

KIRIMKONGO KANAMALI ATEŞ VİRÜSÜ VE VİRÜSE KARŞI YAPILAN AŞI ÇALIŞMALARI

Esen Göksoy Bakhautdin

ÖZET

Kırım Kongo Kanamalı Ateş (KKKA) virüsü keneler yoluyla insanı enfekte eden ve ölümlere yol açan bulaşıcı bir viral hastalıktır. Ülkemizin belli bölgelerinde de mevsimsel olarak görülen virüse karşı

koruyucu herhangi bir aşı veya etkili tedavi yolları bulunmamaktadır. Bu derlemede, KKKA virüsü ve virüse karşı şu ana kadar yapılan aşı çalışmaları sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: KKKA virüsü, kene, KKKA hastalığı, aşı. Nobel Med 2017; 13(1): 5-8

CRIMEAN-CONGO HEMORRHAGIC FEVER VIRUS AND VACCINE STUDIES AGAINST THE VIRUS

ABSTRACT

Crimean-Congo Haemorrhagic Fever (CCHF) virus is a contagious, viral disease that is carried by tick bites and

leads to infection and death of people. As the seasonal virus is seen in certain regions of Turkey, there is no vaccine or effective treatment against the disease. In this review, CCHF virus and vaccine studies against it have been presented.

Keywords: CCHF virus, tick, CCHF disease, vaccin. Nobel Med 2017; 13(1): 5-8

GİRİŞ

Kırım Kongo Kanamalı Ateş Hastalığı ve Kırım Kongo Kanamalı Ateş Virüsü

Kırım Kongo Kanamalı Ateş (KKKA) hastalığı keneler yoluyla bulaşan ve %5-30 ölüm riski taşıyan viral bir hastalıktır. KKKA virüsü, Hyalomma genusundan kenelerle, özellikle de H. marginatum marginatum türü keneler tarafından taşınmaktadır. KKKA hastalığı ilk kez Sovyetler Birliği'nde Kırım bölgesinde II. Dünya Savaşı'nın son yıllarında görülmüştür.^{1,2} KKKA virüsü de ilk olarak 1960'larda Hyalomma genusunun yetişkin formlarından izole edilmiştir.³ Henüz ergin olmamış Hyalomma soyuna ait keneler, küçük omurgalılarından kan emerken KKKA virüslerini alır, gelişme evrelerinde muhafaza eder ve ergin kene olduğunda da hayvanlardan ve insanlardan kan emerken bu virüsü bulaştırırlar. KKKA hastalığı kenelerin ısırmasıyla insanları hafif, orta ve ölümcül seviyede hasta etmektedir.

Hastalık başta miyalji ve yüksek ateşle kendini göstermekte ve virüsün çoğalması ve endotel enfeksiyonuyla kanama, organ yetmezliği ve septik şok sonucu ölüme sebebiyet verebilmektedir.⁴ Sağlık Bakanlığı verilerine göre KKKA hastalığı ülkemizde ilk kez 2002 yılında rapor edilmiş ve bu tarihten 2015 yılı sonuna kadar geçen sürede 9787 kişi KKKA hastalığına yakalanmış ve 469 kişi hayatını kaybetmiştir.⁵ Ölen hastaların hemen hepsinde serumdaki virus seviyesi (viral load) çok yüksek çıkmış ve ribavirin adlı antiviral ilacın etkin olmadığı ülkemizdeki farklı araştırma grupları tarafından yayınlanmıştır.^{6,7}

Her yıl Mart-Kasım aylarında görülen hastalık, Haziran-Temmuz ayları arasında pik yapmaktadır. Ağırlıklı olarak İç Anadolu Bölgesi'nin kuzeyi, Karadeniz Bölgesi'nin güneyi ve Doğu Anadolu Bölgesi'nin kuzeyinde görülen hastalık, ilk kez Tokat ilinde görülmüştür. Hastalığın etkilediği başlıca yerler Tokat, Çorum, Yozgat, Erzurum, Erzincan, Gümüşhane, Bayburt, Sivas, Amasya, Çankırı, Bolu, Kastamonu, Artvin, Giresun, Ardahan, Tunceli, Bingöl, Karabük ve Samsun illerimizdir.⁸ Hastalık, daha çok tarım ve hayvancılıkla uğraşanları ve enfekte olmuş hastalarla temas eden sağlık personelinin tehdit etmektedir. KKKA hastalığının değişen iklim ve bitki örtüsü ile tekrar bir epidemiyi yaratması muhtemeldir ve bu hastalığın şu anda kesin bir tedavisi bulunmamaktadır. Hastalık sadece ülkemizde değil dünyada da Asya, Ortadoğu, Güneydoğu Avrupa ve Afrika'da 30'dan fazla ülkede görülmüştür. Bu bölgelerde, epidemik vakalarına bağlı olarak ölüm oranları %5 ile %30 arasındadır.^{9,10}

