

Virologické repetitorium MUDr Petra Rainetová

VIROLOGIE - obecně

Virion je virová částice. Vnitřní část virionu se nazývá **dřeň** nebo častěji **nukleoid**. Nukleoid obsahuje nukleovou kyselinu a je obklopen bílkovinnou slupkou či schránkou-**kapsidou**.

Celek se nazývá **nukleokapsida**.

Holé nukleokapsidy – pikornaviry, adenoviry, papillomaviry

Nukleokapsida + obal – herpesviry, orthomyxoviry, paramyxoviry

Kapsida je sestavena z opakujících se stejných bílkovinných podjednotek-**protomér**. Tvar těchto podjednotek jim umožňuje, aby se samy o sobě přikládaly jedna k druhé a symetricky se sdružovaly ve vyšší útvary. Podle typu symetrie rozeznáváme kapsidy se symetrií

kubickou nebo **spirální**.

Kapsidy s **kubickou symetrií** jsou stavěny jako pravidelný dvacetistěn, těleso o 12 vrcholech a 20 stěnách tvaru rovnostranného trojúhelníka. Virové kapsidy o kubické symetrii nemusí vypadat jako dvacetistěn, dokonce většina kapsid tohoto typu má zhruba kulovitý tvar. Ve vrcholech dvacetistěnu bývají pětice protomér, na jeho hranách a stěnách jsou jednotky šestičlenné. Příklad – herpesviry, adenoviry, pikornaviry, papillomaviry, parvoviry, togaviry, reoviry-dvojitá kapsidová slupka. Nukleová kyselina je v kubické kapsidě je asi pravidelně svinuta a dotýká se kapsidy. U některých virů se vyskytují ještě molekuly bílkovin. U papilomavirů a polyomavirů se jejich DNA vine po povrchu molekul histonu – což jsou proteiny hostitelského původu.

U virů se **spirální –helikální** symetrií se nukleoid a kapsida nedají dobře rozeznat, proto mluvíme o **nukleokapsidě**. Tvoří ji závitnice vláknů nukleové kyseliny těsně obloženého bílkovinnými protomery. Vzniká tak dutý válec. Je vždy uložena v obalu. Průměr a stoupání závitu je dobře patrný v elektronovém mikroskopu. –Př. orthomyxoviry, paramyxoviry, rhabdoviry.

Mezi viry s **kompletní** symetrií patří bičíkaté fágy- hlavička je symetrie **kubické** a bičík **binární**.

Velmi **kompletní** stavbu mají poxviry- nukleoid má tvar promáčknutého disku, v jeho výdutích jsou čočkovitá laterální tělíska a celek je obklopen obalem.

Virový obal se skládá z vnitřního proteinu-**M-protein**, z lat. matrix a ze zevního **lipoproteinového komplexu**(tento komplex tvoří lipidová dvojvrstva, pocházející z buněčných membrán a virové glykoproteiny, které se sdružují v pravidelně uspořádané peplomy, které vyčnívají z obalu v podobě výběžků).

Obalené viry : herpesviry, togaviry, viry se spirální symetrií, poxviry

Tvar : kulovitý (pikornaviry, obalené viry-retroviry)

ozubená kolečka-z povrchu vyčnívají kapsomery (rotaviry)

nepravidelný(orthomyxoviry, paramyxoviry, koronaviry, herpesviry)

projektily (rhabdoviry)

vánočky nebo brikety (poxviry)

vláknité (filoviry)

Velikost : největší – poxviry – 300x250x100 nm

Poměrně velké – paramyxoviry – 200-300 nm

Menší –100 nm – viry chřipky

Malé – 20 nm – pikornaviry, parvoviry

Znázorňování virů : negativní barvení – k suspenzi virionů se přidá látka neprostupná pro elektrony, např. kys. Fosfowolframová, ta obklopí viriony a pronikne do štěrbin mezi virové struktury, takže okolí virionů a tyto štěrbinové budou tmavé

Chemické složení a funkce složek virionu

Nukleová kyselina – nositel genetické informace pro tvorbu sebe sama a ostatních virových makromolekul

- nositel infekčnosti, schopnosti vyjádřit tuto svoji genetickou informaci v hostitelské buňce.

9Dvouřetězcová DNA (poxviry, herpesviry, adenoviry)

Jednořetězcová RNA o kladné polaritě – odpovídá mRNA (pikornaviry, togaviry)

Jednořetězcová RNA o záporné polaritě (paramyxoviry, rhabdoviry, filoviry)

Segmentovaná RNA (orthomyxoviry, bunjaviry)

Dvě vlákna RNA o kladné polaritě – (retroviry)

Dvouřetězcová RNA – reoviry

Jednořetězcová DNA – parvoviry,

DNA do kruhu – papillomaviry, polyomaviry

Virové proteiny a lipidy

Většina proteinů se podílí na stavbě virionů, některé účinkují jako *enzymy*. *Proteiny kapsidy* chrání genom viru před vlivy okolního prostředí. U neobalených virů odpovídají za přilnutí virionu na povrch vnímavé buňky. Strukturální bílkoviny v dřeni virionu se pravděpodobně vážou na nukleovou kyselinu a stabilizují ji. U některých virů – papillomaviry, polyomaviry se jedná o buněčné histomy. K virovým *enzymům* patří neuraminidasa orthomyxovirů a paramyxovirů (umožňuje uvolnění zralých virionů z buňky), fágový lysozym a polymerasy nukleových kyselin (zahajují množení viru).

Důležitou součástí obalených virů jsou *glykoproteiny obalových peplomer*. Uplatňují se v přilnutí viru a jeho průniku do buňky.

Ve všech obalených virech jsou přítomny *lipidy*. Pocházejí z membrán hostitelské buňky a vytvářejí lipidovou dvojvrstvu jako základní složku virového obalu, která chrání virion před enzymatickým poškozením. Lipidy jsou příčinou citlivosti většiny obalených virů k éteru a jiným rozpustidlům a dezinfekčním látkám typu kvarterních amoniových solí.

Virové antigeny

Antigeny – virové proteiny, nukleoproteiny, glykoproteiny

Nestrukturální virové antigeny – virem kódované enzymy

Strukturální antigeny- povrchové antigeny – bílkoviny zevní části kapsidy neobalených virů, resp. glykoproteinové antigeny peplomer. *Povrchové antigeny* jsou *vysoce specifické*, na jejich podkladě se rozlišují *serotypy* různých virů – enteroviry, adenoviry, *virové podtypy* či *jednotlivé kmene* jako u viru chřipky. Protilátky proti povrchovým antigenům reaguje jen s virem téhož typu nebo kmene a prokazují se *neutralizační reakcí* nebo *zábranou hemaglutinace*.

Antigenní přípravek je suspenzí poměrně čistých celých virionů – *virový* neboli *virionový*, *korpuskulární antigen*.

Protilátky proti povrchovým antigenům virionu bývají *protekční*, chrání před opakovanou infekcí tímž typem viru. Přetrvávají v těle řadu let, mnohdy po celý život..

Vnitřní antigeny virionu jsou *bílkoviny* a *nukleoproteinové komplexy* nukleoidu, případně nukleokapsidy. Jsou *méně specifické*, neboť bývají společné všem virům určité skupiny (např. všem adenovirům) nebo typu (např. všem podtypům chřipky). Protilátky se dokazují většinou *reakcí vazby komplementu*. Hladina komplementfixačních protilátek bývá nižší než neutralizačních a může se během pár měsíců po onemocnění vytrátit úplně.

Antigenní preparát- solubilní antigen – hrubé extrakty z infikovaných buněk vzniklé opakovaným zmražením a rozmražením.

Inaktivace virů

Inaktivací virů se rozumí poškození virionu, které ho zbaví schopnosti infikovat buňku.

Choulostivé- obalené – herpesviry, paramyxoviry, retroviry

Odolné – neobalené- enteroviry, adenoviry, rotaviry

Výjimka . obalené ale rezistentní – poxviry, hepadnaviry

Výrazná ochrana před zevními vlivy poskytuje virům prostředí s bílkovinami-např. virus hepatitidy B v krevním séru, virus vztekliny a klíšťové encefalitidy v infikovaných tkáních.

Fyzikální vlivy

Prostředky inaktivace –teplo a záření

Viry – termolabilní

56 C – poločas přežití (doba během níž se inaktivuje polovina přítomných virionů) sekundy

37 C minuty

pokoj. teplota, chladnička - dni

-70 C – roky

při běžné teplotě rychlá inaktivace – paramyxoviry, herpesviry

odolné – pikornaviry, adenoviry, rotaviry

nejrezistentnější – virus hepatitidy B

běžné viry se zlikvidují autoklavováním, ne však priony

Záření – viry odolnější než bakterie- UV záření ničí viry jen v bezprostřední blízkosti

Vysychání- rychle se ztrácí infekčnost- relativně odolné rhinoviry, nejlépe vzdorují poxviry

Chemické prostředky – oxidační a alkylační činidla – kyselina peroctová (Persteril), chlor a jeho deriváty (chloramin, chlornan sodný), manganistan draselný a jod, formalin, glutaraldehyd, ethylenoxid, beta-propiolakton, silné kyseliny , louhy

Alkohol

Nespolehlivé –lysol, orthosan,chloroform, eter- ničí viry s obalem, neobalené jsou rezistentní (slouží i k identifikaci , zda má vir obal nebo ne)

Transport virů – s ochran. bílkovinami, -60 –70 C

TŘÍDĚNÍ A NÁZVOSLOVÍ VIRŮ

-povaha hostitele : viry bakterií – bakteriofágy
viry kvasinek a plísní
viry rostlin
viry hmyzu
viry obratlovců

Mezinárodní komise pro taxonomii virů zavedla universální klasifikační systém, podle něhož se viry dělí do více než 70 taxonů a to na základě následujících znaků :

- **typ a povaha nukleové kyseliny ve virionu** (RNA,DNA)
- **zřetězení příslušné nukleové kyseliny** (jednořetězcová, dvouřetězcová)
- **uspořádání molekuly nukleové kyseliny**(lineární, cirkulární)
- **polarita vláknů nukleové kyseliny** (pozitivní, negativní)
- **molekulová hmotnost nukleové kyseliny** (od $1,4 \cdot 10^6$ do $1,6 \cdot 10^8$)
- **segmentace genomu** (segmentovaný, nesegmentovaný)
- **typ polymerasy nukleové kyseliny**, kterou virus nese ve virionu nebo jejíž tvorbu indukuje v buňce
- **symetrie kapsidy** (kubická, spirální, komplexní)
- **přítomnost obalu** (obalené , bez obalu)
- **místo skládání kapsidy v buňce** (v cytoplasmě, v jádře)
- **místo v buňce, kde kapsida nabývá obal** : na membráně jaderné, na membránách uvnitř cytoplasmy nebo na membráně povrchové
- **citlivost vůči éteru** (závislost na přítomnosti obalu)
- **počet, tvar a uspořádání kapsomer** (32,72,92,162,252 apod.)
- **velikost závitů nukleokapsidy** –u virů se spirální symetrií, uvádí se v nm
- **velikost virionu** – 20-300nm
- **antigenní struktura, způsob přenosu, patogenita**

podle těchto znaků --→virové skupiny---→uvnitř těchto skupin **virové řády** (konc. –virales, zatím existují dva) a v případě živočišných virů 27 **virových čeledí** (konc.- viridae)-
→**podčeledí**(- virinae) a **rody** (-virus)

MNOŽENÍ (REPRODUKCE) VIRŮ

REPRODUKČNÍ CYKLUS

Vnímavá buňka –permisivní- v ní reprodukční cyklus proběhne až do konce--> až k uvolnění zralých virionů

Nevnímavá- reprodukční cyklus se nerozběhne vůbec

Nepermisivní- cyklus se zastaví předčasně(inkompletní, abortivní cykly)

1.VSTUP VIROVÉ NUKLEOVÉ KYSELINY DO BUŇKY

a. přilnutí – střet *virionu s receptorem*(povrchové buněčné glykoproteiny,sacharidové zbytky), pro daný virus na povrchu buňky

receptory-v prohlubínách buněčné membrány(tzv. povlečené jamky), které jsou z cytoplazm. strany povlečeny vláknitou bílkovinou,klathrinem

- s receptory se specificky vážou zvláštní virové struktury-přípojné bílkoviny virionu,buď výběžky – hemagglutinin(chřipka-h. se váže na kys. Sialovou, může se vázat i na buňky v nichž se nemůže množit-ery-aglutinace) nebo prolákliny(rhinoviry).
- u HIV,který se váže glykosylovaným proteinem gp 120 jsou ještě mimo CD 4 na Th lym koreceptory-chemokinové receptory CCR5 a CXCR4.
- Adenoviry –protein vlákna + CAR(coxsackie a adenovirový receptor) a protein base + buněčný integrin

Tropismus – typ buněk , v kterých je vir schopen se množit-neurotropní, dermatropní....

