanıklıdırlar. -70 ile -196 °C arasındaki ısılarda yıllarca saklanabilirler.

pH

- Virüslerin çoğu nötr pH ve izotonik bir çevreyi tercih ederler.
- pH 5-9 arasında canlılıklarını sürdürürler. Bunun dışındaki pH'larda genellikle inaktive olurlar.

Virüslerin Fiziksel-Kimyasal Etkenlere Karşı Duyarlılıkları

Işınlar

UV., X ve gama ışınları virüsleri kısa sürede inaktive ederler. Bu ışınların öldürücü dozları tüm virüsler için farklılıklar göstermektedir. Etkileri daha çok nükleik asitler üzerine olmaktadır.

Lipit Eritici Maddeler

- Zarf üzerinde bol miktarda lipit bulunması nedeniyle zarflı virüsler eter, kloroform gibi lipit eritici maddelere karşı oldukça duyarlıdır.
- Zarflı virüsler sindirim kanalında safra ile temas ettiklerinde harap olurlar.

Virüslerin Fiziksel-Kimyasal Etkenlere Karşı Duyarlılıkları

Antiseptik ve Dezenfektanlar

- Bakteriler üzerinde etkili olan antiseptik ve dezenfektanların çoğunun virüsler üzerine etkisi sınırlıdır.
- Formaldehit, hidroklorik asit, sodyum hipoklorit virüsler üzerine etkili olan maddelerdir.
- Viral enfeksiyonlara karşı içme sularının klorlanmasında, klor oranının bakteriyel kontaminasyonlardakine oranla daha yüksek tutulması gerekir.

Antiseptik ve Dezenfektanlar

- Formaldehit, viral nükleik asiti bozarak etkili olur. Bu etki sonucunda viral enfektivite ortadan kalkarken, viral proteinler zarar görmezler ve dolayısıyla virüsün antijenik özelliği aynen devam eder.
- Bu özelliğinden dolayı formaldehit inaktif aşı yapımında çok kullanılan bir maddedir.

Virüslerin Çoğalması (Viral Replikasyon)

Virüslerin çoğalabilmeleri için canlı hücreye gereksinimleri vardır. Çoğalabilmek için, içine girdikleri hücrenin sentez mekanizmasını, enerjisini ve kimyasal maddelerini kullanırlar. Konak hücreye kendi kendilerini sentez ettirmek işlemine dayalı olan bu çoğalma şekline **replikasyon** denir.

Adsorbsiyon: Viral partikül konak hücre membranına bağlanır.

Penetrasyon: Viral nükleik asit (DNA ya da RNA) konak hücre sitoplazması içine girer.

Eklipse (Replikasyon): Viral componentler oluşturulmaya başlar. Bu dönemde virüs hastalık yapma özelliğini kaybeder

Virüslerin Çoğalması (Viral Replikasyon)

Olgun virionların oluşumu: Sentezlenen viral komponentler bir araya gelir ve virüs enfeksiyon yapabilir hale gelir

Enfekte hücreyi terk:

- Zarflı virüsler hücreyi parçalamadan çıkarlar (tomurcuklanarak)
- Zarfsız virüsler hücreyi parçalayıp dışarı çıkarlar

Virüslerin Çoğalması (Viral Replikasyon)

- Virüsler önce konak hücrenin sitoplazmik zarına ve her virüs için özgül olan algaçlara yapışırlar.
- Virüslerin enfekte edeceği hücrenin önce yüzeyine tutunması ve sonra da hücre içine alınması işlemine **viropeksis** adı verilir.

Virüslerin ođalması (Viral Replikasyon)

- **Zarfsız virüsler kapsidleri aracılığı ile konak hücreye yapışırlar.**
- Pinositoza benzer bir olayla hücre zarında bir torbacık içerisine alındıktan sonra sitoplazmaya girerler. Burada kapsidlerinden ayrılan virüs nükleik asitleri serbest kalır.

Zarflı virüslerde ise, virüs zarfı peplomerler aracılığı ile hücre zarına tutunur ve virion hücre zarından füzyon yolu ile sitoplazmaya girer.

Virüslerin Çoğalması (Viral Replikasyon)

Virüslerde 3 tip RNA bulunabilir

- Pozitif (+) iplikli RNA
- Negatif (-) iplikli RNA
- Retrovirüslerin RNA'sı

Pozitif (+) iplikli RNA

- Pozitif iplikli RNA, mRNA'ya benzer.
- Pozitif iplikli bir RNA virüsü hücre içine girdiğinde RNA'sı konak hücre ribozomu tarafından hemen proteinlere transle edilebilir.

Virüslerin Çoğalması (Viral Replikasyon)

Negatif (-) iplikli RNA

- Negatif iplikli bir RNA virüsü, hücre içine girdiği zaman konak hücre ribozomu tarafından hemen proteinlere transle edilemez.
- Önce pozitif iplikli bir RNA'ya (mRNA gibi) transkripte edilmelidir.
- Bunu yapmak için negatif iplikli RNA virüsleri, kapsidleri içinde negatif ipliği, pozitif ipliğe çevirecek **RNA bağımlı RNA polimeraz** isimli bir enzim taşırlar.
- İnsan hücrelerinde **RNA bağımlı RNA polimeraz** enzimi yoktur. Bu enzimi negatif iplikli virüsler kendileri taşır.

Virüslerin Çoğalması (Viral Replikasyon)

Retrovirüslerin RNA'sı

- HIV virüsünün de üyesi olduğu Retrovirüslerin RNA'sı DNA'ya çevrilir. Bu virüsler bunu yapan **revers transkriptaz** enzimini taşırlar.

Pozitif RNA $\xrightarrow{\text{translasyon}}$ Yapısal protein-enzimler

Negatif RNA $\xrightarrow{\text{Transkripsiyon RNA bağımlı RNA polimeraz}}$ Pozitif RNA (mRNA) $\xrightarrow{\text{Translasyon}}$ Yapısal protein-enzimler

RNA $\xrightarrow{\text{revers transkriptaz}}$ DNA $\xrightarrow{\text{transkripsiyon}}$ mRNA $\xrightarrow{\text{translasyon}}$ Yapısal protein-enzimler

Virüslerin Çoğalması (Viral Replikasyon)

- **Pozitif polariteli virüsler**, konak hücre içinde doğrudan enfeksiyözdür.
- **Negatif polariteli virüslerin**, viral RNA'ları enfeksiyöz değildir. Bu virüsler ancak içerdikleri **RNA bağımlı RNA polimeraz enzimi** aracılığıyla, RNA genomlarının her biri ayrı ayrı mRNA işlevi gören moleküllerin transkripsiyonunu sağladıktan sonra enfeksiyöz hale gelebilirler.

Virüslerin Çoğalması (Viral Replikasyon)

- **DNA virüslerinde**, DNA direkt olarak proteinlere transle edilemez. Önce mRNA'ya transkripte edilip, daha sonra yapısal protein ve enzimler oluşturulur.
- Her DNA virüsü, hem pozitif hem de negatif iplik taşır. Pozitif iplik okunan ipliğe karşılık gelirken, negatif iplik görmezden gelinir.
- Direkt olarak proteinlere transle olan pozitif iplikli RNA virüslerinin aksine, pozitif iplikli DNA virüsleri mRNA'ya transkripsiyon için templat olarak kullanılır.