KKKA virüsü (KKKAV) Bunyaviridae ailesinin Nairovirus grubuna bağlı bir RNA virüsüdür.¹¹ Bunyavirüsler, dış zarf proteinleriyle örülü olan ve negatif polaritesi olan tek iplikçikli RNA parçacığından oluşmaktadır.¹⁰

KKKAV'nın 8 farklı genetik grubu olduğu tespit edilmiştir. Türkiye'deki vakalardan izole edilen KKKAV suşlarının Güney Rusya (Kuzey Kafkaslar) ve Kosova suşlarına yakın olduğu ve İran'da 2002'de görülen salgındaki suşlardan farklı olduğu belirlenmiştir.^{12,13}

KKKA virüsünün genomik RNA yapısı 3 parçadan (S, M, L segment) oluşmaktadır ve bu RNA segmentleri, Nucleoprotein (NP) adlı 482 amino asit uzunluğundaki protein tarafından örülüdür (Şekil).¹⁴ M segment genomu Gn ve Gc adlı iki dış zarf glikoproteinini ve L segment genomu ise RNA-bağımlı RNA polimeraz enzimini kodlamaktadır.¹⁵ KKKA virüsünün 7 suşunun GenBank'tan alınan aminoasit dizimleri karşılaştırıldığında NP proteinlerinin %90'dan fazla aynı olduğu, ancak virüs zarf proteinlerini kodlayan M segmentinin ise en az korunan genom olduğu görülmüştür.¹³ Bu bilgi, KKKA virüs zarf proteinleri olan Gn ve Gc proteinlerini kodlayan genlerin, diğer RNA virüslerinde (Influenza virüsleri, Hantavirüs, Lassa virüsü) olduğu gibi sürekli mutasyona uğradığını göstermektedir. Bu nedenle KKKA virüs zarf proteinlerini (Gn ve Gc) hedef alan rekombinant veya inaktif virüs içeren aşılarda mutasyon nedeniyle uzun vadeli koruyucu etkisinin olabileceği kuşkuludur.

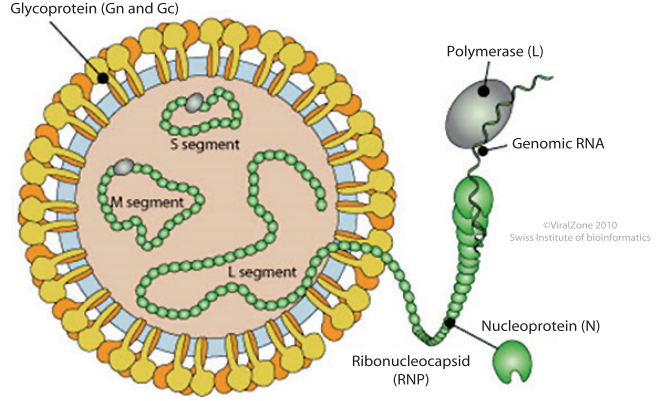
KKKA Virüsüne Karşı Geliştirilen Aşılar

KKKA hastalığına karşı ilk aşı Sovyet bilim adamı Chumakov tarafından geliştirilmiştir. Yavru fare beyininde amplifiye edilen KKKA Virüsü, kloroform ile inaktif hale getirilip aşı olarak hazırlanmış ve o dönemde Sovyet Rusya'da ve daha sonra da Bulgaristan'da kullanılmıştır.¹⁶ Aşılamanın yapıldığı insanlarda bu aşıya karşı hem hücresel hem de humoral yanıt görülmüştür; ancak 4 kez aşılamaya rağmen çok düşük nötralize edici antikor titresi bulunmuştur.¹⁷ Ancak bu aşı, gerek temiz üretilmemesi gerekse de aşılamaya verilerinin iyi tutulmaması nedeniyle Avrupa İlaç Ajansı (EMA) ve Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından lisans alamamıştır. Bu aşının şu anki uluslararası aşı geliştirme kurallarına uymadığı ve bu nedenle kullanılamayacağı açıklar.