Polio receptory –sliznice nosohltanu, střeva, neurony předních rohů míšních

EBV- epitelie nosohltanu, lym B

Virová hemagglutinace- hemagglutiny + receptory ery-----> shluky

HIT - protilátky bránící hemagglutinaci

b. proniknutí – penetrace do buňky : obalené (PARAMYXOVIRY, RETROVIRY, HERPESVIRY)-->obal splyne s buněčnou plazmatickou membránou
neobalené + ORTHOMYXOVIRY, TOGAVIRY-->

endocytosa-povlečená jamka kolem receptoru s navázaným virionem se vychlípi, odškrtní a promění v nitrobuněčný měchýřek a splyne s endosomem- u obalených virů splyne jejich obal s membránou endosomu a nukleokapsida se uvolní do cytoplasmy

- u neobalených- povrchové proteiny v důsledku nízkého pH aktivují a lyzují membránu

c. svlékání virionu – virový genom se zbavuje kapsidy a obalu

d. doprava virového genomu – RNA viry – cytoplasmu , vyj. Chřipka

DNA - jádro, vyj. Poxviry

2. SYNTÉZA VIROVÝCH SLOŽEK

Po uvolnění z kapsidy si **virová NK podřídí metabolismus buňky** a přinutí ji, aby místo svých bílkovin a NK tvořila bílkoviny a NK virové. Syntesa těchto látek je řízena většinou virovými

enzymy a odehrává se na buněčných ribosomech na úkor energetického a materiálního hospodaření buňky.

DNA-viry- → DNA se transkribuje na mRNA a. pomocí vlastní polymerasy RNA –poxviry
b. pomocí buněč. enzymů-papillomaviry, parvoviry

- vzniklá mRNA kóduje syntesu tzv. časných proteinů, např. polymerasy DNA
- tyto enzymy replikují virovou DNA
- strukturální proteiny se začínají tvořit až později, po nahromadění dostatečného množství replikované DNA

RNA-viry- malé-jednořetězcové, pozitivní polarita (pikornaviry, togaviry)

- RNA působí jako mRNA
- polymerasu tvoří infikovaná buňka
- ta na matrici rodičovské RNA postaví komplementární minus-vlákna
- tato vlákna slouží jako vzor pro stavbu dceřiných molekul RNA
- ty fungují jako mRNA pro syntézu strukturálních virových bílkovin

RNA-viry- větší, jednořetězcové, negativní polarita (orthomyxoviry, paramyxoviry, rhabdoviry)

- polymerasu RNA si nesou ve svých virionech
- transkriptasou se sestojí doplňkové vlákno RNA o kladné polaritě (mRNA)
- teprve toto vlákno coby mRNA předává informace nutné pro další syntézu viru

RNA-viry- dvouřetězcové (reoviry)

- stejné jako u větších RNA –virů, negativní polarity
- nedříve přepsat pomocí vlastní virové transkriptasy na mRNA

Nádorové RNA-viry, retroviry

- jejich RNA se pomocí vlastní reverzní transkriptasy přepisuje na DNA
- tato DNA se jako provirus integruje do buněčného genomu
- reprodukční cyklus viru pak někdy pokračuje až po sérii buněčných dělení

DOZRÁVÁNÍ (MATURACE) VIRIONŮ

-nově vytvořené virové složky se v buňce hromadí **v cytoplasmě** (poxviry, pikornaviry)
v jádře (adenoviry, herpesviry)

-virové proteiny a glykoproteiny – **v buněčné membráně**-endoplasmatického retikula
- povrchové
-jaderné

-molekuly virových bílkovin se sdružují kolem vláken NK → nukleoid → nukleokapsidu

-sestavování kapsidy probíhá samočinně bez dalších enzymů a bez energie

-vznikají i částice nedokonale sestavené nebo prázdné (defektní, nekompletní) – vadí při množení viru, proto se jim říká defektní interferující částice

-obalené-: obal vzniká prostupem buněčnou membránou

-pod elektr. mikroskopem to vypadá jako pučení

-nad virionem se v buněč. membráně vymění buněčné proteiny za virové, lipidy zůstanou pův.

-pučení hemaglutinujících virů přes povrchovou membránu buněk TK je příčinou

HEMADSORPCE (ery se přichytí na inf. buňky- chřipka, parainfluenza)

-uvolňování zralých virionů z buňky- **obalené viry**- potřebují aby při dozrávání aspoň některé funkce zůstaly zachovány, proto se viriony uvolňují postupně

-**neobalené**-pikornaviry-buňka se rychle rozpadá a nová generace ji opouští naráz

DÉLKA A VÝTĚŽEK RŮSTOVÉHO CYKLU

Délka růstového cyklu :

- od objevení prvních nových infekčních virionů
- rychle se množí pikornaviry (polio – 3 hod po inf., rozpad buňky za 6 hod.)
- 6-12 h – chřipka
- pomalu – adenoviry
- dni – retroviry, papovaviry

Výtěžek růstového cyklu :

- počet vytvořených virionů v jedné buňce
- pikornaviry –1000 inf. virionů
- chřipka – 100 inf. virionů
- počet fyzikál .částic, tj. všech virionů, jak inf., tak inkompletních(defektních)
je vyšší, až 100x

VIROVÁ GENETIKA

Spontánní mutace- závisí na kmeni viru a na sledovaném znaku

-v průměru 1 mutanta na milion ostatních virionů

-rychleji mutace u RNA virů, extrém retroviry(v každé kopii genomu několik mutant

Defektní interferující částice- spontánně vznikající deleční mutanty(ztratily části genomu)

Indukované mutace- pomocí mutagenů, jimiž působíme na NK přímo nebo během replikace

- mutace genomu se projeví změnou fenotypu
- mutovaný kmen : - větší plaky na TK
 - ztrácí virulenci pro pokusné zvíře
- ztrácí schopnost množit se v buňkách určitého typu

Adaptace – získání schopnosti viru intenzivně se množit v buňkách nového hostitele

(kuřecího embrya, TK, jiného zvířete)->navenek zvýšení patogenity, virulence

→ tyto změny po několika málo pasážích-> v novém prostředí přirozená selekce

virulentnějších mutant, které rychle převládnou->desítky až stovky pasáží novým prostředím

vede ke ztrátě virulence pro původního hostitele -> ATENUACE(využití –vývoj očk. látek)

→ztráta virulence často spjata s neschopností množit se při vyšších t (u polia tento genet.

znak se označuje rtc)

Nedědičné změny fenotypu –např . obsah buněč. lipidů v obalech->složky typické pro viry vyrostlé na jednom druhu buněk se ztratí po pomnožení na buňkách jiných

Vzájemné působení mezi viry

Genetické jevy

Rekombinace- dva velmi příbuzné viry si při smíšené infekci buňky mohou vyměnit část svého genetického materiálu

Rekombinanta-potomstvo- nová kombinace vloh a znaků

Orthomyxoviry- genom segmentován-výměna celých segmentů- rekombinací mezi lidskými a zvířecími kmeny ->nové antigenní varianty viru chřipky (antigenní shift)

Genetická reaktivace- jeden nebo oba rodičovské viry – inaktivovány->smíšené inf.->inf. potomstvo

Zkřížená reaktivace- záchrana znaku, je-li jeden z virů inaktivován, mohou se nepoškozené části jeho genomu rekombinovat s genomem partnera aktivního-> v potomstvu se projeví znaky inakt. viru

Reaktivace množením- infekce buňky mnoha inaktivovanými viriony jednoho druhu viru naráz vede k rekombinaci nepoškozených úseků jejich NK a k pomnožení viru->nové dědičné vlastnosti se v potomstvu neobjeví

Negenetické jevy

Dva viry v jedné buňce :

- a. **Interference** – zábrana množení jednoho viru virem druhým(zničení nebo obsazení buněčných receptorů, soutěžením o jiné buněčné struktury-ribosomy
- b. **Komplementace**-zvýšení výtěžku množícího viru pomocí viru druhého→často jeden defektní, neschopný se pomnožit, druhý-helper- jej doplní a poskytne mu chybějící enzym→ dodá-li celý obal→pseudotypy s genomem defektního viru zahaleného do obalu helpra(hepatitida B a D, retroviry)
- c. **Množí se nezávisle na sobě**

Viry jako vektory genů

Genová terapie- vnášení terapeutických genů do postižených buněk za účelem léčby onemocnění : a. geneticky podmíněné onem.- hemofilie, cystická fibrosa

b. onemocn. maligní

d. neurodegener.

e. kardiovaskulár.

f. infekční (AIDS, hepatitida B)

- ***vektory se připravují z virů, v nichž geny podmiňující jejich patogenitu jsou nahrazeny příslušnými terapeutickými geny***

+retrovirové(z Moloneyho viru myší leukémie)

+lentivirové

+adenovirové

+z viru vakcinie

problém imunogennost- imunita se je snaží zničit

-úvahy o možné úloze viru při přenosu či vnesení genů během fylogenetického vývoje

-ovlivnění psychiky latentními viry?

-psychopati-vyšší titry protilátek proti viru oparu

VLIV VIROVÉ INFEKCE NA ÚROVNI BUŇKY

Druhy virové infekce na úrovni buňky

Buňka nevnímavá- nemá receptor pro daný virus

Virion neinfekční – lysosomy buňky ho zničí

Buňka infikovaná- DNA buňky a NK viru se množí **A. navzájem závisle** nebo **B. samostatně**

B. Samostatná replikace obou genomů – množení jedné NK převládne →

NK viru - → **PRODUKTIVNÍ INFEKCE** → syntesa nového inf. viru

ABORTIVNÍ INFEKCE- nevzniká inf. virus

PERZISTENTNÍ INFEKCE- NK viru a buňky se replikují současně →

virus se množí, buňky přežívají → např. virus zarděnek při vroz. nákaze

LATENTNÍ INFEKCE- NK v podobě cirkulární molekuly (virus oparu)

po urč. dobu, aniž se replikuje

A. NAVZÁJEM ZÁVISLÁ REPLIKACE obou NK → integrace virové

DNA do buněčného chromosomu → virová DNA se replikuje zároveň s buněč.

při dělení buňky → v buňce zůstává jako provirus → k dokončení cyklu nemusí

dojít → latentní infekce → takto infikované buňky mívají změněné vlastnosti →

latentní infekce se může různými zásahy aktivovat

BUNĚČNÉ ZMĚNY PŘI VIROVÉ INFEKCI

1. Cytocidní infekce

Infikovaná buňka odumírá, obvykle ke konci produktivního cyklu, někdy i během abortivního (enteroviry).

Změny na infikované buňce :

- tvorba interferonu

- zástava syntesy většiny buněčných makromolekul → metabolismus buňky si podmaní vir.

NK → tím se poruší průběžná obměna součástí buněčných struktur a jejich přestavba

- poškození buněčných membrán → naruší se funkce sodíkové pumpy → zvýší se prostupnost bun. membrány → membrána je přeplněná virovými glykoproteiny → tím se cílem imunitní odpovědi

- aktivace lysosomů

Morfologické změny infikované buňky

- nespecifické změny postižených buněk

- virové inkluze – adenoviry (jaderné inkluze-viriony)

- polioviry (cytoplasmatické inkluze-viriony)

- herpesviry ((cytoplasm. inkluze- reakce buňky na infekci)

- lyssa (cytoplasm. inkluze – viriony + reakce buňky na infekci)

Tkáňové kultury

Morfologické změny infikovaných buněk – cytoplasmatický efekt (CPE) viru

- poškozené buňky ztrácejí výběžky, zakulacují se, silněji lámou světlo a odlupují se od zkumavky

- paramyxoviry-CPE-syncytia-mnohojaderné útvary-splývání infikovaných buněk díky glykoproteinům virů

2. Necytocidní infekce

rovnovážná perzistentní virová infekce – nukleová kyselina se množí pomalu a nezávisle a příliš nenarušuje metabolismus buňky

-zarděnky –infekce plodu

-CMV-infekce ledvin

-EBV-infekce B lym

-viry oparu- infekce buněk nervových ganglií

3. Integrace

-virová a buněčná DNA jsou integrovány a množí se společně (dependoviry, polyomaviry, hepadnaviry,retroviry

-*transformace*- změna buňky s integrovanou virovou DNA

Virová karcinogeneze

Onkogeny – odpovídají za nádorovou přeměnu buňky

- u RNA virů : onkogeny buněčného původu
- transformující (retroviry-vir Rousova sarkomu)- aberantní formy buněčných genů, které se za normální situace účastní signalizace během mitosy a kontroly růstu (proto-onkogeny)
- netransformující (retroviry- Moloneyho virus myši leukémie) – během svého množení integrují coby provirus v sousedství buněčného proto-onkogenu a aktivují ho (aktivace bun. proto-onkogenů je možná i chem. karcinogeny nebo mutacemi) → buňka získá určitou růstovou výhodu → během let se může nádorově zvrhnout
- u DNA virů : virového původu (papillomaviry, polyomaviry) → kodují např. nestrukturální protein → T- antigen → transformuje buňku a přinutí ji zahájit dělení

