



DERLEME / REVIEW

İnsan parechoviruslarının özellikleri, epidemiyolojisi ve klinik önemi

Characteristics, epidemiology and clinical importance of human parechoviruses

Semih Tokak¹, Mehmet Özdemir²

¹KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Turkey

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Turkey

Cukurova Medical Journal 2019;44(3):1118-1130.

Abstract

Human parechoviruses (HPeVs) are single-stranded, positive-sense RNA viruses. Although originally described as echovirus 22 and 23 within human enteroviruses because of their clinical and morphological properties, they have since been shown to be distinct from this and other picornavirus groups in several features of their genome organisation, structure and replication. HPeVs show genetic and antigenic heterogeneity and a number of distinct types are known to circulate widely in human populations throughout the world. HPeV1 causes mostly gastrointestinal and respiratory tract infections. HPeV3 can cause sepsis and meningoencephalitis in neonates and infants younger than 3 months, which could lead to neurological sequelae and death. In young infants, the typical clinical presentation includes fever, severe irritability, and rash, often leading to descriptions of “hot, red, angry babies”. Nowadays, the most sensitive method for detecting HPeV is real-time polymerase chain reaction assays. In the treatment of infections, no specific antiviral therapy has been available so far and the use of monoclonal antibodies is still being evaluated. More research is therefore needed to understand the specific characteristics of this viruses and to develop appropriate treatment strategies.

Keywords: HPeV types, Clinical characteristics, Diagnosis, Epidemiology

Öz

İnsan Parechoviruslar (Human Parechovirus; HPeV) tek iplikli, pozitif polariteli RNA viruslarıdır. Başlangıçta klinik ve morfolojik özelliklerine göre insan enterovirusları içerisinde Echovirus 22 ve 23 olarak tanımlansalar da, genom organizasyonu, yapı ve replikasyonlarında birkaç farklı özellikleriyle enteroviruslar ve diğer picornavirus gruplarından farklı oldukları gösterilmiştir. HPeV’ler genetik ve antijenik heterojenlik göstermekte ve birçok tipi dünyanın her yerinde bulunan insan popülasyonunda yaygın bir şekilde bulunmaktadır. HPeV1 en yaygın genotip olup sıklıkla gastrointestinal ve solunum yolu hastalıklarına neden olmaktadır. HPeV3 enfeksiyonu yenidoğanlarda ve 3 aydan daha küçük infantlarda sepsis, meningoensefalit, nörolojik sekellere ve ölümlere yol açmaktadır. Küçük infantlarda tipik klinik tablo, ateş, şiddetli sinirlilik ve kızarıklıktan oluşur ve sıklıkla “ateşli, kırmızı döküntülü, kızgın bebekler” tanımına sebep olmaktadır. Günümüzde HPeV’lerin tanısı için en duyarlı metod real-time polimeraz zincir reaksiyonudur. Enfeksiyonlarının tedavisinde şimdiye kadar hiçbir şekilde bir spesifik antiviral tedavi mevcut olmayıp monoklonal antikorların kullanımı değerlendirilmektedir. HPeV’ler üzerine yapılacak daha fazla çalışma ile bu virusların spesifik karakteristiklerinin anlaşılmasına ve uygun tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: HPeV tipleri, Klinik özellikler, Tanı, Epidemiyoloji

GİRİŞ

İnsan Parechovirusları (HPeV) Picornaviridae familyasının bir üyesidir. Bu büyük ve geniş pozitif polariteli RNA virus ailesi birçok önemli insan ve hayvan patojenlerini içermektedir. Picornaviruslar 26 genus içerisinde gruplandırılmaktadır; *Aphthovirus*,

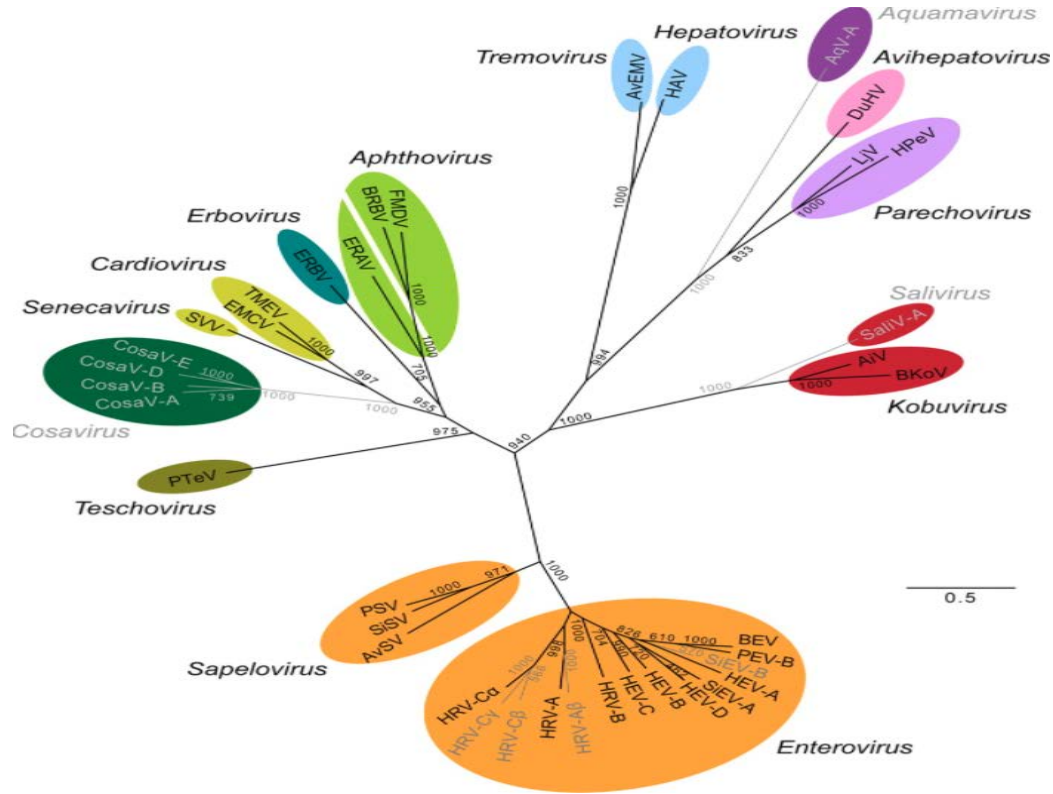
Aquamavirus, *Avihepatovirus*, *Avisivirus*, *Cardiovirus*, *Cosavirus*, *Diciphivirus*, *Enterovirus*, *Erbovirus*, *Gallivirus*, *Hepatovirus*, *Hunnivirus*, *Kobuvirus*, *Megrivirus*, *Mischivirus*, *Mosavirus*, *Oscivirus*, *Parechovirus*, *Pasivirus*, *Passerivirus*, *Rosavirus*, *Salivirus*, *Sapelovirus*, *Senecavirus*, *Teschovirus* and *Tremovirus*¹. Enterovirus ve Parechovirus genusları insanlarda nörolojik

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Semih Tokak, KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Turkey E-mail: semih Tokak@gmail.com

Geliş tarihi/Received: 18.02.2019 Kabul tarihi/Accepted: 27.04.2019 Çevrimi yayın/Published online: 09.09.2019

hastalıklara neden olan önemli etkenleri içermektedir². Enterovirus genusu *Enterovirus A-J* ve *Rhinovirus A-C* nin 12 türü başta olmak üzere 250'den fazla tanımlanmış tip içermektedir. Bu 12 tür insan

rhinovirus (HRV), echovirus (E), coxsackie- A ve B virusları ve en yeni enterovirus tiplerini 68-121 (EV) içermektedir (Şekil 1).



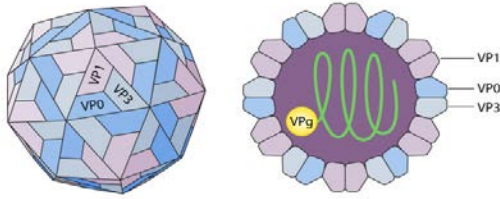
Şekil 1. HPeV ile diğer pikornavirusların evrimsel akrabalıkları; genus ve tür düzeyinde sınıflandırılmaları.

38 pikornavirusun filogenisi ve temsil ettiği türlerin çeşitliliği korunmuş 1B, 1C, 1D, 2C, 3C ve 3D Proteinleri temel alınarak maksimum benzerlik gösterilmiştir. Ağacın her bir parçası tanımlanmış olan 28 tür ve 12 genus koyu yazılmış olup geçici ya da halen tanımlanmamış taksonlar ise gri renkte yazılmıştır. Aphthovirus ise genetik sınıflandırılmadığı için beyaz renk ile gösterilmiştir. Aşağıda temsil edilen virüsler genetik sınıflandırılmalarına göre tür (italik) şeklinde gösterilmektedir: Porcine sapelovirus (PSV), Simian sapelovirus (SiSV), Avian sapelovirus (AvSV), Human rhinovirus A (HRV-A), human rhinovirus Aβ (HRV-Aβ), Human rhinovirus B (HRV-B), human rhinovirus Cα (HRV-Cα), human rhinovirus Cβ (HRV-Cβ), human rhinovirus Cγ (HRV-Cγ), Human enterovirus A (HEV-A), Human enterovirus B (HEV-B), Human enterovirus C (HEV-C), Human enterovirus D (HEV-D), Simian enterovirus A (SiEV-A), Simian enterovirus B (SiEV-B), Porcine enterovirus B (PEV-B), Bovine enterovirus (BEV), Bovine kobuvirus (BKoV), Aichi virus (AiV), Salivirus A (SaliV-A), Human parechovirus (HPeV), Ljungan virus (LjV), Duck hepatitis A virus (DuHV), Aquamavirus A (AqV-A), Hepatitis A virus (HAV), Avian encephalomyelitis virus (AvEMV), Foot-and-mouth diseasevirus (FMDV), Bovine rhinitis B virus (BRBV), Equine rhinitis A virus (ERAV), Equine rhinitis B virus (ERBV), Theilovirus (TMEV), Encephalomyocarditis virus (EMCV), Seneca Valley virus (SVV), human cosavirus A (CosaV-A), human cosavirus B (CosaV-B), human cosavirus D (CosaV-D), human cosavirus E (CosaV-E), Porcine teschovirus (PTeV). Ölçeklendirme ortalaması olarak 0.5 kabul edilerek aminoasit değişiklikleri gösterilmiştir (8 nolu kaynaktan izinle kullanılmıştır).