Günümüzde, DNA aşılarda, rekombinant viral protein-temelli aşılarda ve virüse benzer yapıları (virion particle) aşılarda gibi farklı ve modern teknikler kullanılarak yapılan aşılarda KKKA hastalığına karşı aşılar mevcuttur. Fakat KKKA hastalığının hayvan modeli olmadığı için uzun süre KKKA aşısı geliştirilemedi. Örneğin, Amerikalı bilim adamları KKKA virüsü M genom segmentini içeren DNA aşısı geliştirdiler ve bunun yavru farelerde nötralize edici antikorları ortaya çıkardığını gösterdiler.¹⁸ Ancak, bu aşının önleyicilik etkisini o yıllarda fare modeli olmadığı için araştıramadılar. Son yıllarda, özellikle 2010 yılından itibaren, ölümcül KKKA virüs enfeksiyonu için interferon yanıtları yok edilmiş (STAT-1, IFN1R, IFN α/β receptor knock-out gibi)

fare modelleri oluşturulmuştur.¹⁹⁻²¹ Bu çalışmaların, hem aşı geliştirme çalışmalarını hem de hastalığı tedavi amaçlı araştırmaları hızlandırması beklenmektedir. Ancak gerek Amerika'da ve gerekse Avrupa'da bu hastalığın görülmemesi sebebiyle, büyük aşı şirketleri için KKKAV aşısı, pazar payı büyük ve karlı bir yatırım olarak görülmemekte, bu da aşının yapılmasını ötelemektedir. Ayrıca normal fare ve sıçanlar, KKKAV virüsü tarafından enfekte olmamakta, bu da üremesi ve yaşaması zor olan knock out farelerin kullanılmasını zaruri kılmaktadır. Ülkemizde de 2002 yılından beri bu hastalık görülmesine rağmen, ülkemizde bu virüsle çalışacak biyogüvenlik seviyesi 4 (BSL-4-en üst seviye) laboratuvarı mevcut değildir. Ayrıca KKKAV hayvan modelleri (STAT-1, IFN1R, IFN α/β knock-out gibi), interferon sinyal mekanizmaları zayıflatılmış veya bozulmuş hayvanlar olduğu için patojensiz (specific pathogen free-SPF) steril hayvan barınaklarında kalması gerekmektedir; ancak SPF hayvan merkezleri ülkemizde çok az sayıda ve kısıtlı kapasiteyle çalışmaktadırlar ve bu durum aşı geliştirme gibi deneysel hayvanların çok kullanıldığı çalışmaları olumsuz etkilemektedir.

Yakın zamanda büyük gen parçalarını taşıyabilmesi nedeniyle Modified Vaccinia virus Ankara (MVA) gibi poxviral vektörlü aşılarda KKKAV aşısı olarak denenmiştir.^{22,23} Bu vektörlerin tercih edilmesinin sebebi memeli hücrelerde çoğalamayan MVA'nın, rekombinant genleri post-translasyonel modifikasyonlarıyla beraber konak hücrede yüksek seviyede ekspres etmesidir.^{24,25} Ayrıca, ekstra adjuvan kullanmaya gerek kalmadan MVA'nın hem hücre hem de humoral immün yanıt verdiği gösterilmiştir.²⁶ Buttigieg ve ark. tarafından KKKAV virüsünün dış zarf proteinleri olan Gn ve Gc proteinlerinin MVA vektörüne klonlanmasıyla elde edilen aşı, 2 doz intramusküler olarak A129 (IFN α/β R^{-/-}) faresine enjekte edilmiş ve 2 hafta sonra 200 TCID₅₀ KKKAV virüs dozu (minimum ölümcül dozun iki katı doz) deri altından farelere enjekte edilerek aşının koruyuculuğu test edilmiştir.²² MVA-Gn/Gc aşısının yüksek oranda hem hücre hem de humoral bağışıklık sağladığı ve virüse karşı %100 koruma yaptığı ve aşının etkin olduğu gösterilmiştir. Aynı grup tarafından KKKAV virüsü Nucleoprotein de MVA vektörüne klonlanarak aynı deney setiyle test edildiğinde MVA-NP'nin antijen-spesifik yüksek immünite sağladığı ancak virüse karşı koruyucu olmadığını göstermiştir.²³ İlginç olan Kortekaas ve ark. tarafından, KKKAV virüsünün dış zarf proteinleri olan Gn ve Gc proteinlerinin (MVA vektörü yerine Bacelovirüs sistem) kullanılmasıyla elde edilen rekombinant protein bazlı aşı, STAT1^{-/-} farelerine verildiğinde KKKAV virüsüne karşı koruyucu olamamıştır.²⁷ Burada kullanılan knock-out fare türünün veya aşının içeriğinin farklı olması aşının koruyuculuğuna etki etmiş olabilir.