PŘEHLED LIDSKÝCH NÁDOROVÝCH VIRŮ

HBV-Hepadnaviridae **HEPATOCELULÁRNÍ KARCINOM**

EBV,HHV-8-Herpesviridae **BURKITTŮV LYMFOM,NASOFARYNGEÁLNÍ KARCINOM, MORBUS HODGKIN, B-LYMFOMY,KAPOSIHO SARKOM, PRIMÁRNÍ EFUSNÍ LYMFOM, MORBUS CASTLEMAN**

HPS-Papillomaviridae- **KARCINOM CERVIXU A KŮŽE**

HCV- Flaviviridae – **HEPATOCELULÁRNÍ KARCINOM**

HTLV-1-Retroviridae- **T-BUNĚČNÁ LEUKÉMIE DOSPĚLÝCH**

SV 40- Polyomaviridae – **NÁDORY MOZKU, OSTEOSARKOMY, MESOTHELIOMY**

MCV- Poxviridae – **MOLLUSCUM CONTAGIOSUM**

VIRY A MAKROORGANISMUS PRŮBĚH A FORMY VIROVÝCH NÁKAZ

Průběh a výsledek závisí na :

- *patogenitě, resp. virulenci daného viru*
- *dávce*
- *vstupní bráně*
- *stupni vnímavosti či odolnosti infikovaného jedince*

Infekce bezpříznakové-inaparentní

-ztracené buňky nahrazeny pomocí regulačních mechanismů, zabráněno šíření viru a jeho odstranění pomocí obranných mechanismů

-nízký index manifestnosti

-např. enteroviry, adenoviry, arboviry

Manifestní infekce-infekční nemoc

-postiženo více buněk než je možno nahradit, proto projev navenek

-forma klinická

se všemi typickými příznaky

-abortivní

jen s některými charakteristickými příznaky

-subklinická

příznaky jen nespecifické

Infekce lokální

-rýma, bradavice

Infekce systémové

-chřipka, herpetická stomatitida, rotavirový průjem

Infekce generalizované

- spalničky, zarděnky, plané neštovice, příušnice, klíšťová encefalitida

Infekce chronická

-imunitní mechanismy nestačí virus odstranit, infekce je provázena chorobnými příznaky

-hepatitida B

Infekce perzistentní

-v organismu lze prokázat virus, ale nejsou příznaky klinické

-hepatitida B, HIV

Infekce latentní

-běžnými technikami nelze virus prokázat

- cytomegalovirus, virus prostého oparu(→rekurentní onemocnění),virus varicelly (→herpes zoster)

U ***infekce perzistentní a latentní*** mezi virem a hostitelem rovnováha→ porušení→aktivace infekce

Patogeneze virových nákaz

- vznik a vývoj chorobných změn v organismu. U virových nákaz virus vyvolává chorobné změny sám při svém šíření tělem, tak vznikají reakcí organismu na něj

Šíření viru v organismu

Vstupní brány infekce

A. Dýchací trakt

Systémové infekce (pouze dýchací trakt), lokální infekce sliznice nosu → *respirační viry* : *rhinoviry, koronaviry, orthomyxoviry, adenoviry, parainfluenza, RSV, některé enteroviry, reoviry*

Generalizované infekce → *viry exantematických nákaz* : *variola, varicella, morbilli, rubeola, V., VI. nemoc, virus parotitidy, virus lymfocytární choriomeningitidy, virus horečky Lassa, hantaviry*

B. Zažívací trakt

1. Dutina ústní

- *herpes simplex, coxsackie viry*

2. Orofaryng

- *polioviry, adenoviry, EBV*

3. Tenké střevo

- *enteroviry, reoviry, rotaviry, adenoviry, virus hepatitidy B*

4. Rektum

- *HSV 2, virus bradavic, retrovirus HIV-1, virus hepatitidy B*

C. Urogenitální trakt

- *HSV-2, HIV, CMV, papillomaviry*

D. Spojivka

- *adenoviry, HSV-1, virus spalniček, virus newcastelské choroby, virus vakcinie*

E. Pokožka

- *virus bradavic, v. moluscum contagiosum, v. kravských neštovic, HSV, virus dojičských hrbolů*

F. Podkoží

- *virus vztekliny, opičí B virus, arboviry: virus žluté zimnice, klišťové encefalitidy*
- *uměle : vakcíny proti spalničkám, zarděnkám, parotitis*

G. Krev

- *HIV-1, virus hepatitidy B, C*

H. Placenta

- *virus zarděnek, CMV*

Rozsev virů v organismu

I. Přímě z buňky na buňku

HSV-cytoplasmatickými můstky, RSV-syncytia, takto jsou chráněni před protilátkami

II. Sekretem

respirační viry (pod sliznicí jsou unášeny uvnitř fagocytů)

III. Lymfatickými cévami

množení viru ve vstupní bráně → rozsev lymfatickými cestami → množení v regionálních mízních uzlinách → primární virémie → množení v ústředních ložiscích → sekundární virémie (končí období bez příznaků neboli inkubační doba) → množení v cílovém orgánu → event. terminální virémie

poxviry, arboviry, adenoviry, EBV, virus spalniček, virus zarděnek, v. leukémií, HIV

IV. Nervovou soustavou

- a. postupnou infekcí buněk Schwanovy pochvy-virus vztekliny, B virus, polioviry
- b. pasivně tekutinou v prostřících kolem nervových vláken- viry obou druhů oparů

V. Krví

Virus v krvi- Virémie

- a. volně v plazmě – arboviry, enteroviry
- b. sdružené s leukocyty – poxviry, virus spalniček, EBV, CMV

primární virémie → množení v ústředních ložiscích (játra, slezina, kostní dřeň) → sekundární virémie (končí období bez příznaků neboli inkubační doba) → množení v cílovém orgánu (CNS, kůže, velké žlázy, svaly-vč. srdečního → event. terminální virémie

VYLUČOVÁNÍ VIRU Z HOSTITELE

-častěji než volné viriony se z těla vylučují rozpadající nakažené buňky

Sekrety respiračního traktu a slinou :

Respirační viry, viry exantematických nákaz, enteroviry, EBV, HSV, CMV, viry parotitický a rabický

Stolicí :

Enteroviry, hepatoviry(A), rotaviry, kaliciviry, reoviry, adenoviry, koronaviry, parvoviry, astroviry

Z pokožky :

Viry bradavic, molluscum contagiosum, kravských neštovic, viry varioly, vakcinie, prostého oparu, varicelly-zosteru

Přítomnost viru v moči (virurie) :

Příušnice, spalničky, zarděnky, generalizované nákazy, CMV, polyomaviry, hemorhagické horečky Lassa, Ebola, marburská choroba, hemorhagická horečka s ledvinným sy

Krví :

Viry hepatitis, arboviry, HIV

Pohlavním stykem :

VHS 2,1, viry bradavic, VHB, CMV, marburská choroba

OBRANA HOSTITELE PROTI VIROVÉ INFEKCI

Nespecifická rezistence :

1. Na buněčné úrovni :

- a. buněčná nevnímavost- buňka nemá receptory
- b. nepermissivita- buňka není schopna translace virových mRNA, případně jiného pochodu virové syntézy nebo dozrávání

2. Na úrovni makroorganismu

- a. kůže
- b. sliznice – respirační : inhibitory v hlenu, stálý pohyb řasinek
žaludeční : žaludeční šťáva
střevní : žluč
- c. makrofágy : I. viry se v nich nemnoží nebo aspoň se neuvolňují do okolí

II. viry se v nich množí → zabijeny NK(natural killers)-velké granulární lymfocyty za pomoci interleukinu 1 a 2 a interferonu
(LAK-lymphokine activated killers- NK aktivované IL1,2 a IF)

3. Humorální faktory

a. IL 1

b. Komplement

c. Virové inhibitory – v séru(vadí při sérologických reakcích-imitují přítomnost protilátek), tkáň. moku, hlenu na sliznicích

- neutralizují infekčnost
- povahou odpovídají receptorům vnímavých buněk
- termostabilní proteiny** – inhibitory poliovirů
- mukoproteiny**-chřipkové inhibitory alfa a gama
- lipidy**-inhibitory arbovirů
- termolabilní proteiny**-chřipkové beta-inhibitory

d. Interferon

- buněčný produkt interferující s množением viru
- glykoproteiny
- induktorem : virus i inaktivovaný, dvouvláknitá RNA viru, endotoxin
- nesmírně účinný- ochrání buňku i 1 molekula IF
- IF se naváže na buněčný povrch → mění jej →indukuje tvorbu neaktivní antivirové bílkoviny → po setkání s virem aktivace →brzdí translaci virových mRNA
- **IF alfa** – z leu, **IF beta** – z fibroblastů, **IF gama** – z lym
- nejdůležitější faktor omezující šíření viru
- potencuje NK
- reguluje imunitní odpovědi
- potlačuje dělení nádorových buněk

e. Zvýšená teplota

- vznik přeladěním termoregulačního centra v hypothalamu účinkem IL1 a dalších endogenních pyrogenů
- inaktivuje volné viriony v krvi a ve tkáních
- brzdí replikaci vir. NK
- Rhinoviry : velmi citlivé na zvýš. t
- Ostatní viry se přestanou množit při t nad 39,5 C

f. Zánět

- inf. buňky →leu, makrofágy → kys. mléčná →zvýší se tenze CO₂ →sníží se pH →nemnoží se viry
- z poškoz. buněk →uvolnění IL1 → zvýší se tělesná teplota →inhibuje virové enzymy
- při vyšší teplotě →poruchy lysosomů v napadených buňkách →uvolněné lysosomální enzymy obsahují ribonukleasu →ta napadá virové RNA a brání množení viru
- při zánětu i prvky specif. imunity : lym, plazmocyty

Specifická imunita

A. Protilátková imunita

- protilátky proti a.) **virovým Ag**-povrchovým, vnitřním i nestrukturálním Ag
- váže se na infekční virion, z této vazby lze uvolnit

- vazba protilátky vede k neutralizaci infekčnosti viru → zabrání přilnutí virionu k receptorům, interferuje s jeho průnikem do buňky, svlékání pohlceného virionu se včas nezastaví a lysosomální enzymy zasáhnou i vir. NK
-protilátky proti **b.)Ag** objevujícím se během množení viru **na povrchu**

infikované buňky

- umožňují imunní lýzu účinkem komplementu nebo NK

Imunitní reakce

-až po několikerém pomnožení viru

-nejdříve IgM, pak IgA, IgG

-a.) IgM-velká molekula-obtížně pronikají do tkání, ale s viriony vytváří stabilní komplexy a dobře váží komplement, vytváří se jen v průběhu infekce a do několika týdnů po ní vymizí

-b.) IgG- u general. inf. s virémií(enterovir., arbovir.), kdy v krvi kolují volné viriony, celoživot. ochrana proti reinfekcím

-c.) IgA-chrání proti inf. zač. na sliznici, nebo omezených jen na sliznice(např. resp.viry),ochrana trvá několik roků

Faktory nespec. rezistence

A.) Komplement-lyzuje spolu s Ab virem nakažené buňky, opsonizuje viriony, ničí obalené viry, posilují neutralizaci

B.) Properdin

C.) Kofaktor-termolabil. mikroglobulin zesilující účinek časných protilátek

B. Buněčná protivirová imunita

-důležitější než protilátky

-antigenně změněné buňky → na povrchu virové antigeny → imunní lym → zničení infik. buňky

-Ag předkládány Th lym → při aktivaci se uvolní lymfokiny (např. INF gama)

→a.) působí na další lym

b.) přitahují a aktivují makrofágy

-vir. Ag rozpoznány I.) Tc(CD8+) v souvislosti s Ag MHC I. tř. na povrchu virem nakažených buněk a s Ag MHC II. tř. na povrchu makrofágů, resp. buněk předkládajících Ag

II.) LAK – lymfokinově aktiv. Buňky

→ pomocí perforinů a granzymů → zničí inf. buňky

Vliv některých fa na obranu proti virovým nákazám

1.) hormony – glukokortikoidy → “minus“ brzdí imunitní odpověď, zpevňují membrány lysosomů, tlumí tvorbu INF

→ “plus“ – antiproliferativní, antiedematosní

2.) podvýživa-atrofie lymfat. sy

3.) věk –rané dětství-nezralost tvorby Ab, neschopnost tvorby INF, nepřítomnost inhibitorů, neschopnost makrofágů zabránit množení