HPeV'ler ilk olarak 1956 yılında Amerika'da meydana gelen ishal salgınında keşfedilmiştir. Echovirus 22 ve 23 İnsan Parechovirus 1 ve 2 olarak yeniden adlandırılmış, moleküler virus keşiflerindeki ve reverse transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyon

teknolojisindeki gelişmeler yeni Parechoviruslerin tanımlanmasına imkân sağlamıştır. Önceleri Parechovirus genusu; Human parechovirus ve Ljungan virus olmak üzere iki tür içermekteydi, şuanki sınıflandırma da ise 4 tür bulunmaktadır;

Parechovirus A ve Parechovirus B şeklindedir³. Parechovirus A şu an VP1 sekansının filogenetik analizini temel alınarak 19 genotipe ayrılmıştır. Ljungan virus ise 1 ile 4'ten oluşmaktadır^{4,5}. Diğer iki tür kemirgenlerden izole edilen Sebokele virus 1 ve Ferret Parechovirus ise potansiyel anlamda Parechovirus C ve Parechovirus D şeklinde isimlendirilmiştir. Çeşitliliği, evrimi, hastalıklarla olan ilişkileri, organizasyonu, kodlanan proteinlerin ayrışması ve biyolojik özelliklerinin iç yüzünün anlaşılması ile HPeV'lerin EV'lerden farklı olduğu böylece yeni bir genus olan Parechovirus ortaya çıkması sağlanmıştır. HPeV'lerin diğer pikornaviruslardan en büyük farkı, viral genom yapısındaki virus proteinlerindeki VP2 ve VP4 dahil olmak üzere ayrışma bölgesindeki temel bileşiklerden yoksun olmasıdır⁶. Son zamanlarda Pikornavirus çalışma grubu taksonomik olarak 17. bir genotip tanımlamış ve sınıflandırmış olup, bu genotip Cote-d'Ivoire'den 9 aylık sağlıklı bir kız çocuğunun dışkı örneğinden tespit edilmiştir⁷. Ayrıca Tayland'da çocuk dışkılarından yapılan incelemelerde ise yeni bir genotip tespit edildiği bildirilmiştir⁵. Bu derlemenin amacı HPeV enfeksiyonlarının tanısı, klinik özellikleri ve epidemiyolojisi ile ilgili mevcut bilgiyi özetleyerek gelecek çalışmalar için önemli noktaları vurgulamaktır.



Şekil 2. HPeV'nin kapsid yapısı (8 nolu kaynaktan izinle kullanılmıştır).

VİRUS YAPISI VE GENOMU

HPeV'nin şu ana kadar tanımlanan 19 subtipi bulunmaktadır. HPeV tip 1 ve 2, yaklaşık 50 yıl önce Amerika'da meydana gelen diare salgınında Echovirus tip 22 ve 23 olarak tanımlanmış olup 1990'lı yıllarda bu virus genomunun dizi analizinin yapılmasıyla diğer Enterovirus'lardan genetik ve biyolojik olarak önemli farklılıklarının olduğu belirlenmiştir⁹. Böylece *Picornaviridae* ailesi içerisinde yeni bir genus tanımlanmış ve echovirus tip 22 ve 23'ün ismi değiştirilerek HPeV tip 1 ve 2 olarak yeniden adlandırılmıştır⁹. Ayrıca HPeV'lerin ilk

konakları insanlar olmasına rağmen, bazı Parechovirus tipleri insanlarla aynı ortamda yaşayan primatlarda da gözlenmiştir. Bu primat türleri, vahşi Afrika maymunu (*Mandrillus sphinx*) ve güney domuz kuyruklu şebegi (*Macaca nemestrina*)¹⁰, ayrıca insan popülasyonlarıyla yakın temasta olan ortamlarda yaşayan türleri içermektedir¹¹.

HPeV'ler 7300 baz uzunluğunda bir genoma sahip olup 5' ve 3' translyona uğramayan bölgeler yanında tek bir proteini kodlamaktadır¹² (Şekil 2). Genom, tekrarlayan VP0, VP1, VP3'ten oluşan ikozahedral kapsid ile çevrelenmiştir (Şekil 3). Bu yüzden HPeV'lar, genom yapısı ve replikasyon özellikleri açısından diğer pikornavirus cinslerine göre farklılık göstermektedir. Kovalent bağlı VPg proteini (3B olarak da bilinir) 2200 kodonluk açık okuma çerçevesinden (ORF) önce gelen 700 nükleotidlik uzun 5'UTR'ye bağlı olup bunu 80 nükleotid civarındaki 3'UTR ve polyA kuyruğu izlemektedir^{14,15}. ORF'nin translyonu cap bağımsız mekanizmayla başlatılır ve internal ribozom bölgesiyle yönetilir, bunun sonucunda ise büyük bir poliprotein meydana gelir. Picornavirus poliprotein öncülleri, yapısal ve yapısal olmayan proteinleri meydana getirmek için virus tarafından kodlanan proteazlar tarafından kesilmektedir.

HPeV'ler 3 yapısal protein içermektedir¹⁶(VP0, VP1 ve VP3). Diğer pikornavirusların tersine, VP0; VP2 ve VP4'e ayrışmaz. Ayrıca VP0, diğer genusların hiçbirinde antijenik özellik göstermez iken HPeV'un önemli antijenik alanı VP0 proteininin N-terminal bölgesinde bulunmaktadır. Poliprotein translyon sonrası, viral proteazlar tarafından üç yapısal protein (VP0, VP1 ve VP3) ve 7 yapısal olmayan proteine (2A-2C ve 3A-3D) ayrılır^{17,18}.

HPeV 2A proteini viral 3'UTR RNA'ya bağlandığı gösterilmesine rağmen 2A'nın replikasyon sırasında önemli bir fonksiyonu olduğu düşünülmekte ancak rolü tam olarak bilinmemektedir¹⁹. 2C proteininin ATP hidrolizi ve AMP kinaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir ve bu proteinin viral replikasyon döngüsünde rol aldığı belirlenmiştir. 2B proteininin integral membran proteini olup başlıca Golgi kompleksinin yakınına yerleşmekte ve hücreler arası kalsiyumu serbest hale getirerek membran geçirgenliğini arttırmaktadır²⁰. 3D pol proteininin ise RNA bağımlı RNA polimeraz fonksiyonuna sahip olduğu gözlenmiştir. Türler arası genom rekombinasyonu enterovirusler arasında oldukça iyi bilinen bir fenomendir^{21,22}.

HÜCREYE GİRİŞ

HPeV1'in VP1 proteininin C terminali arginin-glisin-aspartik asit (RGD) motifi içermekte olup, bu motif hücre yüzey integrinleri ile etkileşimler yoluyla birkaç virusun konak hücreyi tanıma ve tutunmasında rol oynamaktadır^{16, 23, 24}. RGD motifi, HPeV1, 2, 4 ve 5'in enfektivitesinde önemli olduğu düşünülmektedir. İlginç bir şekilde HPeV3, RGD motifine sahip olmadığı için diğer genotiplerden farklılık göstermekte olup, hücre girişi için farklı bir reseptör kullandığı düşünülmektedir²⁵. Bu, doku tropizminin değişmesine neden olabilmekte ve diğer HPeV genotiplerinin neden olduğu enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında HPeV3 enfeksiyonlarının neden farklı epidemiyoloji ve klinik prezentasyonlar gösterdiği kısmen açıklanabilmektedir^{29,30}. Bununla birlikte, bazı HPeV1, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14 ve 15 suşlarının da bir RGD motifine sahip olmadığı bulunmuştur²⁶⁻²⁹.