Şekil. KKKAV virüsünün genom yapısı³⁰

Türk bilim adamları, Kırım Kongo hastalığından en fazla etkilenen ülkelere biri olarak 2010 yılından beri KKKAV aşısı geliştirilmesi için çaba sarf etmektedirler. Ülkemizde hastalığı geçirmiş kişilerden elde edilerek hazırlanan antiserum, KKKAV hastalarını büyük oranda iyileştirmiş olmasına rağmen kaynağı çok sınırlı olan insan serumu kullanılarak üretildiğinden kullanım alanı ve ömrü sınırlıdır.²⁸ Bir diğer aşı elde etme yöntemi de inaktif veya zayıflatılmış virüsün kendisinin aşı olarak denenmesidir. Yakın zamanda Özdemir ve ark. tarafından yapılan inaktif virus aşısı, IFN α/β R^{-/-} farelerinde yüksek humoral bağışıklık ve %80 koruma sağlamıştır.²⁹ Her ne kadar aşı sadece KKKAV Kelkit06 virüs suşuna karşı denenip dünyadaki farklı suşlara karşı denenmediyse de aşının Faz-I çalışmasının Türkiye'de 60 sağlıklı insan üzerinde denendiği ve herhangi bir yan etkiye sebep olmadığı belirtildi (kişisel bilgi). Aşılanan insanların, kene yoluyla bulaşan KKKAV virüsüne karşı koruyucu olup olmadığı henüz bilinmemektedir.

SONUÇ

KKKAV virüsü, keneler yoluyla hastalığı yaymaya ve ölümlere sebep olmaya devam etmektedir. Yapılan çalışmalar sonunda, KKKAV virüsünün genomu, suşları, hastalığın etkilediği coğrafi bölgeler ve hasta popülasyonu gibi birçok temel bilgi öğrenilmiş, bu bilgiler hastalıkla mücadelede önemli bir basamak olan aşı çalışmalarına hız kazandırmıştır. Gerek Türkiye'de gerekse gelişmiş ülkelerde KKKAV hastalığına karşı hem viral bazlı hem de rekombinant protein bazlı aşı geliştirme çalışmaları devam etmektedir. Tek iplikçikli RNA virüslerinde olduğu gibi KKKAV virüsünde de oluşan mutasyonlar nedeniyle dış zarf proteinlerine karşı yapılan aşılarda zamanla koruyuculuğunu kaybetmektedirler; bu nedenle korunaklı sekans bölgelerini hedef alan peptid aşılarda, farklı viral vektörler ve adjuvanlar kullanılarak KKKAV virüsüne karşı yeni aşılarda geliştirilmesi önem arz etmektedir.

*Yazarlar herhangi bir çıkar ilişkisi içinde bulunmadıklarını bildirmektedir.