4.) imunosuprese-závažné potlačení celulární imunity → generaliz. opar, vakcinie, cytomegalii

Únik nástrojům nespecif. (vrozené) rezistence

1.) Buňky NK-zasahují v časných fázích inf., ničí inf. buňky, normál. buněk si nevšimají díky přítomnosti molekuly MHC I. tř. přítomné na povrchu

př. CMV → koduje protein UL 18 → ten se váže na jeden lektinový receptor na povrchu buněk NK → signál inhibující zabíječskou fci

2.) Cytokiny –

např. a.) EBV → tvoří IL-10 → potlačuje činnost makrofágů

b.) adenoviry → antagonizují účinek TNF

c.) herpesviry, poxviry → produkují cytokinové receptory, které se vážou na TNF a IL-1

d.) spalničky → váží se na protein CD 46 na povrchu monocytů → brzdí tvorbu IL-12

3.) Apoptosa-řízená buněčná smrt nakažené buňky

např. pox viry → tvoří protein crmA → inhibuje buněčné kaspasy a další enzymy účastníci se apoptosy

herpesvirus 8, virus molluscum contagiosum

Únik nástrojům specifické (získané) imunity

1.) vyhnout se imun. Lym → rychlé pomnožení (během několika dní)

koronaviry, rhinoviry, rotaviry, astroviry, kaliciviry

2.) antigenní proměnlivost I. - drift (chřipka-povrchové sezonní antigenní změny H a N, enteroviry, rhinoviry) -

- HIV-antigenně se mění i během života inf. jedince

2.) antigenní shift – antigenní složení povrchových struktur se změní

zásadně

3.) zásah do pochodu prezentace Ag

a.) potlačení transkripce genů MHC I. tř.

b.) interference s proteolýzou (EBV)

c.) potlačení Tc lym (HIV)

d.) inhibice buněčné bílk. TAP (transport antigen. peptidů do endoplasm. retikula) (HSV1,2, CMV)

e.) zadrží správně sestavené komplexy MHC I. tř. v endoplasm. retikulu (adenoviry, CMV)

f.) rozpad MHC I. tř. (CMV)

g.) internalizace molekul MHC I. tř. z povrchu zpět do cytoplasmy (HIV)

h.) zabránění přesunu MHC II. tř. na povrch buňky-makrofágu (EBV)

i.) negativ. ovlivňuje expresi molekul MHC II. tř. (CMV)

j.) ovlivnění enzymu odpovědného za okyselení endosomů a lysosomů → ochrání Ag před proteolýzou → zabrání prezentaci jejich fragmentů (papillomaviru)

- → ukryvání viru uvnitř infik. buněk, navození tolerance, potlačení imunity → vznik latentních a persistentních inf. (HSV, VZV, CMV, HIV, spalničk)

Poškození způsobená vlivem viru

a.) místní příznaky : I.) poškození buněk ve vstupní bráně

II.) cílových orgánech – v. žluté zimnice- poškození buněk jater a

ledvin, VHB- buňky jater

b.) celkové příznaky : masivní pomnožení viru v orgánech → endoteliích → zvýšená permeabilita → šok (smrt)

horečka : IL-1 z makrofágů, monocytů → pyrogen

nespecif. obranné pochody potlačeny u vir. inf. dých. cest → bakteriál. komplikace u chřipky
spec.celulár. imunitu → potlačuje HIV (napadá Th)

Poškození vyvolaná reakcí

Zánět CNS → edém, perivaskulár. buněč. infiltrace → porucha funkce neuronů

Imunokomplexy – endotelie kapilár (kožní- vyrážka)

- svaly, klouby (myalgie, arthralgie)
- imunitní reakce → zničení poškoz. buněk → VHB-játra → akutní poškození jater

Autoimunitní procesy

-poškození bílé hmoty u postinfekčních encefalomyelitid-spalničky, varicella

-postvaccinační encefalomyelitidy-po očkování proti varirole, vzteklině

Prevence, profylaxe a terapie vir. nákaz

a.) Aktivní imunizace (očkování)

I.) Živé vakcíny

poliomyelitis-OPV, spalničky, příušnice, zarděnky, žlutá zimnice, varicella, klíšť. encefalitis), vzteklina-lišky, dřívě vakcinie

II.) Inaktivované vakcíny

I.) z celých virionů usmrcených formalinem-celovirionové vakcíny

II.) z izolovaných neinfekčních virových podjednotek (subjednotkové vakcíny nebo též chemovakcíny)

chřipka, hepatitis A-čištěné povrchové Ag, klíšť. encefalitida (celovirionová inaktivovaná nebo subjednotková), vzteklina, poliomyelitis-IPV, příušnice-zahraničí, japonská encefalitida B, zoster

III.) Rekombinantní vakcíny neboli chemovakcíny

-příprava genet. metodami

-např. do kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* vložen gen pro tvorbu příslušného protekčního antigenu

-hepatitis B

b.) Pasivní imunizace (podávání imunoglobulinů)

-výhoda : okamžitý nástup účinku

-nevýhoda : účinek úzce zaměřený, krátkodobý

-uplatnění přímého neutralizačního účinku protilátky na virus

-lidské imunoglobuliny

-v praxi : **zvířecí antirabické sérum, lidský normální gamaglobulin-hepatitis A, humánní**

intravenosní gamaglobulin-meningoencefalitidy, pneumonie, specifický lidský

imunoglobulin HbsAg-profylaxe hepatitidy B, specifické lidské gamaglobuliny- k profylaxi a

terapii varicelly, zosteru, CMV, klíšťové encefalitidy, lyssy, rekonvalescentní plazma- Lassa,

Ebola, marburská choroba

c.) Nespecifické posilování odolnosti

I.) **INF** – prakticky neantigenní

- účinkuje okamžitě

- široké spektrum

- nevýhoda : horečka

INF alfa – hepatitis C, B, condylomata accuminata, Kaposiho sarkom, leukemi z vlastých bb,

INF beta – remitující mnohočetná sklerosa, basaliom

INT gamma – chron. granulom. Choroba, na ledvin, leishmaniosa

2.) Induktory interferonu

dvouvláknitá RNA-preparát z fága f2 *E. coli* → herpes na kůži, slizni

3.) Imunomodulátory

Levamisol, Metisoprinol

4.) Přenosový fa

extrakt z lidských nebo prasečích lym

c. Antivirová chemoterapeutika (antivirotika)

-obtížná → metabolické procesy virového množení jsou těsně spjaty s buněčnými

-nejvýhodnější → zaměřit se na inhibitory syntesy nebo funkce replikativních forem vir. NK

VIRY A PROSTŘEDÍ

Rezistence virů k zevnímu prostředí

-citlivější než bakterie

-inaktivuje je sluneční záření, běžná teplota, vyschnutí

-citlivější obalené (orthomyxoviry, paramyxoviry, herpesviry, HIV), pokud, ale chráněny přítomností bílk., vydrží déle např. virus vztekliny ve zvířecích mrtvolách, VZV v respir. sekretu, VHB v zaschlé krvi

-rezistentní viry : enteroviry, rotaviry, VHA (snášejí průchod zaživ. traktem, přežívají týdny v odpadních vodách), adenoviry (bazeny, koupaliště), rhinoviry, virus kulhavky, slintavky, poxviry, viry bradavic

Koloběh v přírodě :

A.) Způsob přenosu :

a.) přímý dotyk (viry bradavic, virus molluscum contagiosum, VHS)

b.) pohl. styk (VHB, VHS, HIV, CMV)

c.) resp. cesta (resp. a exantem. viry, CMV)

d.) fekálně-orální cesta (enteroviry, VHA, kaliciviry, astroviry, rotaviry)

e.) bodnutí (arboviry)

B.) Úspěch přenosu :

a.) doba po níž se virus vylučuje (perzistentní nákazy → vylučuje se vir nepřetržitě např. cytomegalie, kongen. zarděnky, adenovirozy nebo latentní nákazy → virus se vylučuje jen při aktivaci (HSV, VZV, HIV)

b.) množství vylučovaných virionů

c.) rezistence k zevnímu prostředí (enteroviry)

d.) velikost inf. dávky

e.) počet vnímavých jedinců a těsnost jejich vzájemného styku

f.) vzniklá imunita - např. u parainf. krátká → viry se v populaci udrží snáze

g.) antigen. změny (drift, shift - chřipka)

h.) kongenitální přenos

i.) ještě jiný hostitel - vzteklina (liška, pes), arboviry (obratlovci, členovci)

Změny ovlivňující koloběh virů

Adaptace - přizpůsobení → rovnováha vedoucí k přežití druhu

Přirozený výběr → přežití jen rezistentnějších, méně virulentních forem (virulentní by vyhubili dostupné hostitele, zanikl by dříve, než by byla další generace vnímavých jedinců)
Přízpůsobení hostiteli př. herpesviry, enteroviry, nádorové viry

Eradikace :

Možno choroby, které a.) jsou generalizované inf způsob. jedním nebo několika málo neměnnými typy

b.) člověk je jediný hostitel

c.) inf. neprobíhá latentně

př. variola, poliomyelitis anterior acuta, spalničky

RNA VIRY

Neobalené, dsRNA-dvouřetězcová, segmentovaná

Čeľad' : a. Reoviridae

b. Birnaviridae

Čeľad' Reoviridae

Rody : a. Orthoreovirus

b. Orbivirus

c. Coltivirus

d. Rotavirus

-velikost : 60-80 nm

-kapsida : dvojitá až trojitá o kubické symetrii (ikosaedrální)

-množí se v cytoplasmě, segmenty jejich genomu se snadno rekombinují

Rod Orthoreovirus

r- respirační e-enterální o-orphans, sirotci-bez nemoci

- z dřene 12 výčnělků uspořádaných na základě kubické symetrie
- 3 antigen. typy (1-3) → společný komplementfixační Ag
- jeden z povrchových proteinů, odpovídající za vazbu na buněč. receptory → hemagglutinin (shlukuje ery sk. O)
- stabilní ve vlhku → výskyt odpadní vody, řeky, rybníky
- dají se pěstovat na TK (nejlépe lidské) → CPE
- v buňkách → typ. cytoplazmat. inkluze
- patogenní pro novorozená myšata
- v dětství, inaparentní, vzácně mírné horečnaté onemocnění. HCD, zaž. traktu
- laborat. průkaz : ze stolice, z materiálu postiž. tkání na TK (MK), (sající myšata)
- odlišit od enterovirů → přítomnost MgCl₂ → nezvyšuje termostabilitu reovirů
- aglutinace lidských ery
- Ab : ELISA
-

Rod Orbiviru

-název podle vzhledu kapsomer připomínajících cukroví zvané věnečky (orbis=kruh)

- infikují členovce, patří mezi arboviry
- izolace z klíšťat *Ixodes ricinus* orbiviry sk. Kemerovo-virus Tribeč, Lipovník, Koliba

- množí se na TK, patog. pro sající myšata
- u čl. lehká horečnatá onemocnění, vyj. meningoencefalitidy

Rod Coltivirus

- zkratka od Colorado tick fever – koloradská klíšťová horečka
- inf. → týdny trvající virémie, virus v ery
- u nás : z klíšťat virus Eyač
- onemocnění: meningoencefalitis, polyneuritida ?????

Rod Rotavirus

-název : rota=kolo → kulatý tvar virionů, v el. mikrosk. připomínají ozubená kolečka v budíku

-velikost : 75 nm, trojitá kapsida o kubické symetrii

-z povrchu virionu → pravidelně uspoř. výběžky s rozšířeným koncem(to jsou dimery vir. hemaglutininu)

-ve stolici často inkompletní částice(zbavené vnější vrstvy kapsidy)

-genom : ds RNA → 11 segmentů → každý koduje aspoň jeden strukturál. nebo nestruktur. protein → VP 4 :ve výběžcích → I.přilnutí viru na spec. receptor, II. virulence, III. tvorba neutral. Ab

→ VP 7 → v zevní vrstvě kapsidy → skupinově a podskup. spec. Ag

→ VP 6 → ve stř. vrstvě kapsidy → podle struktury VP 6: šest sérolog. skupin

AI, AII, B, C, D, E, F (lidské jen v A, B, C)

→ podle antigen. složení proteinu VP4, VP7 : dvacet sérotypů P a G (pro člověka důl.

P1A, P1B, G1-4

-segmentace genomu → genomické přeskládání → výměna segmentů mezi kmeny → nové antigen. typy + šíření zvířecích rota do lidské populace

-rezistence : na tuk. Rozpouštědla

-stabilní při pH 3-10, při pokoj. t žijí i několik dní

-inaktivace : sloučenin Cl, formalin, fenolové deriváty, 95 % alkohol

-množení cytoplasmu, přechodně obal z ER → pak nahrazen zevní vrstvou kapsidy

-kultivace nesešná → pro běžnou dg se nehodí

-patogeneze : vnímavé střevní buňky na vrcholech klků, receptor

betagalaktosidasa → porucha její fce → cukerná složka nerozštěpena → do tlust.