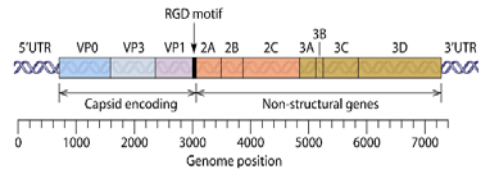
RGD motifi reseptör olarak $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 6$ integrinlere bağlanmakta, bu da virusun konak hücre içerisine klatrin-bağımlı endositik yol iziyle girmesine olanak sağlamaktadır³⁰⁻³³. HPeV1 için viral enfeksiyonun RGD içeren peptidlerle ya da HPeV1 genomundan RGD motifinin ortadan kaldırılmasıyla bloke edilebildiği gösterilmiştir^{16,31}. HPeV1 için viral enfeksiyonun RGD içeren peptidlerle ya da HPeV1 genomundan RGD motifinin ortadan kaldırılmasıyla bloke edilebildiği gösterilmiştir^{16,31}. Bu özellik diğer HPeV2ler için karakteristik olup hücre reseptörü olarak integrinlerin kullanımına aracılık ettiği düşünülmektedir, dolayısıyla farklı yönelimlerle hücreye giriş için farklı reseptörler kullanılabilir³⁴. Bu özgün reseptör ise HPeV3'ün neden yeni doğan sepsisi ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonuyla ilişkili olduğunu açıklamaktadır.

REPLİKASYON VE REKOMBİNASYON

Replikasyon döngüsü sırasında HPeV1 proteinleri, enfeksiyondan 30 dakika sonra hücresel endoplazmik retikulumda (ER), 60 dakika sonra cis-Golgi ağında belirlenebilmektedir. Enfeksiyondan 4 saat sonra kapsid polipeptitleri sentezlenmekte ve enfekte hücrelerin sitoplazmasında tespit edilebilmektedir. HPeV1 tam bir replikasyon döngüsünü 6 ila 8 saat içinde tamamlamaktadır³⁰. Enfekte hücrelerde büyük değişikliklerin ribozomlarından sıyrılmış dilate bir ER ve tamamen dağılmış bir Golgi kompleksi olduğu tespit edildi³⁵. HPeV'ler replikasyonları sırasında

enfekte hücrenin protein sentezini durdurmadıkları için picornavirusların çoğundan farklıdır³⁶.

HPeV1 ve HPeV3'ün replikasyon kinetiği patojeniteleriyle ilişkili olup olmadığını doğrulamak için Westerhuis ve ark. gastrointestinal, solunum, nöronal hücre hatlarından izole ettikleri HPeV1 ve HPeV3'leri tespit için real-time PCR kullanmışlardır³⁷. HPeV1 suşlarının invitro replikasyonu ile klinik semptomları arasında bir ilişki bulamamışlar ancak HPeV3 suşları nöral hücre hatlarında daha hızlı replike olmuşlar ve bu durumun nöropatojeniteyle bir ilişkisi olduğunu göstermiştir. HPeV'nin spesifik antikorlar ve intravenöz immünooglobulinlerle etkili bir şekilde nötralize olduğunu bulmuşlar ve HPeV1 enfeksiyonlarının klinik seyrinin hafif olmasıyla ilişkilendirmişlerdir.



Şekil 3. Genom organizasyonu (13 nolu kaynaktan izine kullanılmıştır).

VP1 bölgesindeki filogenetik farklılıklara dayanarak farklı genotipler tanımlanmaktadır. Bayes analizi, VP1 bölgesinin yüksek oranda evrimsel değişim geçirdiğini göstermiştir (her yıl bölge başına 10^3 yer değişimi). Çoğu HPeV tipinde, rekombinasyon cinsin evrimi, yayılmasını ve patojenliğini etkileyen önemli bir faktördür.

HPeV'de rekombinasyon, enteroviruslarınkine benzer bir sıklıkta meydana gelmektedir^{38,39}. HPeV3 az veya hiç rekombinasyona uğramaması nedeniyle diğer genotiplerden farklıdır. Bu durum rekombinasyonu engelleyen biyolojik kısıtlamalara sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Yapılan bir çalışmada HPeV3 suşlarında rekombinasyon görülmezken, aynı yılda izole edilen diğer HPeV'lerin %50'si (tip 1, 4, 5 ve 6) rekombinanttı. Farklı bir hücre tropizmine, muhtemelen bir RGD sekansı yokluğu neden olmakta, diğer genotiplerle koinfeksiyon olasılığını dolayısıyla rekombinasyonunu azaltarak bu duruma neden olmaktadır³⁹.

EPİDEMİYOLOJİ

HPeV'ler oldukça yaygın patojenler olup, dünya

çapında özellikle çocukları enfekte etmektedir^{30,34}. HPeV enfeksiyonlarının çocuklarda yaygın olduğu 580 HPeV izolatının %60'ının 1 yaşın altındaki çocuklarda gözlenmesiyle 30 yılı aşkın bir süre önce açık bir şekilde belirlenmiştir⁴⁰. Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention; CDC) verilerine göre, 39 yıllık veriler değerlendirildiğinde ABD'de HPeV1'in tanımlanan tüm EV izolatlarına oranı %1,8 (880/49.637)'dir⁴¹. Ulusal Enterovirus Sürveyans Sisteminden 1983-2005 yılları arasında elde edilen verilere göre HPeV1'in %73'ü HPeV2'nin %68'i 1 yaşından küçük çocuklarda enfeksiyon meydana getirdiği bildirilmiştir⁴¹. İsveç'te 33 yıllık bir dönemde yapılan çalışmada 1000 EV arasında sadece 5 tane HPeV2 saptanmıştır⁴².

Japonya Niigata'dan bildirilen 15 yıllık bir raporda; gaita, boğaz sürüntü ve BOS örneklerinden yapılan hücre kültürü ile 41 HPeV izolatı tanımlanırken buna karşılık aynı dönemde 1437 EV izolatı tanımlanmıştır. HPeV, tüm EV'ların yaklaşık olarak %2,8'ini oluşturmaktadır⁴³. Japonya'dan yapılan başka bir bildirimde, dokuz yıllık bir dönemde viral enfeksiyon şüphesi olan çocuklardan toplanan 4976 gaita örneğinin 110 tanesinde (%2,2) HPeV tespit edilmiştir. Bunların %57 (n:63)'si HPeV1 iken %40 (n:44)'ı HPeV3'tür. Kalan üç izolatın ikisi HPeV4 ve biri HPeV6'dır⁴⁴. HPeV1 üzerine yapılan kapsamlı çalışmalar da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Finlandiya'da yürütülen bir çalışmada çocukların %20'sinin 12 aylıkken ilk enfeksiyonunu geçirdiği çocukların %98'inin 36 aylıkken en az bir kez HPeV enfeksiyonunu geçirdiği gösterilmiştir. Finlandiya'da yürütülen bir çalışmada çocukların %20'sinin 12 aylıkken ilk enfeksiyonunu geçirdiği çocukların %98'inin 36 aylıkken en az bir kez HPeV enfeksiyonunu geçirdiği gösterilmiştir⁴⁵. Norveç'te yapılan çalışmalarda ise yeni doğanların %45'inin 12 aylıkken en az bir kez HPeV enfeksiyonu geçirdiği %86'sının ise 24 aylıkken virüsle karşılaştığı belirlenmiştir³⁸. Hollanda'da 3 yıllık bir çalışma periyodunda 5 yaşın altındaki hastanede yatan çocuklardan alınan dışkıların PCR ile taranması sonucu %16'lık bir prevalans bulunmuştur³⁸.

Finlandiya'da sağlıklı çocuklardan alınan dışkı örneklerinin prevalansı %6,4 olarak bulunmuştur⁴⁶. Kanada'da 28 çocuğun dahil olduğu bir çalışmada HPeV3 enfeksiyonunun ortalama 0,7 aylıkken, buna karşılık HPeV1 ve 2'nin sırasıyla 14,6 ve 6,3 aylıkken geçirdiği saptanmıştır⁴⁷. İran'da yapılan 2 yıllık bir çalışmada 4 yaşın altındaki diareli 472 çocuğun dahil

edildiği bir çalışmada 112 örnekte HPeV1 tespit edilmiştir⁴⁸. İran da yapılan başka bir çalışmada ise aseptik menenjitli ve sepsis benzeri hastalıklı 8 yaşından küçük 148 hastanın dahil edildiği çalışmada ise 12 BOS örneğinde HPeV1 tespit edilmiştir⁴⁹.

Ülkemizde ise HPeV ile ilgili epidemiyolojik araştırma henüz rapor edilmemiştir. HPeV enfeksiyonlarının mevsimsel nitelikleri baskın genotiplere bağlı olarak oldukça değişkenlik göstermektedir. HPeV1 yıl boyunca dolaşmakta ve güçlü bir mevsimsel nitelik göstermemektedir. Amerika Birleşik Devletleri ve Danimarka'dan yapılan ulusal sürveyans çalışmaları, yaz ve sonbahar aylarında HPeV1 enfeksiyonlarının oranında küçük bir artış olduğunu belirtirken, Hollanda'daki veriler yaz aylarında düşük bir oran göstermektedir^{41,50,51}. HPeV3, daha değişken bir geçici dolaşım paterni göstermektedir. HPeV3 enfeksiyonlarının 2000 ile 2010 arasında çift sayılı yıllarda çok daha sık meydana geldiği kuzey Avrupa'da iki yılda bir dolaşım modeli gözlemlenmiştir^{52,53}. Japonya'da yapılan bir çalışma, HPeV3 enfeksiyonlarının iki yılda bir dolaşım göstermediği, ancak yaz aylarında enfeksiyonların belirli oranda zirve yaptığı bu durumun ise epidemik yıllardaki yıllık darkları tanımlamaktadır⁵⁴. HPeV3 sıklığının yüksek olduğu dönemlerde, Hollanda'da HPeV'nin yıllık dağılımı, enterovirus enfeksiyonlarına benzerlik göstermiş, yaz aylarında zirve yapmıştır. Çift sayılı yıllarda yıllarda bu yüksek frekans gözlenmemiştir⁵².