**KIRIM KONGO
KANAMALI ATEŞ
VİRÜSÜ VE VİRÜSE
KARŞI YAPILAN AŞI
ÇALIŞMALARI**

KAYNAKLAR

1. Porterfield JS, Casals J, Chumakov MP, et al. Bunyaviruses and Bunyaviridae. *Intervirology* 1975; 6: 13-24.
2. Chumakov MP, Sokolov, AE, Kolachev, AA. A new tick-borne virus disease Crimean hemorrhagic fever (acute infectious capillary toxicosis). 1945; *Izdanie Otdel'noj Primorskoj Armii, Simferopol. USSR [Russian] Conference book*, pp: 13-43.
3. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe, and Africa. *Journal of medical entomology* 1979; 15: 307-417.
4. Ergonul O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *The Lancet infectious diseases* 2006; 6: 203-214.
5. Leblebicioglu H, Ozaras R, Irmak H, Sencan I. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Turkey: Current status and future challenges. *Antiviral research* 2016; 126: 21-34.
6. Duygu F, Kaya T, Baysan P. Re-evaluation of 400 Crimean-Congo hemorrhagic fever cases in an endemic area: is ribavirin treatment suitable? *Vector borne and zoonotic diseases* 2012; 12: 812-816.
7. Ceylan B, Calica A, Ak O, Akkoyunlu Y, Turhan V. Ribavirin is not effective against Crimean-Congo hemorrhagic fever: observations from the Turkish experience. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2013; 17: e799-801.
8. Samsun Halk Sağlığı Müdürlüğü, Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığı'nın (KKKA) Türkiye'de görüldüğü iller. *Habertürk Gazetesi*, 26 Mayıs 2015, <http://www.haberturk.com/saglik/haber/1083290-kkka-hastaligi>
9. Ergonul O. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: new outbreaks, new discoveries. *Current opinion in virology* 2012; 2: 215-220.
10. Bishop DH. Biology and molecular biology of bunyaviruses. Elliott, R.M. (Ed.), *The Bunyaviridae*. Plenum Press, New York 1996: 19-61
11. Elliott RM, Schmaljohn CS, Collett MS. Bunyaviridae genome structure and gene expression. *Current topics in microbiology and immunology* 1991; 169: 91-141.
12. Midilli K, Gargili A, Ergonul O, et al. Imported Crimean-Congo hemorrhagic fever cases in Istanbul. *BMC infectious diseases* 2007; 7: 54.
13. Ozdarendeli A, Canakoglu N, Berber E, et al. The complete genome analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus isolated in Turkey. *Virus research* 2010; 147: 288-293.
14. Marriott AC, Nuttall PA. Comparison of the S RNA segments and nucleoprotein sequences of Crimean-Congo hemorrhagic fever, Hazara, and Dugbe viruses. *Virology* 1992; 189: 795-799.
15. Bertolotti-Ciarlet A, Smith J, Strecker K, et al. Cellular localization and antigenic characterization of crimean-congo hemorrhagic fever virus glycoproteins. *Journal of virology* 2005; 79: 6152-6161.
16. Tkachenko YA, Butenko, AM, Butenko, SA, Zavodova, TI, Chumakov, MP. Prophylactic characteristics of a protective Crimean hemorrhagic fever vaccine. *Crimean Hemorrhagic Fever Materials of the 3rd Scientific Practical Conference; 1970; in Rostov-na-Donu Region, Rostov-na-Donu. USSR [Russian] Conference book*, pp: 136-138.
17. Mousavi-Jazi M, Karlberg H, Papa A, Christova I, Mirazimi A. Healthy individuals' immune response to the Bulgarian Crimean-Congo hemorrhagic fever virus vaccine. *Vaccine* 2012; 30: 6225-6229.
18. Spik K, Shurtleff A, McElroy AK, et al. Immunogenicity of combination DNA vaccines for Rift Valley fever virus, tick-borne encephalitis virus, Hantaan virus, and Crimean Congo hemorrhagic fever virus. *Vaccine* 2006; 24: 4657-4666.
19. Bente DA, Alimonti JB, Shieh WJ, et al. Pathogenesis and immune response of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in a STAT-1 knockout mouse model. *Journal of virology* 2010; 84: 11089-11100.
20. Bereczky S, Lindegren G, Karlberg H, Akerstrom S, Klingstrom J, Mirazimi A. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection is lethal for adult type I interferon receptor-knockout mice. *The Journal of general virology* 2010; 91: 1473-1477.
21. Zivcec M, Safronetz D, Scott D, et al. Lethal Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection in interferon alpha/beta receptor knockout mice is associated with high viral loads, proinflammatory responses, and coagulopathy. *The Journal of infectious diseases* 2013; 207: 1909-1921.
22. Buttigieg KR, Dowall SD, Findlay-Wilson S, et al. A novel vaccine against Crimean-Congo Haemorrhagic Fever protects 100% of animals against lethal challenge in a mouse model. *PLoS one* 2014; 9: e91516.
23. Dowall SD, Buttigieg KR, Findlay-Wilson S, et al. A Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) viral vaccine expressing nucleoprotein is immunogenic but fails to confer protection against lethal disease. *Human vaccines & immunotherapeutics* 2016; 12: 519-527.
24. Cottingham MG, Carroll MW. Recombinant MVA vaccines: dispelling the myths. *Vaccine* 2013; 31: 4247-4251.
25. McCurdy LH, Larkin BD, Martin JE, Graham BS. Modified vaccinia Ankara: potential as an alternative smallpox vaccine. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1749-1753.
26. Draper SJ, Cottingham MG, Gilbert SC. Utilizing poxviral vectored vaccines for antibody induction-progress and prospects. *Vaccine* 2013; 31: 4223-4230.
27. Kortekaas J, Vloet RP, McAuley AJ, et al. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Subunit Vaccines Induce High Levels of Neutralizing Antibodies But No Protection in STAT1 Knockout Mice. *Vector borne and zoonotic diseases* 2015; 15: 759-764.
28. Kubar A, Haciomeroglu M, Ozkul A, et al. Prompt administration of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus hyperimmunoglobulin in patients diagnosed with CCHF and viral load monitorization by reverse transcriptase-PCR. *Japanese journal of infectious diseases* 2011; 64: 439-443.
29. Canakoglu N, Berber E, Tonbak S, et al. Immunization of knock-out alpha/beta interferon receptor mice against high lethal dose of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus with a cell culture based vaccine. *PLoS neglected tropical diseases* 2015; 9: e0003579.
30. Viral Zone website: http://viralzone.expasy.org/all_by_species/251.htm