Střeva → disacharidy stěpeny bakteriemi → plyn → rozpínání střeva → porucha resorpce vody → průjem, dehydratace

-uzdravení : náhrada zralých bb. méně diferenc. bb (méně vnímavé), zrychlená střevní peristaltika, IF, IgA, Tc lym

-imunita : typově až skup. specif. imunita, krátkodobá, podmíněna přítomn. IgA (po několika měs. vymizí), opak. Inf. → mírné až inaparentní

-patogenita : sk. A : kojenci, malé děti

dehydratace

část inf. inaparentně i u dětí → ve věku 3let 90% dětí Ab

nosokomiál. Inf.

sk. B : průjmy u dosp. v Asii

sk. C : vzácně

-epidemiologie : ID – 2 dni, virus ve stolici, přenos : f-o, (resp.), max výskytu v zimě

-terapie : rehydratace

-lab. průkaz : přímý průkaz : elektron. mikroskopie, latex. Aglutinace, ELISA, imunochromatogr. met.

Nepřímý : ELISA (1. inf.-IgM, reinfekce-IgA)

RNA VIRY

Neobalené, RNA- jednořetězcová, pozitivní polarity, nesegmentované

Čeleď : a. Picornaviridae

b. Caliciviridae

c. Astroviridae

a. Picornaviridae

-nejmenší RNA – viry

-ikosaedrální symetrie kapsidy- přibližně kulovitá kapsida – sestavena z 60 identických podjednotek (protomer), sdružených do 12 pětic

-v každé podjednotce- 4 virové proteiny (VP1-VP4), mezi proteiny- štěrbina(kaňon)-vazné místo pro receptor na povrchu vnímavé buňky

-syntesa a dozrávání v cytoplasmě

-rezistentní k éteru a vůči vlivům prostředí

- 9 rodů

-

1. Rod Enterovirus

-název podle schopnosti množit se ve střevě

-značně odolné vůči vlivům prostředí-až několik týdnů

-nemají obal → odolné vůči účinku dezinfekčních látek na bázi alkoholu, fenolu, detergentů

-ničí je spolehlivě aldehydy a oxidační činidla

-typická přítomnost dvojmocných kationtů $MgCl_2$ → chrání je proti tepelné inaktivaci(30 minut při 50 C) → užívá se k jejich určování

-stabilní v kyselém prostředí (pH 3-5) → odolávají vlivu žaludeční šťávy → na rozdíl od rhinovirů a aftovirů

-podle antigenní struktury a přirozené a experimentální patogenity se dělí na :

polioviry (3 sérotypy) → patogenní pro TK a opice

coxsackieviry(30 sérotypů) → patogenní pro sající myšata a TK

echoviry (přes 30 sérotypů) → patogenní pro TK

enterovirus 68-71

POLIOVIRY

-největší neurovirulence z lidských enterovirů
-způsobují dětskou obrnu-poliomyelitis
-podle antigenního složení povrchových proteinů kapsidy(hlavně VP1) _ 3 typy
-2 typově specifické antigeny :a. **N-antigen**(nativní)-kompletní infekční virion
→tvorba neutralizačních, komplementfixačních, precipitačních protilátek

b. **H-antigen**(heated-zahřátý)- prázdná kapsida→nevyvolává tvorbu neutralizačních protilátek

-**Kultivace** : heteroploidní linie **RD**-odvozené z lidského rhabdomyosarkomu,
heteroploidní linie **HEP-2**-odvozené z epidermoidního karcinomu,
transgenní myší heteroploidní linie **L20B**,neboť buňky L20 B exprimují gen pro
specifické receptory povrchu lidských buněk pro poliovirus(vnímavé jen vůči
polioviru)

LEP, MK-2

typický cytopatický efekt : infikované buňky ztrácejí výběžky, zakulacují se, lámou světlo a nakonec odpadají od stěny zkumavky, pH média se zvyšuje

-**Patogeneze infekce** : vstup – zažívací trakt
množí se v buňkách sliznice, v lymfoidní tkáni střeva (Peyerovy plaky),orofaryngu (tonzily)→virémie→množení v lymf. uzlinách
CNS(motorické buňky předních rohů míšních)→krevní cestou,nervovou(z perif. nervových ganglií)

-**Patogenita** : **90-95 % inaparentně** (jen pomnožení ve střevě)

4-8 % abortivně (neurčité hořčnaté onemocnění nebo asept. neparalytická meningitida

1-2% paralytická forma-chabé obrny-nejčastěji dolní končetiny
dispozice ovlivňuje věk(častěji mladší), poranění(tonsilektomie)
, námaha v inkub. době, gravidita

vzácně desítky let po paralyt. formě **progresivní postpoliomyelitická svalová atrofie**(degenerativní změny zbytnělého přetíženého nervovėsvalového aparátu)

-**Zdroj** : - pouze člověk, i inaparentně inf.

- vylučování viru nosohltanovým sekretem – několik dní na začátku inf.
- - II - stolicí – během celého onemocnění, i v rekonvalescenci

-**Terapie** : neexistuje , jen potlačení svalových spasmů

-**Laboratorní průkaz** :

Přímý :TK –stolice, výplach, výtěr z nosohltanu, krev, likvor
Identifikace neutralizačním testem pomocí antisér

Nepřímý : VNT, ELISA

COXSACKIEVIRY

- název podle městečka Coxsackie ve Státě New York, kde byly poprvé izolovány
- liší se od ostatních enterovirů patogenitou pro novorozená myšata
- podle histolog. nálezu u uhynulých myšat :
 - a.) A –u myšat rozsáhlá poškození kosterního svalstva
 - b.) B-játra, CNS, pankreas
- neutralizačním a komplementfixačním testem se rozliší A1-22,A24 a B 1-6 (A 23= ECHO9)
- B a některé A → kultivace na TK, některé typy aglutinace ery
- buněčný receptor pro cox je shodný s receptorem pro adenoviry
- často inaparetní, různá klin. onemocn
 - postižení CNS-aseptické meningitidy* (všechny sérotypy)
 - exantémy – herpangína* (hlavně A)
 - respirační inf. – infekce HCD* (všechny typy)
 - postižení svalů – pleurodynie-bornholmská nemoc*(B)
 - *myokarditidy*(B)
 - lymfadenitidy*(všechny typy)
 - postižení Langerh. ostrůvků →DM* (B)
- vylučování stolicí, v akut. fázi i sekretem z nosohltanu
- zdroj děti, max výskytu v létě
- přenos :fekálně orální cestou, vektor nákazy voda
- dg : TK , identifikace,sérologie

ECHO VIRY

- *e-enterální*
- *c-cytopatogenní*
- *h-humánní*
- *o-orphans*-sirotci-viry bez nemoci-pův. izolace od zdravých lidí
- 30 sérotypů : 1-9, 11-27, 29-33
(10-reovirus, 28-rhinovirus,34-coxsackievirus A24)
- některé jsou antigenně příbuzné→dá se prokázat zvláště KFR
- 1/3 aglutinuje ery sk. O
- TK →CPE
- izolace i ze stolice a nosohltanu zdravých lidí

- klinické projevy : aseptické meningoencefalitidy, lehké exantematické , resp a střevní onemocnění, necharakt. horečnaté stavy
- zdroj člověk, hlavně děti, přenos vodou, nejč. koncem léta
- dg : jako cox

ENTEROVIRUS 68

- izolace od nem. s pneumonií a bronchiolitidou

ENTEROVIRUS 69

- izolace od zdravého jedince

ENTEROVIRUS 70

- izolace od nemocného s akutní hemorh. konjunktivitou

ENTEROVIRUS 71

- pův. paralyt. onem., asept. meningitidy, vyrážky, plicní edém, krvácení

2. Rod Rhinovirus

-specializace na dých. trakt

-přísněji druhově specif., nemnoží se ve střevě, pH < 6 inaktivuje

-při t 24-37 zaschlé v nosním sekretu infekční i několik dní

-mnoho antigen. typů – 1A, 1B, 2-100

-kultivace (z výplachu z nosu): obtížnější než u rhinovirů → lidské diploidní buňky, orgán. kultury lidské

embryonál. trachey → podmínkou je napodobit situaci na nosní sliznici- t 33 C, pH 7-7,2 (snížení c NaHCO₃), pěstování v rolleru- v němž se zkumavky otáčejí → ostrůvky cytopatického efektu jako u enterovirů

-patogeneze : více než ½ případů inf. rýmy , u malých dětí záněty bronchů a plic, sinusitidy, záněty středního ucha

- imunita po infekci typově specifická a krátkodobá

-přenos kapénková infekce, ruce, předměty

-častější v chladném období

3. Rod Hepatovirus -HAV

-27nm, neobalený, kubická symetrie kapsidy, jednovláknitá RNA

-jediný antigenní typ, 4 lidské genotypy, větš. I a III

-termostabilnější (snese 30 min zahřívání na 56 C), acidorezistnější (odolává pH 1), rezistentní k půs. Chloru

-inaktivuje formalin nebo chlor

-TK obtížná, nedělá CPE, virus spjat s buňkou → imunofluorescence

-patogeneze : množení v buňkách střevních krypt, epitelích žaludku, tlustého střeva → portální oběh → množení hepatocyty → žluč, krev → poškození jater

- virémie : krátkodobá

- vylučuje se stolicí, ke konci ID a někdy až měs. po uzdravení

- časté inaparentní a anikterické formy

- končí uzdravením, nepřechází v nosičství, nevyvolává chron. nebo persistní inf.

- během prvních příznaků : protilátky IgM, po nich IgG(ty přetrvávají celý život)

-imunopatolog. podklad postižení hepatocytů

- **ID** – 4 týdny, děti : horečka, průjem, zvracení, dosp.: ikterus

-změněné jater. testy : zvýš. transferasy

-léčba : netučná dieta

-zdroj člověk- přímý styk, nepřímo voda, potraviny

-profylaxe u kontaktů : normál. gamaglobulin

-očkování (vakcína z inaktivovaných kmenů formalinem) : odjezd do ciziny, hasiči, záchranáři, zaměstnanci kanalizací, vychovatelé, narkomani i.v. ,homosex,chron. postižení jater, příjemci srážlivostních faktorů

- **Dg** : ELISA – IgM pro HAV (od prvních příznaků, vymizí za 4 měs)

3. *Rod* **Cardiovirus**

- mezi zvířecí viry
- meningovirus – encefalitida u člověka

4. *Rod* **Aphthovirus**

- virus kulhavy a slintavky, nesnáší kys. prostředí
- přírodně patogenní pro hovězí dobytek a jiné přežvýkavce→nakažlivé hořečnaté onemocnění→ puchýřky na sliznici úst a jazyka, na kůži kolem kopyt
- vyj. přenosné na člověka→ benign. onemocn.→ klin. příznaky jako u postižených zvířat

5. *Rod* **Parechovirus**

-dříve ECHO 22,23 →průjmy, asept. meningitidy

6. *Rod* **Kobuvirus**

-virus Aichi →gastroenteritidy po požití ústřic

Zbývající pikornaviry : **Rod Erbovirus, Rod Teschovirus**→ význam ve veterin. Medicíně

Čeled' Caliciviridae

- jednovláknové RNA viry o pozitivní polaritě vlákna
- virion 27 nm, 32 miskovitých prohlubní na povrchu virionů (calix=pohár, miska)
- kubicky symetrická kapsida tvořena jediným strukturálním proteinem(typ. pro rostl.viry)

1. **Rod Vesivirus** –virus vesikulárního exantému prasat

2. **Rod Lagovirus** – onemocnění zajíců a králíků

3. **Rod Norovirus**

- název od místa Norwalk
- prohlubně špatně patrné
- odolné, snáší i chlor
- akutní gastroenteritidy – 95 % epidemií nebakteriálního původu
- Kaliciviry podobné viru Norwalk – **Norwalk like virus**
- epidemické průjmy
- přenos : voda
- dg test není k dispozici – PCR?