HPEV ENFEKSİYONLARININ KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Picornaviridae ailesinin diğer üyeleri gibi HPeV ilk olarak ince bağırsakta replike olmakta ve fekal-oral yolla bulaş gerçekleşmektedir. Ancak replikasyon solunum sisteminde de meydana gelmekte ve HPeV'lere solunum sekresyonlarında da rastlanabilmektedir¹⁷. Yenidoğanlarda yaşamın ilk 2 gün içinde meydana gelen HPeV enfeksiyonları intrauterin bulaş olasılığını da içermektedir⁵⁵. Enfeksiyondan sonra, virus gastrointestinal sistem ve üst solunum yollarından yayılır. Yayılma süresi henüz net olarak aydınlatılamamışsa da gaitada iki haftadan az süreden beş aya kadar ve solunum yollarında 1-3 hafta kadar saptanabilmektedir¹⁷. HPeV genellikle dışkıyla dışarı atıldığı için, bu virüs dışkı örneklerinde de rastlanmaktadır⁵⁵⁻⁵⁷. Gaitadan ortalama yayılma süresi 51 gün olarak gösterilmiştir ancak çocukların yaklaşık %10'unda 3 aydan fazla devam etmektedir⁴. Sağlıklı, asemptomatik bebeklerin gaita örneklerinde

HPeV saptanması ve toplumdaki bebek ve çocuklarda yüksek seroprevalans oranları enfeksiyonun çoğunun subklinik geçirildiğini desteklemektedir.

Tipik bir HPeV enfeksiyonu Enterovirus enfeksiyonuna benzerlik göstermektedir. HPeV enfeksiyonlarının klinik sayısı ve hastadaki etkisi sıklıkla hafif ya da asemptomatiktir. Çocuğun yaşı ve HPeV'nin genotipi enfeksiyon seyrinin şiddetini ve sonlanımını etkileyen en önemli faktörlerdir. HPeV1 enfeksiyonu için diare en yaygın semptom olup bunu solunum semptomları izlemektedir. HPeV4, 5 ve 6 enfeksiyonlu çocukların klinik tabloları incelendiğinde başlıca semptomların gastrointestinal ve solunum semptomları olduğu gözlenmiştir⁵⁸. HPeV1, 4, 5 ve 6 çok sık olmasa da ciddi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir⁵⁹⁻⁶¹. Yapılan son çalışmalarda yeni doğan sepsisli iki olgunun etkeninin HPeV4 olduğu gösterilmiş, bu genotip için daha önce böyle bir rapor bildirilmemiştir. HPeV enfeksiyonlu çoğu ciddi hastalığa ise HPeV3 genotipinin neden olduğu bilinmektedir^{44,62-67}.

Yapılan bazı çalışmalarda, gastroenteritli çocuklarda HPeV saptamanın klinik önemi sorgulanmıştır. Sağlıklı Norveçli bebeklerin dahil edildiği bir gözlemsel çalışmada, aylık dışkı örnekleri alındı ve enfeksiyon belirtileri kaydedildi. HPeV varlığı ile bildirilen gastrointestinal veya üst solunum yolu enfeksiyonları semptomları arasında bir ilişki bulunamadı⁶⁸. Başka bir çalışmada, diareli hastanede yatan çocuklar ile asemptomatik çocuklar arasında HPeV prevalansları veya viral yükler arasında bir fark bulunamamıştır⁶⁹. Ancak, bu çalışmalardan elde edilen verilerin düşük hasta sayıları, diğer viruslarla koinfeksiyon ve dışkıda HPeV taşıyıcılığının uzaması ve semptomların çözülmesinden çok sonra ortaya çıkması nedeniyle yorumlanması güçtür. Birkaç raporda HPeV3'ün beyin omurilik sıvısında (BOS) baskın tip olduğu, HPeV3'ün BOS enfeksiyonlarında önemli olduğu bir kez daha gösterilmiştir⁶². Ancak potansiyel sepsis benzeri hastalık veya HPeV'ye bağlı MSS enfeksiyonu olan hastalarda, hem serum hem de BOS numuneleri PCR testinde faydalı olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur. Birleşik Krallıkta BOS örneklerinin tarandığında HPeV3'ün şimdiki kadar tanımlanan en yaygın pikornavirus olduğu belirlenmiştir⁵³. Son çalışma hastalık nöbetleri ve BOS semptomlarının enteroviruslarla ile enfekte çocuklarla karşılaştırıldığında HPeV ile enfekte çocuklar arasında oldukça yaygın olduğunu ifade etmektedir¹⁸. Ayrıca, HPeV3 ile enfekte olan

çocukların daha küçük olduğu (ortalama 1,3 ay) HPeV1 ile enfekte çocukların yaklaşık 6 aylık (ortalama 6,6 ay) olduğu belirlenmiştir. HPeV, nedeni bilinmeyen ateşli hastalığı olan yenidoğanların gaita örneklerinde sıklıkla saptanmıştır⁴⁴. Hepatit, trombositopeni ve kanamayla giden kanamalı hepatit sendromu yine yenidoğanlarda rapor edilmiştir⁷⁰. Nispeten yaygın gözlemlerin yanı sıra HPeV'ler birkaç sporadik olguda Guillain-Barré sendromu, miyokardit, nekrotizan enterokolit, hemolitik üremik sendrom, miyozit Reye's sendromu ve lenf bezi iltihabını da içeren ciddi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir^{44,54,59}. Tipik bir yeni doğan HPeV enfeksiyonu yüksek ateş ve duyarlılık ile karakterizedir. Ayrıca hastada nöbet, kaşıntı ve nefes darlığı gibi semptomlar görülebilmektedir. Sepsis benzeri hastalıklar taşikardi ya da bradikardi, düşük tansiyon ve azalmış oksijen saturasyonu ile ölçülen hipotermi ve solunum bozukluklarını içermektedir⁶². HPeV enfeksiyonuyla bağlantılı olarak sepsis benzeri hastalık terimi hasta söz konusu kriterlerin hepsine sahip olmasa da sepsis benzeri bazı semptomlara sahip olduğunda kullanılmaktadır¹⁷.

Bazı olgularda ise karında şişlik, göbekte çıkıntı, el ve ayakta şişkinlik ve benekli deri gözlemlenmiştir. Yeni doğan sepsisinin derecesi hafif ateşli hastalıktan merkezi sinir tutulumlu hastalıklara kadar değişiklik göstermektedir¹⁷. Avusturya'da 2013 yılındaki salgında, yeni doğanların büyük bir kısmında ateş, duyarlılık kurdeşene benzeyen semptomlar gözlemlenmiştir⁶².

Enteroviruslar ile karşılaştırıldığında yenidoğan HPeV enfeksiyonları beyaz kan hücre sayısında düşüklük, yüksek vücut sıcaklığı, uzun ateş periyodu ve uzun yatış süresiyle karakterizedir⁷¹⁻⁷³. Bu kadar ciddi özelliklerine rağmen, HPeV enfeksiyonları nadiren ölüme neden olmaktadır. Amerika'da yürütülen çalışmalarda 1983-2005 yılları arasında HPeV1'in neden olduğu 10 ölümcül vaka rapor edilmiştir⁴¹. Yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki 19 bebeğin yakalandığı bir gastroenterit salgınında 7 kanlı diare ve abdominal radyografide erken nekrotizan enterokolit bulgusuyla karşılaşılmıştır. Bunlara ek olarak HPeV ile enfekte yenidoğanlarda tek ya da kombine olarak ateş, apne, takipne, respiratuar distres, rinore, konjunktivit ve döküntü görülmüştür⁷⁴. Bir başka çalışmada HPeV1, 3 ve 6 genotipinin hastanın ölümüyle bir ilişkisi olmamasına rağmen otopsi numunelerinde rastlanmıştır⁷⁵. HPeV3 Danimarka, Fransa ve Hollanda da yenidoğan ölüm vakalarının nedeni olduğu bildirilmiştir^{51,76,77}.

HPeV1 suşlarının invitro replikasyonu ile klinik semptomları arasında bir ilişki bulunamamışlar ancak HPeV3 suşları nöral hücre hatlarında daha hızlı replike olmuş ve bu durumun nöropatojeniteyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çocuklarda HPeV ile tip1 diyabet arasında herhangi bir ilişki bulunamamış, birçok çalışmada bu durumu belirlemede başarılı olunamamıştır⁴⁵. Benzer şekilde, büyük çaplı bir çalışmada NPA örneklerinde HPeV'nin yokluğu HPeV'lerin ciddi solunum yolu hastalıklarına, özellikle akut orta kulak iltihabı ve bronşiolitte önemli bir role sahip olmadığı belirlenmiştir⁷⁸. Amerikada yapılan çalışmalarda sadece solunum semptomları gösteren hastaların solunum yolu örneklerinde HPeV'nin teşhis edilebildiği görülmüştür. Çoğu HPeV solunum enfeksiyonları 3 aydan daha küçük çocuklarda meydana gelmektedir⁷⁸.