4. **Rod Sapovirus**

- podle místa izolace Sapporo
- zřetelná miskovitá struktura
- děti do 5 let : akutní gastroenteritidy

3. **Čeled' Astroviridae**

- 30 nm, neobalené
- v negat. barvených preparátech vzhled pěti-, šesticípých hvězd (astrum=hvězda)
- odolné vůči extrém. pH, teple, UV-záření, chloru
- lze pěstovat na TK
- průjmy u dětí do 5 let, zvýš. t. , bolest hlavy

1. Rod Mamastrovirus
2. Rod Astrovirus

5. Čeleď bez oficiálního názvu-VHE

- morfologicky podobný kalícivirům, ale rozdíly v enzýmech pro replikaci
- 3 genotypy : I Afrika, Asie
II,III Severní Amerika
- často inaparentní, náhle propuká, větš. mírná
- fulminantní průběh u těhotných → potrat, postižení jater, mozku, ledvin
- podobné příznaky a epid. jako u hepatitidy A
- přenos fekálně orální cestou, nejč. vodou
- postihuje mladší dospělé
- průkaz protilátky IgM anti-HEV, RNA pomocí RT-PCR

OBALENÉ RNA – VIRY

Obalené ssRNA-viry pozitivní polarity, nesegmentované, ikosaedrické symetrie

-jedno RNA vlákno, kladná polarita, symetrická kapsida

1. Čeleď *Togaviridae*
2. Čeleď *Flaviviridae*

1. Čeleď *Togaviridae*

-60-70 nm

-kapsida – ikosaedrická symetrie-240 kopií jediného proteinu → na ní naléhá dvouvrstevný obal z buněčných lipidů (toga=plášť)

-z obalu vyčnívají virové glykoproteiny E1 a E2 → reaguje s receptory

-množí se v cytoplasmě, obal získávají pučením přes membránu

-nové viriony během několika hodin → infik. buňka hyní → zastaví se syntéza buněčných bílkovin

-v buňkách členovců → inf. persistuje

-citlivé k zahřívání, nízkému pH, éteru, tukovým rozpouštědly, detergentům

-vnitřní antigen → nukleoprotein-KFR, IF, ELISA

-antigen v obalu → hemaglutinin-HIT, glykoprotein E2-neutralizace

1. Rod *Alfavirus*

-arboviry- viry přenášené členovci → v nich se virus pomnožuje

-v přír. ohniscích → putují mezi teplokrevnými obratlovci → inaparentní inf.

s virémií → během virémie se infikují členovci (komáři, klíšťata) → člověk nebývá přiroz.

článkem koloběhu, když je ale v přírod. ohnisku nákazy, může ho členovec nakazit

-**A. původci encefalitid** → viry amerických koňských encefalitid-západní, východní, venezuelské

-**B. původci polyartritid** → afroasijský virus chikungunya, východoafř. O'nyongyong, australský virus Ross River, egyptský virus Sindbis

-patogeneze : pomnožení viru v bráně vstupu → lymfat. transport do oblastních mízních

uzlin → množení viru v nich → rozsev krví → PRIMÁRNÍ VIRÉMIE → pomnožení ve vnitřních orgánech → SEKUNDÁRNÍ VIRÉMIE → napadení cílového orgánu

-dvoufázovost infekcí : fáze nespecifických příznaků → virémie → remise → typické klin.

onemocn. s postižením cílového orgánu

-infekce : většinou inaparentně

pokud se klinicky projeví jen celkové nespecif. příznaky

typické klin. projevy nebývají časté → virus Ťahyňa (chřipk. příznaky)
 → dengue (chřipka + exantém)
 → B. původci polyartritid- viz výše (postižení kloubů)
 → žlutá zimnice (postižení jater)
 → A. původci encefalitid- viz výše (postižení CNS)
 → hemorhag. forma dengue, nemoc kyasanurského hvozdu, omská hemorhagická horečka → hemorhag. horečka

2. Rod Rubivirus

-virus zarděnek- rubeoly (lat. ruber=červený)
 -jediný hostitel – člověk
 -halo mezi kapsidou a obalem
 -jediný antigenní typ
 -množení na TK : bez CPE → důkaz pomocí ECHO 11-INTERFERENCE → pokud se nepomnoží → TK infikována virem zarděnek
 -aglutinace ery kuřecích
 -patogeneze : vstupní brána nosohltan, i místo vylučování (týden před erupcí vyrážky a týden po)
 -ID : 16-18 dní
 -virémie – týden+ virurie → mizí s erupcí vyrážky
 -imunita doživotní
 -kongenitální infekce : gravidita (I. trimestr) → virémie → placenta → plod (generaliz. inf.) → smrt nebo persistentní (poruší se diferenciací orgánů → malformace → postižení srdce, oka, ucha mikroencefalopatie, zpomalení somatického a psychického vývoje=Creggův sy)
 -patogeneze : u dětí a dospělých → inaparentně nebo mírné onemocnění s makulopapulozní vyrážkou, teplotou a zduřením lymfatických uzlin, zvláště za ušima, častá kompl. postižení kloubů, vzácná postinfekční encefalopatie
 -přenos přímým stykem
 -onemocn. v těh. (I. trimestr) → indikací k potratu
 -očkování + spalničky, příušnice
 -dg: přímý průkaz ze stolice, nosohltanu → TK-rutině ne → odlišit od enterovirů (podobné vyrážky)
 nepřímý: KFR Ab (od erupce až rok-dynamika jako IgM)
 HIT Ab, VNT Ab, ELISA - IgG (později, ale přetrvávají celý život)
 (nízkoavidní IgG (6 tý po začátku vyrážky), od 13 tý vysoká avidita)
 důležité v těh., kongenitální inf.

2. Čeleď Flaviviridae

-název od žluté zimnice=lat. febris flava(žlutý)
 -velikost: 40-60 nm
 -povrch : hladký s nepatrnými výběžky
 -vznik : translací → jediný polyprotein štěpen vir. a buněč. proteasami na složky virionu a na nestruktur. proteiny, v buňce se zmnožují nitrobuněčné membrány → viriony dozrávají do cytoplasmat. vezikul

1. Rod Flavivirus

2. Rod Pestivirus

liší se antigenními a biologickými vlastnostmi

3. Rod Hepacivirus

1. Rod Flavivirus

-výskyt po celém světě

-přenášejí je komáři, někdy nepotřebují členovce a přenáší se mezi hlodavci nebo netopýry (např. mexický virus Rio Bravo)

-strukturální proteiny : bazický protein C → tvoří nukleokapsidu

dva obalové proteiny E a M → E → váže se na buněčné R, působí jako hemaglutinin, hlavní cíl neutral. Ab
M(membránový) → na zralých extracelulárních virionech

-nestrukturální proteiny : polymerasa RNA

helikasa

glykoprotein NS1

-citlivost vůči nízkému pH, žluči, proteolytickým a lipolytickým enzymům

-citlivost vůči dezinf. prostředkům

-dlouho infekční v aerosolu

-izolace : mladá myš (očkováná intracerebrálně), sajičí myšata, kuřecí zárodek (žloutkový vak), TK-CPE-linie prasečích ledvin

A. Komplex virů klíšťové encefalitidy

-přenos klíšťaty

a. virus klíšťové encefalitidy

I. evropský-virus evropské klíšťové encefalitidy

-patří mezi arboviry

-před inaktivací chrání prostředí s bílkovin. látkami

-aglutinuje husí krvinky

-kultivace : TK – kuřecí embryonál. bb, lidské embryonál. fibroblasty, bb. prasečích ledvin → nepůsobí zřetelný CPE → velké množství interferonu

-přír. ohnisko → virus koluje mezi obratlovci, hmyzozřavci → přenos klíšťaty druhu *Ixodes ricinus* (infikace potomstva transovariálně) → inf. člověka, koz (→ mléko)

-výskyt : pozdní jaro-podzim, podporuje zvýš. relativ. vlhkost vzduchu

-onemocnění : ID 6-14 dní, dvoufázově, I. chřipka, remise, II. meningitida, encefalitida

-imunizace : inaktivovaná očkovací látka (příprava na TK)

pasivně-specif. Ig

-průkaz : přímý : myši-kmen se určí neutralizací na myších, PCR

nepřímý: KFR, HIT, ELISA

II. dálněvýchodní-virus ruské jaro-letní encefalitidy

-rozdíl v antigenní stavbě proteinu E, jiný vektor- *Ixodes persulcatus*, těžší klin. průběh- obrny, smrtnost 20%

b. virus louping il

-výskyt : VB

-koluje mezi ovce

-onemocnění u člověka bng onemocnění CNS

c. virus Langat

d. virus Powasan

-výskyt : Sev. Amerika, Dálný východ

-encefalitida

e. virus nemoci kyasanurského hvozdu

-výskyt : Indie

-hemorrhagická horečka + meningoencefalitida

f. omské hemorrhagické horečky

-výskyt : západní Sibiř

B. Virus žluté zimnice

- podle sekvenace genu pro E- protein (důležitý faktor virulence) tři genotypy :
 - a. IA-západoafrický
 - b. IB-jihoamerický
 - c. II-východoafrický

-kultivace : sající myšata, komáři očkovaní do hrudi, TK- Vero

-onemocnění : encefalitis, játra-ikterus, hemorrhagie → postižení ledvin (sekundárně)

-epidemiologie : 1. městská forma - koluje jen mezi lidmi, přenáší ho komár *Aedes* (Západní Afrika)

2. džunglová forma - přírodní ohniska → virus koluje mezi opicemi → přenos moskyty rodu *Haemagogus* (Afrika, Jižní Amerika)

-prevence : vakcína (příprava na kuřecích embryích → atenuovaný kmen), K.I.-těhot.

-průkaz : izolace viru z krve na sajících myšatech

C. Komplex virů japonské encefalitidy

a. virus japonské encefalitidy

-výskyt : JV Asie

-přenos komáry rodu *Culex*

-horší průběh děti, starší lidi

b. virus encefalitidy Údolí Murray

-výskyt : Austrálie

-přenos komáry rodu *Culex* mezi vodními ptáky, králíky, klokany

-trvalé následky

c. virus saintlouiské encefalitidy

-výskyt : USA

-přenos : komár pisklavý *Culex pipiens*

d. virus západonilské horečky

-výskyt : Evropa, Střední Východ, Sev. Amerika

-izolace : přímý průkaz : TK, kuřecí zárodek, myši
PCR

: nepřímý : IgM v krvi a moku

-onemocnění : inaparentně, část nespecif. horečnaté onemocnění, příp. s vyrážkou
jen u < 1 % meningoencefalitida (svalová slabost až obrny)

D. Viry horečky dengue

-výskyt : JV Asie, Stř. a Již. Amerika

-4 antigen. typy

-přenos : mezi lidmi → komár *Aedes aegypti*, *albopictus*

-onemocnění : a.-větš. bng + makulopapulosní vyrážka

b.- těžší případy : t- > 39 °C, bolesti za očima, v zádech, výrazný exantém

c.- hemorrhagická horečka dengue : petechie, krvácení, sníž. tro, zvýš. hematokritu, někdy až hemorrhag. šok

-patogeneze hemorrhag. horečky : - při nakažení dítěte dalším typem viru dengue

-jev : imunitní zvýš. množení viru → heterolog. Ab z předchozí infekce se naváže na nový typ viru a vzniklý komplex je pohlcen makrofágy → makrofágy uvolní vasoaktivní působky → zvýšená permeabilita cévní

-laboratorní dg : přímý průkaz : izolace : z krevního séra → myšata, TK, PCR

: nepřímý : KFR, HIT, NT, ELISA

2. Rod Pestivirus

-významné ve veterině : virus moru prasat

3. Rod Hepacivirus (HCV)

-obsahuje jediný gen kódující polyprotein, jenž je štěpen na jednotlivé strukturální a nestrukt. proteiny

-heterogenita : 7 genotypů, 20 subtypů

1a, 1b, 2, 3 - v celém světě

4 - střední východ

5 - Jižní Afrika

6 - Hongkong

-HCV podléhá mutacím → v infikovaném jedinci koluje směs odlišných virů

-strukturální proteiny : dřevný protein nukleokapsidy

dva obalové proteiny E1 a E2 → uplatňují se v neutralizaci viru Ab

E2 - v oblasti kodující tento protein → 2 hypervariabilní oblasti → pod

tlakem Ab mutují → únik před neutralizací a usnadňuje persistenci

-nestructurální proteiny : zapotřebí k replikaci viru : virová proteasa, helikasa, RNA-závislá RNA polymerasa

-kultivace : šimpanzi ?

-patogeneze : množení : hepatocyty + B lym

RNA-závislá RNA polymerasa → nedovede korigovat chyby při replikaci →

následek : vznik kvázispecies v inf. org. → znesnadňuje imunit. sy se vypořádat s vir.

inf. → proto sklon přecházet do chronicity a persistovat

-postižení jater : vznik : a. tvorba prozánětlivých cytokinů

b. autoimunit. pochody

-onemocnění : větš. inf. → bez příznaků, ale pouze 1/5 je schopna zlikvidovat inf. → schopnost

dána geneticky (souvisí s přítomností HLA II. tř.) → většina infikovaných → chronická infekce

+ virémie + zvýš. jater. enzymy + histolog. známky chron. hepatitidy

15-20% do 20 let jaterní cirhosa

1-5 % hepatocelulární ca

(někdy + kryoglobulinémie, glomerulonefritida, nefromy, porphyria cutanea tarda)

-HIV + HCV → rychlejší průběh

-HAV + HCV → akutní až fulminantní hepatitida

-přenos: krev, matka → dítě, (pohl. styk)

-léčba : pegylovaný INF + ribavirin

(transplantace jater)

-průkaz : IgG - ELISA, Immunoblot → Ab proti jednotl. virovým proteinům

časné fáze infekce : vir. RNA → PCR

úspěch léčby : zjišťovat pomocí ALT

Virus hepatitidy G

-persistentní infekce + virémie

- přenos : krev, pohl. styk

- nález i u zdravých lidí

- asi nevyvolává hepatitidu → náhodný divák ?

- infekce HGV zlepšuje prognosu lidí s HIV

Obalené ssRNA-viry pozitivní polarity, nesegmentované, helikální symetrie

Řád Nidavirales

-genom : jedno dlouhé, celistvé vlákno RNA o + polaritě

-spirální symetrie kapsidy

1. Čeleď Coronaviridae

2. Čeleď Arteriviridae

1. Čeleď Coronaviridae

A. Rod Coronavirus

- velikost : 100-150 nm, obalené, spirální symetrie
- viriony lemovány kuželovitými výběžky(20nm) → tvořeny glykoproteinem S(→váže se na buněčné receptory, indukuje fusi vir. obalu s buněčnou membránou, splývání infik. bb., vyvolává vznik neutral. Ab, buněč. imunity
- u některých koronaviřů → další kratší výběžky → tvoří je glykoprotein HE → vir. hemaglutinace, hemadsorpce
- glykoprotein M → protkává lipidovou dvojvrstvou obalu
- glykoprotein N → v nukleokapsidě, vazba s gl. M → stabilizace nukleokapsidy
- citlivost k éteru, detergentům
- onemocnění : inf. rýma(kmeny blízké viru 229E), kašel + škrábání v krku(kmeny blízké viru OC43), (pneumonie)
- SARS (serious acute respiratory sy)= těžký akutní respirační sy
- genom odlišný od známých lidských koronaviřů
 - do populace se dostal od cibetek(šelmičky)-JV Čína-k infekci lidí došlo při zpracování masa cibetek
 - přenos : kapénkový, kontamin. Předměty
 - výskyt : Čína, Hongkong, Tchaj-wan, Kanada
 - dg . Ab : KFR (229E, OC43)
 - SARS : přímý průkaz : RT-PCR (detekce specif. sekvencí RNA)-do 10 dne onemocn.

TK-Vero

Nepřímý průkaz : nepřímá IF, ELISA (Ab do 14 od zač. inf.)

B. Rod Torovirus

- neobvyklý vzhled nukleokapsidy → ledvinovitý, rohlíčkový
- peplomery kratší
- onemocn. : děti : gastroenteritida + krev ve stolici

Obalené ssRNA-viry pozitivní polarity, ikosaedrické symetrie, nesoucí reverzní transkriptasu Čeď Retroviridae

- přítomnost reverzní transkriptasy
- schopnost včleňovat do svého genomu sekvence hostitel. původu coby onkoviry, schopnost ukládat se v zárodečných bb. hostitele jako endogenní provirus, chovat se jako transpozony, schopnost aktivovat nebo potlačovat geny v sousedství integrovaného proviru, schopnost rychle měnit svůj genom, slouží jako laborator. vektory genů
- velikost : 100 nm, kulovité viriony
- zevní obal : lipidy + výběžky
- pod obalem : vnitřní membrána = bílkovinná vrstva + virová dřev = centrální nukleoid (virové enzymy + spirála nukleoproteinu) → dřev odpovídá ikosaedrální kapsidě
→ podle uspořádání zevního obalu, vnitřní membrány, centr. nukleoidu → ČÁSTICE TYPU A AŽ D
- nukleoidy : excentricky-betaretroviry
komolý kužel-lentiviry
- genom : diploidní, 2 lineární vláknité RNA o + polaritě
- 3 nejdůležitější geny : gag, pol, env
- inaktivace: teplo, oxidační činidla, formalin, detergenty, pH < 5 nebo > 9
- odolné vůči UV
- rozdělení : čeď Retroviridae : podčeď Orthoretrovirinae : 1. rod Alpharetrovirus
-viry ptačích leukos a sarkomů

2. rod *Betaretrovirus*

-virus nádoru mléčné žlázy myši

3. rod *Gammaretrovirus*

-viry myši, kočičí leukémie

4. rod *Deltoretrovirus*

- geny *gag, pol, env* + regulační geny *tax, rex*
- a. virus *bovinní leukosy*
- b. lidský T-lymfotropní virus typu I (*HTLV-1*)
 - vztah k mlg onemocnění : T- buněčné leukémie, lymfom
 - virus napadá T- bb. CD4+
 - gen *tax* →replikace viru, vznik leukémie, stimuluje proliferaci lym, hlavní Ag roznávaný Tc, vyvolání exprese buněčných genů, kódujících IL-2, další cytokiny
 - onemocn. : chron. zá onemocnění CNS, kůže, uvei, kloubů, myelopatie, spast. paraparéza
 - patogeneze onemocn. : vysoká virová nálož, neustálá transkripce vir. genomu, tvorba nových virionů, silná buněčná imunit. reakce vůči infik. bb. →Tc CD8+ →likvidují nakažené CD4+ →imunit. reakce se ale nevyrovná s inf. →vznik chorobných příznaků (jedinci s HLA A 02 →lépe se vypořádají s inf.)
- výskyt : jižní Japonsko, Karibik
- přenos : krev, mléko, pohl. styk
- dg : Ab – ELISA →pozit. nález →westerblot
 - krevní mononukleáry →PCR →odlišení od HTLV-II (trichocelulární leukémie, leukémie z chlupatých

bb.

5. rod *Epsilonretrovirus*

- viry kožních sarkomů ryb

6. rod *Lentivirus*

-název : *lentus* = pomalý

-HIV-1,2, virus imunodeficitu koček

Virus HIV

- popsán 1983
 - velikost virionu : 110 nm, kulovitý tvar
 - nukleoid : konický tvar →známky ikosaedrální symetrie
 - nukleokapsida užším koncem připojena k obalu →zbývající prostor mezi obalem a nukleokapsidou vyplněn proteinem
 - obal : lipidy, glykoproteiny buněč. původu, 72 pravidelně uspořádaných výběžků
 - A. gen gag : produkt: protein: a. matrixový – p17 (časná stádia replikace),
b. hlavní kapsidový – p24 (hlavní stavební složka kapsidy, role v morfogenezi nových virionů)
c. nukleokapsidový – p7/p9 (řídí kondenzaci genom. RNA, aby se mohla uložit do kapsidy, ovlivňuje průběh revezní transkripce)
 - B. gen pol : produkt : a. proteasa (vznik jednotl. proteinů štěpením prekursorů gag)
b. revezní transkriptasa (RNA →DNA) DNA
- kopie = provirus → integrace do buněč. genomu →matrice →nové virové genomy a krátké subgenomové mRNA

c. integrasa (DNA štěpí, spojuje, integrace proviru do buněčného genomu)

- C.gen env : produkt : a.) obalový glykoprotein zevní –gp 120(větší)
adheze na receptor CD4(+koreceptory typu receptorů pro chemokiny a cytokiny, např. CCR5), vstup do b.

b.) transmembránový-gp 41(menší, nasedá na větší, ukotven v lipid. dvojvrstvě
-splývání vir. obalu s buněč. membránou

- reprodukce :

časná fáze : adheze na makrofágy nebo T- lym →gp 120 se váže na receptor T- lym CD4 + gp 120 se musí navázat ještě na koreceptor-receptor pro chemokiny →a. u kmenů s tropismem pro makrofágy-M-tropní viry-R5-viry:

koreceptor molekula CCR5

b. u kmenů s tropismem pro T- bb.-T-tropní viry-R4-viry : CXCR4

→ kapsida do cytoplasmy →revezní transkripce → DNA → k jádru → integrace do jádra

pozdní fáze : transkripce RNA → cytoplasmu → obal pučením přes buněčnou membránu

-variabilita : proměnlivé : důvod : -a. revezní transkriptasa →pracuje nepřesně

→není schopna chybně začleněný nukleotid vyměnit za správný

- b. obrovský rozsah množení v těle – každý den 10^9 nových

virionů → stejné množství denně odstraněno →během několika let neustálého virového množení → v organismu roj geneticky odlišných virionů →virus v infik. člověku neexistuje jako typický druh, ale jen v podobě quasispecies=populace sice příbuzných, ale geneticky přece jen částečně se lišících virionů

-typy : HIV I, II- liší se geneticky, antigenně, původem i patogenitou

II- méně patogenní, I-hůře se přenáší z matky na dítě

-HIV I – skupina M – většina kmenů (subtypy A-K) Amerika, Evropa B

- skupina O – odlišné kmeny

- skupina N

-HIV 2 – 6 subtypů A-F

-HIV I M-tropní kmeny → infikují makrofágy, dendritické bb. sliznice → přenos pohl. styk

T-tropní kmeny → T – lym

- citlivost : 56 C → inaktivace za 30 min, pH<6, >10, 0,5% NaOCl, 70% ethanol, jodové preparáty, dezinfekční prostředky-oxidační činidla(vč. chlorových), aldehydy, detergenty

-přenos : sexuální, parenterální, perinatální(placenta, porod, kojení)

Sexuál.-homosex. –Evropa, USA

Sexuál.-heterosex.-Karibik, Afrika, Asie

Krev – J, JZ Evropa

- patogeneze : Langerhansovy bb. slizniční lamina propria(primární cíl HIV, dendritické bb. z rodiny tkáňových makrofágů) reakce s TcCD4+ → zanesou virus do regionál. lymfat. uzlin →pomnožení →HIV v krvi →rozsev do mozku, sleziny, lymfoidní tkáň střeva, ostatních mízních uzlin →další množení →virémie vysoká →V SÉRU ANTIGEN P24(ODRAZ MNOŽENÍ VIRU)

virémie →klesá →roznovážný stav mezi množením a odstraňováním viru →rozvoj imunitní reakce → TcCD8+ →lyzují nakažené bb. + produkují substance potlačující množení HIV

→neutraliz. Ab →další týdny po infekci

- →po letech se organismus začne vyčerpávat →množství CD4+ se začne

snižovat →potlačení imunit. reakce → < 500 /ul →oportunní inf. →typické jsou

opakov. Inf. intracelulár. Patogeny (mykobakteria, herpesviry, CMV, kandidy, Pneumocystis carinii, salmonely, toxoplasma)

- ID : 21 dní
- Onemocnění : 1.) akutní retrovirový sy-podobný chřipce nebo IM
- 2.)klinická latence(několik let)
- 3.) pre-AIDS, ARS-AIDS-related komplex
 - zvyš. t, hubnutí, zvětš. Lymf. uzlin, noční poty, průjmy
 - Ab proti HIV 1, anemie, lymfopenie, trombopenie, sníž.ThCD4+
- 4.)sy získaného imunodeficitu – AIDS
 - typ. příznaky : kandidový soor, herpes zoster, cytomegalovirová retinitis, esofagitis, pneumocystová pneumonie, CNS : subakutní encefalitis, atrofie mozku, oportunní inf. : Toxoplasma gondii, Cryptococcus neoformans
 - epidemiologie : HIV 1 v : krev, sperma, moč, mateřské mléko, (sliny-vzácně obsahují inhibitory viru a svou hypotonii inaktivují nakažené lym)
 - historie: pův. opičí viry, HIV 1 : z šimpanze Pan troglodytes troglodytes
 - HIV 2 : z opic makabejů

Asi kontaminace otevřené rány krví infikované opice při jejím porcování

Další řešení : TRF, promiskuita

Vznik :30. léta 20 st.