PATOGENEZ

Bulaşın fekal-oral ve respiratuar yolla olduğu tahmin edilmektedir⁷⁹. Yenidoğanlarda yaşamın ilk 2 gün içinde meydana gelen HPeV enfeksiyonları intrauterin bulaş olasılığını da destekleyebilir⁸⁰. Enfeksiyondan sonra, virus gastrointestinal sistem ve üst solunum yollarından yayılır. Yayılma süresi henüz net olarak aydınlatılmamışsa da gaitada iki haftadan az süreden beş aya kadar ve solunum yollarında 1-3 hafta kadar saptanabilmektedir⁸¹. Gaitadan ortalama yayılma süresi 51 gün olarak gösterilmiştir ancak çocukların yaklaşık %10'unda 3 aydan fazla devam etmektedir⁶⁸.

Danimarka'da 2009 ve 2012 yılları arasında doğum ve kardeş ilişkileri üzerine ülke çapında yapılan bir kohort çalışması küçük kardeşin (5 yaşından küçük) ilk doğan çocukla karşılaştırıldığında, HPeV3 enfeksiyonuna yakalanma olasılığının (ancak diğer HPeV enfeksiyonu türleri değil) dokuz kat arttığı gözlenmiştir⁸². Yazarlar, küçük kardeşlerin, kardeşler arasında daha küçük bir yaş aralığı varsa, HPeV3 ve diğer HPeV enfeksiyonlarından etkilenme ihtimalinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, büyük kardeşlerin HPeV'nin küçük kardeşlerine geçmesinde önemli bir rol oynadığını ve virusun hanehalklarında ve hastanelerde yayılmasını önlemek ve azaltmak için uygun enfeksiyon önlemlerine ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Başka bir çalışmada ise, yakın akrabalarından klinik veriler ve dışkı örnekleri toplandı. Toplamda, hastanede yatan 43 bebekten 22'sinin (%51) viral enfeksiyon belirtileri olan (yani ateş, diyare ve üst solunum yolu enfeksiyonu belirtileri) ve HPeV pozitif olan aile üyeleri ile temas

halinde olduğu görülmüştür. Kansas'taki yenidoğan yoğun bakım ünitesinde bir HPeV salgını tarif eden bir başka vaka serisi, enfekte olmuş 23 yenidoğandan 11'inin semptomların başlamasından önceki hafta içinde semptomatik bir ev teması (döküntü, gastrointestinal veya solunum semptomlarıyla) olduğunu bildirmiştir⁸³. Bu bulgular, viral patojenlerin bulaşmasını önlemek için küçük çocuklu hanelerde el hijyeni de dahil olmak üzere önleyici tedbirlerin önemini vurgulamalıdır^{84,85}.

Patojenik çalışmaların büyük bir çoğunluğu HPeV1 ve HPeV3 üzerine yapılmıştır⁷⁴. HPeV'nin çeşitli tiplerinin farklı klinik belirtiler göstermeleri biyolojik karakteristiklerindeki farklılıklarla açıklanabilmektedir. Bu özgün reseptör ise HPeV3'ün neden yeni doğan sepsisi ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonuyla ilişkili olduğunu açıklamaktadır. Triantafilou ve ark. HPeV1 için toll-benzeri reseptörler TLR7 ve TLR8'in konak sensörleri olarak rol oynadığını belirlemişlerdir⁸⁶. TLR7 ve TLR8 endozoma yerleşmiş olup orada viral genomik RNA'yı algırlar ve enfeksiyonu kontrol edebilmek için yangısal ve düzenleyici sitokinlerin sekresyonuna yol açarlar, TLR'lerin bu müdahalesi HPeV3 enfeksiyon olgularında gözlenmemiştir^{87,88}.

LABORATUVAR BULGULARI VE TANISI

HPeV'ler dışkı örnekleri, solunum sekresyonları, kan ve BOS örneklerinde tespit edilmektedir⁸⁹. HPeV-3 sepsis benzeri hastalığı olan hastalarda, virüs semptomların başladığı günden itibaren serumda tespit edilebilmektedir. Serum viral yükü hastaneye ilk kabulde en yüksek seviye ulaşmakta ilerleyen günlerde hızla düşmektedir⁹⁰.

HPeV ile enfekte çocukların BOS analizinde, lökosit miktarının biraz yükseldiği ancak çoğunda (özellikle yenidoğanlarda) pleositozun gözlenmediği bildirilmiştir. Lökosit hücre miktarının normal değeri yaşla birlikte değişmektedir ve genelde yüksek değerler küçük çocuklarda normal olarak kabul edilmektedir. Son çalışmalarda lökosit miktarının normal değerleri; 0-28 günlük yenidoğanlarda <19/μl ve 29-56 günlük yenidoğanlarda <9/μl olarak belirtilmiştir. Ayrıca, HPeV ile enfekte çocuklarda BOS glikoz seviyeleri genelde normaldir, BOS protein seviyeleri ise normal veya yükselmiş olabilmektedir. Bu sebeple normal BOS bulgularında HPeV menenjit veya ensefaliti göz ardı edilmemelidir⁹¹.

Neopterinin, HPeV enfeksiyonlarında potansiyel olarak yararlı bir MSS inflamasyon belirteci olduğu da öne sürülmüştür⁹². Kandaki enfeksiyon parametreleri genellikle normal sınırlar içindedir. Lökopeni sadece % 35 oranında görülmekte olup ve ağır HPeV enfeksiyonları olan hastanede yatan hastaların % 45'inde yüksek bir C-reaktif protein (CRP) bulundu. Başvuru sırasında bu oranlar sırasıyla % 15 ve % 20 daha düşüktü⁸¹. Ağır HPeV enfeksiyonu olan hastaların bazılarında trombositopeni tanımlanmıştır ve yüksek aspartat aminotransferaz (ASAT) ve laktat dehidrojenaz (LDH) seviyeleri raporları düşük bir orandan% 100'e kadar değişim göstermektedir⁹³⁻⁹⁶. HPeV sepsis ile başvuran 31 hastanın 17'sinde bozulmuş pıhtılaşma profili bulundu⁹⁷.

Viral kültürler başlangıçta HPeV enfeksiyonlarının tanısında kullanılsa da hücre kültüründe üretildiğinde HPeV1 ve HPeV2'lere kıyasla HPeV3 daha az verimle ve sınırlı sayıda hücre hattında çoğalabilmektedir¹⁸. Hücre kültürü modelleri antiviral bileşiklerin verimliliğini belirlemek için kullanılırken serolojik testler ise araştırma amaçlı kullanılmaktadır⁹⁷. HPeV1 farklı hücre hatlarında kültüre edilebilirken, HPeV 3- 6 sınırlı sayıdaki hücre hatlarında düşük sitopatik etki göstermektedir^{54,98,99}. HPeV1, 5 ve 6 klinik örneklerden izolasyonunda Watanabe ve ark. 8 farklı hücre hattı kullanmıştır⁵⁴. HPeV3 klinik örneğin başlangıç kültüründe LLCMK2 hücre hattında 14-18 gün sonra sitopatik etki indüksiyonu gözlenmiş, virus Vero hücrelerine pasajlandığında 4-5 gün sonra sitopatik etki göstermiştir⁶⁴. Benschop ve ark. HT29 hücre hattının klinik örneklerde HPeV3 haricindeki çoğu HPeV'nin üremesi için verimli olduğunu göstermiştir⁹⁸.

En uygun tanı metodu reverse transkriptaz real-time PCR olup bu metod oldukça duyarlılık göstermekte ve farklı vücut sıvılarındaki spesifik RNA'yı tespit edebilmektedir^{63,97,100}. PCR temelli bu metod viral kültürden daha hızlı ve daha kolay performans göstermektedir. Bu metodun primer hedefi klinik örnekteki HPeV'yi tespit etmek için yüksek derecede korunmuş 5 UTR bölgesidir. Tespit edilen HPeV'nin sonraki tanımlama işlemi ise yüksek değişken VP1 bölgesinin amplifikasyon ve sekanslanmasıdır^{17,97}. Ekim 2015'te, bir BOS örneğinden 14 farklı patojenin (HPeV dahil) tanımlanması için ilk multipleks menenjit / ensefalit spesifik PCR paneli ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylandı¹⁰¹. Bu test paneli şu an ticari olarak temin edilebilmekte çoğu tanı laboratuvarında numunenin alınmasını takiben birkaç saat içinde sonuç alınabilmektedir¹⁰²⁻¹⁰⁴.

Yapılan birçok çalışmada, HPeV'nin BOS'ta pleositoz yokluğunda rutin olarak tespit edildiği göz önünde bulundurulmalıdır^{74,90,105,106}. Bu nedenle BOS numuneleri, lökosit sayısından bağımsız olarak akut bir hastalık sırasında 6 aydan küçük bebeklerde (klinik yükü en yüksek olanlar) HPeV için rutin olarak test edilmelidir. Teşhis verimini arttırmak için küçük infanlarda yapılan testlerde kan, dışkı ve solunum numuneleri de dikkate alınmalıdır. HPeV enfeksiyonunun pozitif teşhisi antibiyotik tedavisinin kesilmesine izin verirken hastaneden erken taburcu edilmeyi kolaylaştırabilmektedir¹⁰⁷.

TEDAVİ

HPeV'lere karşı etkili bir antiviral tedavi mevcut değildir¹⁶. HPeV enfeksiyonlarının tedavisinde herhangi bir antiviral tedavi bilinmemekte olup, klinik raporlar destekleyici tedavi dışında herhangi bir spesifik tedavi önermemektedir⁹⁶. Bileşiklerin kapsamlı incelenmesi sonucu pikornavirusların inhibe edildiği belirlenmiş ancak potansiyel olarak HPeV'leri inhibe edebilecek herhangi bir bileşik belirlenmemiştir^{11,100}. İn vitro yapılan çalışmalarda HPeV1 ve HPeV3'ün plekonaril dirençli olduğu saptanmıştır¹⁸. Plekonaril, viral kapsidin hidrofobik bölgesine integrasyonla viral replikasyonu inhibe etmektedir. Böylece soyunma ve virusun konak hücreye bağlanması engellenmektedir. HPeV ile ilişkili enteropatisi olan bir olguda plekonarilin kullanıldığı bildirilmiş ancak bu hastada hem plekonaril hem de ribavirinin virus replikasyonunda herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir¹⁰⁸. HPeV tedavisinde en umut vaad eden adaylar ise kapsid ve 3c proteaz inhibitörleri gibi görünmekte olup sonraki çalışmalarla bu bulguların doğrulanması gerekmektedir¹⁰⁹. İntravenöz immünglobülinler ciddi HPeV enfeksiyonlarında destekleyici tedavi olarak kullanılmaktadır. Japonya'da yüksek oranda nötralize edici antikorları içeren immünglobülinler test edilmiş, doza bağlı olarak test edilen IVIg (İntravenöz Immünglobülin)'ler HPeV3 replikasyonunu baskıladığı görülmüştür. Ayrıca IVIg'lerin HPeV3 RNA seviyelerine oldukça etkili bulunmuştur^{110,111}. Yapılacak çalışmalarla IVIg'lerin tedavideki potansiyeli değerlendirilmelidir. Ancak bunların teropatik etkinliğinin doğrulanmasında ihtiyaç vardır.

SONUÇ

HPeV'ler, bebeklerde giderek artan oranda görülen

bir morbidite nedenidir. Bu artış muhtemelen virüsleri ve hastalık epidemiyolojisindeki değişiklikleri (virülanstaki değişiklikler veya virüsün insidansındaki değişiklikler) tespit etmek için oldukça hassas moleküler tekniklerin kullanılmasından kaynaklanmaktadır. HPeV'ler yenidoğanlarda, özellikle sepsisli, menenjitli ya da ensefalitli küçük çocuklarda özellikle göz önünde bulundurulmalı, HPeV şüpheli ateşli bir bebeğin değerlendirilmesinde BOS, kan, solunum ve dışkı örnekleri klinisyen tarafından istenmelidir. Moleküler tanı yöntemleri erken tanı için gereklidir ve yenidoğanlarda ve infantlarda sepsis ve menenjit için standart bir tetkik olarak uygulanmalıdır. Bebeklerde HPeV'nin saptanması, gereksiz kapsamlı araştırmaları ve hastanede kalış süresini en aza indirmekte dolayısıyla antimikrobiyallerin klinik, ekonomik ve halk sağlığı kullanımını azaltmaktadır.

Şuana kadar, HPeV enfeksiyonları için etkili bir tedavi tespit edilmemiştir. Şiddetli HPeV enfeksiyonlarının tedavisinde IVIG değerini belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Etkin gelişmiş sürveyans, salgınları ve uzun süreli hastalık eğilimlerini izlenmesi ayrıca HPeV enfeksiyonunun klinik yükünün anlaşılmasına katkıda bulunması açısından önem arz etmektedir. HPeV virolojisinin ve viral replikasyon döngüsündeki spesifik proteinlerin fonksiyonlarının daha iyi anlaşılması, antiviral tedavi için yeni hedefler belirlenmesine katkı sağlayacaktır.

Yazar Katkıları: Çalışma konsepti/Tasarım: ST, MÖ; Veri toplama: -; Veri analizi ve yorumlama: -; Yazı taslağı: ST; İçeriğin eleştirilmesini: MÖ; Son onay ve sorumluluk: ST, MÖ; Teknik ve malzeme desteği: -; Süpervizyon: ST, MÖ; Fon sağlama (mevcut ise): yok.
Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.
Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.
Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Author Contributions: Concept/Design : ST, MÖ; Data acquisition: -; Data analysis and interpretation: -; Drafting manuscript: ST; Critical revision of manuscript: MÖ; Final approval and accountability: ST, MÖ; Technical or material support: -; Supervision: ST, MÖ; Securing funding (if available): n/a.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support

KAYNAKLAR

1. Lauber C, Gorbalenya AE. Partitioning the genetic diversity of a virus family: approach and evaluation through a case study of picornaviruses. *J Virol.* 2012;86:3890-904.
2. Picornaviridae.com, <http://www.picornaviridae.com/> (accessed April 2019).
3. Racaniello Vincent R. Picornaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields virology.* 6th ed., vol. 1. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2013;610.
4. Zhao X, Shi Y, Xia Y. Genome analysis revealed novel genotypes and recombination of the human parechoviruses prevalent in children in Eastern China. *Gut Pathog.* 2016;8:52.
5. Chuchaona W, Khamrin P, Yodmeeclin A, Saikruang W, Kongsricharoern T, Ukarapol N, Okitsu S, Hayakawa S, Ushijima H, Maneekarn N. Detection and characterization of a novel human parechovirus genotype in Thailand. *Infect Genet Evol.* 2015;31:300-4.
6. Hyypiä T, Horsnell C, Maaronen M, Khan M, Kalkkinen N, Auvinen P, et al. A distinct picornavirus group identified by sequence analysis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992;89:8847-51.
7. Cristanziano VD, Bottcher S, Diedrich S, Timmen-Wego M, Knops E, Lubke N, et al. Detection and characterization of enteroviruses and parechoviruses in healthy people living in the South of Cote d'Ivoire. *J Clin Virol.* 2015;71:40-3.
8. Lauber C, Gorbalenya AE. Toward genetics-based virus taxonomy: comparative analysis of a genetics-based classification and the taxonomy of picornaviruses. *J Virol.* 2012;86:3905-15.
9. Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR. Picornaviridae. In: *Principles and Practice of Clinical Virology*, 4th ed., 1999:23.
10. Oberste MS, Feeroz MM, Maher K, Nix WA, Engel GA, Begum S, et al. Naturally acquired picornavirus infections in primates at the Dhaka zoo. *J Virol.* 2013; 87:572-80.
11. Oberste MS, Feeroz MM, Maher K, Nix WA, Engel GA, Hasan KM, et al. Characterizing the picornavirus landscape among synanthropic nonhuman primates in Bangladesh, 2007 to 2008. *J Virol.* 2013;87:558-71.
12. Swiss Institute of Bioinformatics. 2011. *ViralZone*. Swiss Institute of Bioinformatics, Lausanne, Switzerland. <http://www.expasy.org/viralzone>.
13. Olijve L, Jennings L, Walls T. Human Parechovirus: an Increasingly Recognized Cause of Sepsis-Like Illness in Young Infants. *Clin Microbiol Rev.* 2017;15:31(1).
14. Nateri AS, Hughes PJ, Stanway G. In vivo and in vitro identification of structural and sequence elements of the human parechovirus 5' untranslated region required for internal initiation. *J Virol.* 2000;74:6269-77.
15. Nateri AS, Hughes PJ, Stanway G. Terminal RNA replication elements in human parechovirus 1. *J Virol.* 2002;76:13116-22.
16. Stanway G, Kalkkinen N, Roivainen M, Ghazi F, Khan M, Smyth M, Meurman O, Hyypiä T. Molecular and biological characteristics of echovirus 22, a representative of a new picornavirus group. *J Virol.* 1994;68:8232-8.
17. Harvala H, Simmonds P. Human parechoviruses: biology, epidemiology and clinical significance. *J Clin*

- Virol.* 2009;45:1-9.
18. Wildenbeest JG, Harvala H, Pajkrt D, Wolthers KC. The need for treatment against human parechoviruses: how, why and when? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010;8:1417-29.
 19. Schultheiss T, Emerson SU, Purcell RH, Gaus-Muller V. Polyprotein processing in echovirus 22: a first assessment. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;217:1120-7.
 20. Krogerus C, Samuilova O, Poyry T, Jokitalo E, Hyypia T. Intracellular localization and effects of individually expressed human parechovirus 1 non-structural proteins. *J Gen Virol.* 2007;88:831-41.
 21. Simmonds P, Welch J. Frequency and dynamics of recombination within different species of human enteroviruses. *J Virol.* 2006;80:483-93.
 22. Simmonds P. Recombination and selection in the evolution of picornaviruses and other Mammalian positive-stranded RNA viruses. *J Virol.* 2006;80:1124-40.
 23. Ruoslahti E. RGD and other recognition sequences for integrins. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1996;12:697-715.
 24. Boonyakiat Y, Hughes PJ, Ghazi F, Stanway G. Arginine-glycine-aspartic acid motif is critical for human parechovirus 1 entry. *J Virol.* 2001;75:10000-4.
 25. Al-Sunaidi M, Williams CH, Hughes PJ, Schnurr DP, Stanway G. Analysis of a new human parechovirus allows the definition of parecho-virus types and the identification of RNA structural domains. *J Virol.* 2007;81:1013-1021.
 26. Benschop K, Thomas X, Serpenti C, Molenkamp R, Wolthers K. High prevalence of human parechovirus (HPeV) genotypes in the Amsterdam region and identification of specific HPeV variants by direct genotyping of stool samples. *J Clin Microbiol.* 2008;46:3965-70.
 27. Pham NT, Takanashi S, Tran DN, Trinh QD, Abeyssekera C, Abeygunawardene A et al. Human parechovirus infection in children hospitalized with acute gastroenteritis in Sri Lanka. *J Clin Microbiol.* 2011;49:364-6.
 28. Pham NT, Chan-It W, Khamrin P, Nishimura S, Kikuta H, Sugita K et al. Detection of human parechovirus in stool samples collected from children with acute gastroenteritis in Japan during 2007-2008. *J Med Virol.* 2011;83:331-6.
 29. Alam MM, Khurshid A, Shaukat S, Rana MS, Sharif S, Angez M et al. Human parechovirus genotypes -10, -13 and -15 in Pakistani children with acute dehydrating gastroenteritis. *PLoS One.* 2013; 8:e78377.
 30. Joki-Korpela P, Hyypia T. Parechoviruses, a novel group of human picornaviruses. *Ann Med.* 2001;33:466-71.
 31. [http://www.picornastudygroup.com/\(Erişimi tarihi:03.04.2018\).](http://www.picornastudygroup.com/(Erişimi tarihi:03.04.2018).)
 32. Pulli T, Koivunen E, Hyypia T. Cell-surface interactions of echovirus 22. *J Biol Chem.* 1997;272:21176-80.
 33. Triantafilou K, Triantafilou M, Takada Y, Fernandez N. Human parechovirus 1 utilizes integrins alphavbeta3 and alphavbeta1 as receptors. *J Virol.* 2000;74:5856-62.
 34. Harvala H, Wolthers KC, Simmonds P. Parechoviruses in children: understanding a new infection. *Curr Opin Infect Dis.* 2010;23:224-30.
 35. Krogerus C, Egger D, Samuilova O, Hyypia T, Bienz K. Replication complex of human parechovirus 1. *J Virol.* 2003;77:8512-23.
 36. Coller BA, Chapman NM, Beck MA, Pallansch MA, Gauntt CJ, Tracy SM. Echovirus 22 is an atypical enterovirus. *J Virol.* 1990;64:2692-2701.
 37. Seitsonen J, Susi P, Heikkilä O, Sinkovits RS, Laurinmäki P, Hyypia T et al. Interaction of alphaVbeta3 and alphaVbeta6 integrins with human parechovirus 1. *J Virol.* 2010;84:8509-19.
 38. Benschop KS, Williams CH, Wolthers KC, Stanway G, Simmonds P. Widespread recombination within human parechoviruses: analysis of temporal dynamics and constraints. *J Gen Virol.* 2008;89:1030-5.
 39. Williams CH, Panayiotou M, Girling GD, Peard CI, Oikarinen S, Hyoty H et al. Evolution and conservation in human parechovirus genomes. *J Gen Virol.* 2009;90:1702-712.
 40. Grist NR, Bell EJ, Assaad F. Enteroviruses in human disease. *Progress in medical virology. Fortschritte der medizinischen Virusforschung Progres en virologie medicale.* 1978;24:114-57.
 41. Khetsuriani N, Lamonte-Fowlkes A, Oberst S, Pallansch MA. Centers for Disease Control and Prevention. Enterovirus surveillance--United States, 1970-2005. *MMWR Surveill Summ.* 2006;55:1-20.
 42. Ehrnst A, Eriksson M. Echovirus type 23 observed as a nosocomial infection in infants. *Scand J Infect Dis.* 1996;28:205-6.
 43. Oie M, Higuchi M, Nishikawa M, Fujii M. Isolation and characterization of novel human parechovirus from clinical samples. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:889-95.
 44. Ito M, Yamashita T, Tsuzuki H, Takeda N, Sakae K. Isolation and identification of a novel human parechovirus. *J Gen Virol.* 2004;85:391-8.
 45. Tauriainen S, Martiskainen M, Oikarinen S, Lönnrot M, Viskari H, Ilonen J. Human parechovirus 1 infections in young children--no association with type 1 diabetes. *J Med Virol.* 2007;79:457-62.
 46. Kolehmainen P, Oikarinen S, Koskiniemi M, Simell O, Ilonen J, Knip M et al. Human parechoviruses are frequently detected in stool of healthy Finnish children. *J Clin Virol.* 2012;54:156-61.
 47. Abed Y, Boivin G. Human parechovirus types 1, 2 and 3 infections in Canada. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:969-75.

48. Shoja Z, Jalilvand S, Mollaei-Kandelous Y, Validi M. Epidemiology of viral gastroenteritis in Iran. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33:218-20.
49. Rahimi P, Naser HM, Siadat SD, Sohrabi A, Mostafavi E, Motamedirad M et al. Genotyping of human parechoviruses in Iranian young children with aseptic meningitis and sepsis-like illness. *J Neurovirol*. 2013;19:595-600.
50. Van der Sanden S, de Bruin E, Vennema H, Swanink C, Koopmans M, vander Avoort H. Prevalence of human parechovirus in The Netherlands in 2000 to 2007. *J Clin Microbiol*. 2008;46:2884-9.
51. Fischer TK, Midgley S, Dalgaard C, Nielsen AY. Human parecho-virus infection, Denmark. *Emerg Infect Dis*. 2014;20:83-7.
52. van der Sanden SM, Koopmans MP, van der Avoort HG. Detection of human enteroviruses and parechoviruses as part of the national enterovirus surveillance in The Netherlands, 1996-2011. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32:1525-31.
53. Harvala H, McLeish N, Kondracka J, McIntyre CL, McWilliam Leitch EC, Templeton K et al. Comparison of human parechovirus and enterovirus detection frequencies in cerebrospinal fluid samples collected over a 5-year period in Edinburgh: HPeV type 3 identified as the most common picornavirus type. *J Med Virol*. 2011;83:889-96.
54. Watanabe K, Hirokawa C, Tazawa T. Seropositivity and epidemiology of human parechovirus types 1, 3, and 6 in Japan. *Epidemiol Infect*. 2016;144:3451-60.
55. Verboon-Macielek MA, Groenendaal F, Hahn CD, Hellmann J, van Loon AM, Boivin G et al. Human parechovirus causes encephalitis with white matter injury in neonates. *Ann Neurol*. 2008;64:266-73.
56. Piñero L, Vicente D, Montes M, Hernández-Dorronsoro U, Cilla G. Human parechoviruses in infants with systemic infection. *J Med Virol*. 2010;82:1790-6.
57. Shoji K, Komuro H, Miyata I, Miyairi I, Saitoh A. Dermatologic manifestations of human parechovirus type 3 infection in neonates and infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:233-6.
58. Pajkrt D, Benschop KS, Westerhuis B, Molenkamp R, Spanjerberg L, Wolthers KC. Clinical characteristics of human parechoviruses 4-6 infections in young children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:1008-10.
59. Figueroa JP, Ashley D, King D, Hull B. An outbreak of acute flaccid paralysis in Jamaica associated with echovirus type 22. *J Med Virol*. 1989;29:315-9.
60. Koskiniemi M, Paetau R, Linnavuori K. Severe encephalitis associated with disseminated echovirus 22 infection. *Scand J Infect Dis*. 1989;21:463-6.
61. Legay V, Chomel JJ, Fernandez E, Lina B, Aymard M, Khalfan S. Encephalomyelitis due to human parechovirus type 1. *J Clin Virol*. 2002;25:193-5.
62. Wolthers KC, Benschop KS, Schinkel J, Molenkamp R, Bergevoet RM, Spijkerman IJ et al. Human parechoviruses as an important viral cause of sepsislike illness and meningitis in young children. *Clin Infect Dis*. 2008;47:358-63.
63. Benschop KS, Schinkel J, Minnaar RP, Pajkrt D, Spanjerberg L, Kraakman HC et al. Human parechovirus infections in Dutch children and the association between serotype and disease severity. *Clin Infect Dis*. 2006;42:204-10.
64. Boivin G, Abed Y, Boucher FD. Human parechovirus 3 and neonatal infections. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:103-5.
65. Levorson RE, Jantausch BA, Wiedermann BL, Spiegel HM, Campos JM. Human Parechovirus-3 infection: emerging pathogen in neonatal sepsis 2. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:545-7.
66. Eis-Hübinger A, Eckerle I, Helmer A, Reber U, Dresbach T, Buderus S. et al. Two cases of sepsis-like illness in infants caused by human parechovirus traced back to elder siblings with mild gastroenteritis and respiratory symptoms. *J Clin Microbiol*. 2013;51:715-8.
67. Renna S, Bergamino L, Pirlo D, Rossi A, Furione M, Piralla A. et al. A case of neonatal human parechovirus encephalitis with a favourable outcome. *Brain Dev*. 2014;36:70-3.
68. Tapia G, Cinek O, Witso E, Kulich M, Rasmussen T, Grinde B et al. Longitudinal observation of parechovirus in stool samples from Norwegian infants. *J Med Virol*. 2008;80:1835-42.
69. Zhang DL, Jin Y, Li DD, Cheng WX, Xu ZQ, Yu JM et al. Prevalence of human parechovirus in Chinese children hospitalized for acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1563-9.
70. Ito M, Yamashita T, Tsuzuki H, Kabashima Y, Hasegawa A, Nagaya S et al. Detection of human parechoviruses from clinical stool samples in Aichi, Japan. *J Clin Microbiol* 2010;48:2683-8.
71. Cumming G, Khatami A, McMullan BJ, Musto J, Leung K, Nguyen O et al. Parechovirus genotype 3 outbreak among infants, New South Wales, Australia, 2013-2014. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:1144-52.
72. Felsenstein S, Yang S, Eubanks N, Sobrera E, Grimm JP, Aldrovandi G. Human parechovirus central nervous system infections in southern California children. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33:e87-91.
73. Renaud C, Kuypers J, Ficken E, Cent A, Corey L, Englund JA. Introduction of a novel parechovirus RT-PCR clinical test in a regional medical center. *J Clin Virol*. 2011;51:50-3.
74. Sharp J, Harrison CJ, Puckett K, Selvaraju SB, Penaranda S, Nix WA et al. Characteristics of young infants in whom human parechovirus, enterovirus or neither were detected in cerebrospinal fluid during sepsis evaluations. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:213-6.
75. Ljubin-Sternak S, Juretić E, Šantak M, Pleša M, Forčić D, Vilibić-Čavlek T et al. Clinical and molecular characterization of a parechovirus type 1 outbreak in neonates in Croatia. *J Med Virol*. 2011;83:137-41.

76. Sedmak G, Nix WA, Jentzen J, Haupt TE, Davis JP, Bhattacharyya S et al. Infant deaths associated with human parechovirus infection in Wisconsin. *Clin Infect Dis.* 2010;50:357-61.
77. Schuffenecker I, Javouhey E, Gillet Y, Kugener B, Billaud G, Floret D et al. Human parechovirus infections, Lyon, France, 2008-10: evidence for severe cases. *J Clin Virol.* 2012;54:337-41.
78. van Zwol AL, Lequin M, Aarts-Tesselaar C, van der Eijk AA, Driessen GA, de Hoog M et al. Fatal neonatal parechovirus encephalitis. *BMJ Case Rep.* 2009;2009.
79. Baumgarte S, de Souza Luna LK, Grywna K, Panning M, Drexler JF, Karsten C et al. Prevalence, types, and RNA concentrations of human parechoviruses, including a sixth parechovirus type, in stool samples from patients with acute enteritis. *J Clin Microbiol.* 2008;46:242-8.
80. Verboon-Macielek MA, Krediet TG, Gerards LJ, de Vries LS, Groenendaal F, van Loon AM. Severe neonatal parechovirus infection and similarity with enterovirus infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27:241-5.
81. Harvala H, Robertson I, McWilliam Leitch EC, Benschop K, Wolthers KC, Templeton K et al. Epidemiology and clinical associations of human parechovirus respiratory infections. *J Clin Microbiol.* 2008;46:3446-53.
82. Nielsen NM, Midgley SE, Nielsen AC, Christiansen CB, Fischer TK. Severe human parechovirus infections in infants and the role of older siblings. *Am J Epidemiol.* 2016;7:644-70.
83. Midgley CM, Jackson MA, Selvarangan R, Franklin P, Holzschuh EL, Lloyd J et al. Severe Parechovirus 3 Infections in Young Infants-Kansas and Missouri, 2014. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2018;7:104-12.
84. Cannon MJ, Westbrook K, Levis D, Schleiss MR, Thackeray R, Pass RF. Awareness of and behaviours related to child-to-mother transmission of cytomegalovirus. *Prev Med.* 2012;54:351-7.
85. Prater KJ, Fortuna CA, McGill JL, Brandeberry MS, Stone AR, Lu X. Poor hand hygiene by college students linked to more occurrences of infectious diseases, medical visits, and absence from classes. *Am J Infect Control.* 2016;44:66-70.
86. Triantafilou K, Vakakis E, Orthopoulos G, Ahmed MA, Schumann C, Lepper PM et al. TLR8 and TLR7 are involved in the host's immune response to human parechovirus 1. *Eur J Immunol.* 2005;35:2416-23.
87. Westerhuis BM, Koen G, Wildenbeest JG, Pajkrt D, de Jong MD, Benschop KS et al. Specific cell tropism and neutralization of human parechovirus types 1 and 3: implications for pathogenesis and therapy development. *J Gen Virol.* 2012;93:2363-70.
88. Volpe JJ. Neonatal encephalitis and white matter injury: more than just inflammation. *Ann Neurol.* 2008;64:232-6.
89. Casas-Alba D, Martinez-Monseny A, Monfort L, Munoz-Almagro C, Ca-brerizo M, Deya A et al. Extreme hyperferritinemia in dizygotic twins with human parechovirus-3 infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2016;35:1366-8.
90. Aizawa Y, Suzuki Y, Watanabe K, Oishi T, Saitoh A. Clinical utility of serum samples for human parechovirus type 3 infection in neonates and young infants: the 2014 epidemic in Japan. *J Infect.* 2016;72:223-32.
91. Benschop K, Wildenbeest J, Pajkrt D, Wolthers K. Human Parechoviruses, New Players in the Pathogenesis of Viral Meningitis. In: Meningitis, WirekoBrobby G (ed.) 2012;12:145-62.
92. Brownell AD, Reynolds TQ, Livingston B, McCarthy CA. Human parechovirus-3 encephalitis in two neonates: acute and follow-up magnetic resonance imaging and evaluation of central nervous system markers of inflammation. *Pediatr Neurol.* 2015;52:245-9.
93. Kurz H, Prammer R, Bock W, Ollereth R, Bernert G, Zwiauer K et al. Intracranial hemorrhage and other symptoms in infants associated with human parechovirus in Vienna, Austria. *Eur J Pediatr.* 2015;174:1639-47.
94. Selvarangan R, Nzabi M, Selvaraju SB, Ketter P, Carpenter C, Harrison CJ. Human parechovirus 3 causing sepsis-like illness in children from midwestern United States. *Pediatr Infect Dis J.* 2011;30:238-42.
95. Verboon-Macielek MA, Krediet TG, Gerards LJ, de Vries LS, Groenendaal F, van Loon AM. Severe neonatal parechovirus infection and similarity with enterovirus infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27:241-5.
96. Khatami A, McMullan BJ, Webber M, Stewart P, Francis S, Timmers KJ et al. Sepsis-like disease in infants due to human parechovirus type 3 during an outbreak in Australia. *Clin Infect Dis.* 2015;60:228-36.
97. Nix WA, Maher K, Johansson ES, Niklasson B, Lindberg AM, Pallansch MA et al. Detection of all known parechoviruses by real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2008;46:2519-24.
98. Benschop KS, de VM, Minnaar RP, Stanway G, van der Hoek L, Wolthers KC et al. Comprehensive full-length sequence analyses of human parechoviruses: diversity and recombination. *J Gen Virol.* 2010;91:145-54.
99. Abzug MJ, Keyserling HL, Lee ML, Levin MJ, Rotbart HA. Neonatal enterovirus infection: virology, serology, and effects of intravenous immune globulin. *Clin Infect Dis.* 1995;20:1201-6.
100. De Crom SC, Obihara CC, de Moor RA, Veldkamp EJ, van Furth AM, Rossen JW. Prospective comparison of the detection rates of human enterovirus and parechovirus RT-qPCR and viral culture in different pediatric specimens. *J Clin Virol.* 2013;58:449-54.

101. (<https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm466360.html>). (accessed April 2019)
102. Nielsen ACY, Böttiger B, Midgley SE, Nielsen LP. A novel enterovirus and parechovirus multiplex one-step real-time PCR-validation and clinical experience. *J Virol Methods*. 2013;193:359–63.
103. Noordhoek GT, Weel JF, Poelstra E, Hooghiemstra M, Brandenburg AH. Clinical validation of a new real-time PCR assay for detection of enteroviruses and parechoviruses, and implications for diagnostic procedures. *J Clin Virol* 2008;41:75–80.
104. McIver CJ, Jacques CF, Chow SS, Munro SC, Scott GM, Roberts JA et al. Development of multiplex PCRs for detection of common viral pathogens and agents of congenital infections. *J Clin Microbiol*. 2005;43:5102-10.
105. Philip NB, Russell CD, Michael DN, Nigel C, Elizabeth E, Kristine M et al. Parechovirus encephalitis and neurodevelopmental outcomes. *Pediatrics* 2016;137:1-11.
106. Ghanem-Zoubi N, Shiner M, Shulman LM, Sofer D, Wolf D, Marva E et al. Human parechovirus type 3 central nervous system infections in Israeli infants. *J Clin Virol*. 2013;58:205-10.
107. Drysdale SB, Kelly DF. Fifteen-minute consultation: enterovirus meningitis and encephalitis-when can we stop the antibiotics? *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2017;102:66-71.
108. Van de Ven AA, Douma JW, Rademaker C, van Loon AM, Wensing AM, Boelens JJ. Pleconaril-resistant chronic parechovirus-associated enteropathy in agammaglobulinaemia. *Antivir Ther*. 2011;16:611-4.
109. Li C, Wang H, Shih SR, Chen TC, Li ML. The efficacy of viral capsid inhibitors in human enterovirus infection and associated diseases. *Curr Med Chem*. 2007;14:847-56.
110. Aizawa Y, Watanabe K, Oishi T, Hirano H, Hasegawa I, Saitoh A. Role of maternal antibodies in infants with severe diseases related to human parechovirus type 3. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:1966-72.
111. Izumita R, Aizawa Y, Watanabe K, Saitoh A. A role of intravenous immunoglobulin in human parechovirus type 3 infection in an in vitro model. *Open Forum Infect Dis*. 2016;3:152.