1. případ : USA :1981

nyní pandemie-->nejvíce subsaharská Afrika

terapie :a.) nukleosidové inhibitory reverzní transkriptasy(analoga nukleosidů-->při transkripci RNA se včleňují do tvořícího se řetězce DNA :

zidovudin(azidothymidin),didanosin, zalcitabin, stavudin, lamivudin, abacavir, adefovir, tenofovir, DAPD, emtricitabin

b.)nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptasy (vážou se na enzym přímo a brzdí jeho fci) :nevirapin,delvirdin, efavirenz, capravirin,TMC 125,

c.)inhibitory virové proteasy(zasahují v konečných fázích dozrávání viru)

:saquinavir, ritonavir,indinavir, nelfinavir, lopinavir, amprenavir,atazanavir, tipranavir

d.) inhibitory vstupu viru do buňky(váže se na virový obalový glykoprotein gp41 a brání jeho konformační změně) : enfuvirtid

e.) inhibitory vir. integrasy (vkládá provir. DNA do buněč. chromosomu)

obvyklá terapie : 2 nukleosidové inhibitory reverzní transkriptasy + 1 nenukleosidový inh. (inh. proteasy)-->nedovede ale odstranit úplně, protože virus v některých buňkách zůstává integrován v chromosomu(anatomicky důležitý rezervoár mozek

posílení protivirové imunity

léčba oportunních inf.

dg :1.) přímý průkaz : specializ. Lab. :pěstování viru : směsné kultury krevních mononukleárních nemocného + pupečnickových leu zdravého novorozence

na zač. inf.--> ještě nejsou Ab--> v krvi virový kapsidový Ag p24

zvláštní případy :PCR:provirová DNA v lym

často:kvantitativní stanovení virové RNA v plasmě(důl. pro prognosu infekce a pro sledování účinku léčby)

2.) nepřímý průkaz : Ab proti gp 41 (za 3tý nejdříve,do konce života)-ELISA

➔ pozitiv. Výsledek--> opak.-->opět poz.-->označí se jako reaktivní--> pošle se do NRL AIDS(SzÚ)-->konfirmace –Westernblot

dítě má pasivní Ab do 18 měs.

podčeleď Spumaretrovirinae : rod Spumavirus

-tvorba vakuolek v infikov. bb. →pěnovitý

vzhled (lat. spuma=pěna), mohou kontaminovat TK, jinak nejsou spjaty s žádnými příznaky

**Obalené ssRNA – viry negativní polarity, helikální symetrie, nesegmentované
Řád Mononegavirales**

- jedno celistvé vlákno RNA o negativní polaritě

1.) Čeleď Paramyxoviridae

-nepravidelně oválné

-velikost _ 150 –350 nm

-lipoproteinový obal, hustě pokryt výběžky →protein HN(hemagglutinin+ neuraminidasa),protein F(splývání s buněčnou membránou)

-pod obalem matrixový protein M

-uvnitř virionu : spirálovitě stočená nukleokapsida →pod elektron. mikroskopem vypadá jako rybí páteř

-nukleokapsidové bílkoviny : nukleoprotein NP+ polymerasa L + fosfoprotein P →transkriptasový komplex

-značně labilní →citlivé k vyschnutí, t, UV, opak. Zmrazování

-množení :receptor : kys. sialová → na ní se váže pomocí proteinu

HN →změna tvaru proteinu F →fuze vir. obalu s povrchem buňky →vir.

nukleokapsidy do cytoplasmy →na vláknu RNA →molekuly

mRNA →dostatek vir. proteinů →celé pozitivní vlákno

RNA →transkriptasa sestrojuje komplement. Vlákno →vše probíhá

v cytoplasmě(proto lze v ní prokázat eosinofilní inkluze →glykoproteiny obalu jsou dopravovány k buněč. povrchu(včleňují se do buněč.

membrány) →hotové viriony pučí přes změněnou buněč.

membránu →buněčná membrána proto alterovaná →splývání sousedních

inf. buněk →mnohojaderná soubuní-syncycia

-průkaz inf. buněk →hemadsorpce

a.) Podčeleď Paramyxovirinae

1.)Rod Respirivirus – viry parainfluenzy 1 a 3

-respirační inf.

-mění se pomalu →na rozdíl od chřipky

-izolace viru : výplach, výtěr nosohltanu →TK-MK-2(opi-
čí ledviny) →průkaz hemadsorpce

-CPE(projev syncycia) na TK – u parainfl. 3, parainfl. 1 →kuřecí zárodky

-1,3 →hemagglutinace

-další průkaz viru : IF, ELISA

- průkaz protilátek : KFR, HIT, ELISA
- patogeneze : množení většinou jen ve vstupní bráně → sliznice dých. cest
- proteiny HN a F → neutralizační Ab, při reinfekci důl. IgA
- onemocnění : děti : katar HDC → (stenozující laryngotracheitis-croup, bronchitis, bronchiolitis, pneumonie
- : dosp. : lehké nachlazení
- : imunodeficienti → vážný průběh

2.) Rod Rubulavirus – viry parainfluenzy 2,4a,4b

-rozdíl od 1 a 3 → rozdíly v genomu

- méně patogenní
- typ 2 → nejčastější původce croupu

Virus příušnic

- vyskytuje se v jediném Ag typu
- proteiny : nukleokapsida : NP, P, L
: obal : HN, F, SH
- izolace : TK : Vero → některé kmeny CPE → všechny kmeny hemadsorpce (morčecí ery) → identifikace: zábranou hemadsorpce, IF, HIT (spec. antiséra), kuřecí embryo : do amnia → hemaglutinace (tzv. Hirstův test) s morčecími ery
- patogeneze : generalizovaná inf. → může proběhnout i postižení slinn. žláz virus → množí se na sliznici dých. cest → mízní uzliny → krev → epitelie vývodů příušních i ostat. slin. žláz → zduření a zánět → typické příznaky parotitidy → proniká i do CNS (přes buňky choriodeálního plexu) → často postihuje gonády, pankreas, mléčné žlázy, ledviny
- virus se vylučuje slinou, močí, sekrety dých. cest
- v likvoru a moči lze prokázat i několik týdnů po odeznění klin. příznaků
- po onem. dlouhodobá, solidní imunita
- patogenita : děti : zduření příušních žláz, sérozní meningitida (klinicky němá), zvýš. hladin sérové a močové amylasy
- : po pubertě → orchitis → sterilita
- : 1. trimestr → úmrtí plodu
- může proběhnout i subklinicky-30% nebo naopak jako meningoencefalitida
- zdroj : člověk, přenos : kapénková inf, ID : 18-21 dní, očkování : Trivivac (+ spalničky + zarděnky)
- dg : viz izolace + sérologie : KFR, HIT, ELISA (IgM)
průkaz meningitidy : zvýšený poměr Ab mezi hladinou Ab v likvoru a v séru

Virus newcastleské nemoci

- ošetřovatelné drůbeže → konjunktivitida
- izolace : TK, kuřecí embryo

3.) Rod Morbillivirus- virus spalniček

-nemá neuraminidasu

- v napadených bb. vytváří intranukleární inkluze
- rod zahrnuje : virus psinky, moru skotu, morbilliviry ovčí, koz, delfinů, virus spalniček → jediný patogenní pro člověka

virus spalniček

- název : morbilli-nemůcky
- vyvinul se z viru moru skotu
- obal. proteiny : jen H-Ag
- výskyt v jedinném Ag typu, receptor : CD 46 (regulační molekula komplement. sy)

- izolace : TK-opičí ledviny-MK →CPE →velké mnohohjaderné bb+eosinofilní inkluze v cytoplasmě a jádře
- : kuřecí embryo : špatné množení
- aglutinace jen opičí ery, hemolyt. aktivita
- patogeneze : dých. trakt →množení v respirační sliznici →regionální lymfat. uzliny(mnohohjaderné bb Warthinovy-Finkeldeyovy →krev →vnitřní orgány +další lymfoidní tkáň
- virus se váže na infikované monocyty →imunitní reakce →destrukce infikov. bb, zejména endotelií →typická vyrážka
- virus se vylučuje : sekrety dých. cest, spojivkou v katar. st,prvních dnech vyrážky
- doživotní imunita
- během onemocnění →potlačení buněčné imunity →vazba viru s CD 46 →potlačí tvorbu IL-12(odpovídá za tvorbu IF gama) →vymizí tuberkulinová reakce, zlepši se ikzémy, ale sklon k bakteriálním sek. Inf. →**SPALNIČKY PŘIPOMÍNÁJÍ MÍRNĚJŠÍ FORMU AIDS**
- onemocnění se vždy manifestuje
- ID : 10-11 dní →katarální stádium(4 dni) : horečka, kašel,rýma,zánět spojivky, Koplíkovy skvrny na bukální sliznici
- →vyrážka →makulopapulosni exantem →začíná na tvářích a za ušima →po 3-4 dnech vybledá
- komplikace : sekund. Bakteriál. Inf. →respirační →bronchopneumonie
- →encefalitidy
- →zá středního ucha
- subakutní sklerozující panencefalitida →vzácná, ale fatální →po inf. v raném dětství virus přetrvává v mozku a po čase se aktivuje →v mozku bb. typické inkluze, v séru a moku Ab proti viru spalniček →zjistilo se , že vir je stejný jako u spalniček, ale má aberantní obalové proteiny
- vir vztah i k RS →nevyjasněno
- prevence : očkování –Trivivac, Mopavac
- dg : KFR, HIT,ELISA(IgM →objev současně s vyrážkou)

5.) Rod Megamyxovirus

- virus Hendra: respir. onemocn. + encefalitida u ošetřovatelů nemocných koní
- virus Nipah : encefalitida u ošetřovatelů prasat

b.) Podčeleď Pneumovirinae

1.) Rod Pneumovirus

Respirační syncyriální virus- RS virus

- název : respirační →inf. dolních cest dých. u velmi malých dětí
- + schopnost vyvolávat syncyria
- viriony: tvarově rozmanité, oválné až vláknité →velmi nestabilní
- velikost . 150-300 nm
- obal : pokryt krátkými výběžky →nemají hemaglutinační ani neuraminidasovou aktivitu →obsahují F protein(splývání bb), glykoprotein G(přilnutí na receptory), SH protein, pod obalem M protein
- proteiny F a G →protektivní →Ab proti nim chrání proti infekci
- všechny kmeny společný KF Ag
- rozdělení na 2 skupiny A a B podle rozdílů ve stavbě proteinu G
- reprodukční cyklus viru : v cytoplasmě
- neroste na kuřecím embryu,nehemaglutinuje, nedá se prokázat hemadsorpcí →nemá hemaglutinační aktivitu

- izolace z nosohltanového výtěru : TK : Hep-2, HeLa → CPR → velká syncyia → identifikace pozitivní vazba komplementu se známým antisérem
- patogeneze : množení v nosohltanu → horní část respir. traktu → do dolní části virus proniká aspirací infikovaného sekretu → schopen se šířit respir. epitelem do bb sousedních
- imunita nedokaná, viry se díky soubuní-syncyia šíří navzdory Ab
- ochrana : HCD : sekreční Ab
- DCD : sérové Ab
- k uzdravení je nutná celulární imunita
- příznaky : cytopatický účinek viru + Tc + IgE
- postiženy : epitelie nejjemnějších průdušinek-bronchiolitis → rozpadající bb + hlen ucpávají bronchioly
- patogenita : děti : běžné nachlazení → postižení HCD+ zá. stř. ucha
- → závažnější případy : kašel, sípavé dýchání → dyspnoe, tachypnoe, cyanosa
- u oslab. dětí → může skončit fatálně → bronchiolitis, intersticiální pneumonie
- po uzdravení : zhoršené ventilační fce, opakovaný kašel, pískání na hrudniku, sklon ke vzniku astmatu
- dospělí : onemocn. jen HCD
- stáří : horečnaté bronchitidy, fatální pneumonie
- th: ribavirin v aerosolu + specifický protivirový imunní globulin
- profylaxe : RS-virový imunní globulin
- zdroj : člověk, přenos : kapénkový, kontaminovanými rukami, zimní měsíce
- dg : viz izolace + RS-virový Ag → IF, ELISA
- Ab : KFR, ELISA (starší děti + dosp., menší děti nevýrazná Ab odpověď)

2.) Rod Metapneumovirus

Humánní metapneumovirus

- akutní respirač. onemocn. → stejný průběh jako u RS viru
- dg : RT-PCR, přímá IF, Ab : detekce IgM, G, A

2.) Čeleď Rhabdoviridae

- virion : tvar projektil

a.) Rod Vesiculovirus-virus vesikulární stomatitidy

- vysoce nakažlivé puchýřnaté onemocnění koní, skotu, prasat
- u člověka vzácně inf. s chřipkovitými příznaky

b.) Rod Lyssavirus-virus vztekliny-rabies

- L. Pasteur-očkování proti vzteklině → vakcína z vysušené míchy experimentálně nakaženého králíka

- virion : dřev : RNA + nukleokapsidový protein N + proteiny L, P (N, L, P = vir. transkriptasa)
- virový obal : lipidy buněčného původu + výběžky (glykoprotein G → zprostředkuje splývání obalu s povrchem buňky i splývání inf. bb, faktor virulence, Ag odpovědný za vznik neutraliz. Ab)

- rezistence : choulostivý vir → inaktivace : zvýš. t, pH <5, >10, UV, běžné dezinfekční prostředky, povrchově aktivní l. (i obyčejné mýdlo)

- v inf. tkáních mrtvol → v létě několik dní, při 4 C i několik tý

- rozdělení : podle antigenní struktury proteinu G → sérotypy

sérotyp 1 → klasický virus vztekliny

izolace : z domácích i divokých zvířat po celém světě, netopýrů (sev. Amerika, vampýři (již. Amerika)

+ laboratorní virus fixe (fiks = stálý) → geneticky relativně stabilní mutanty

získané opakovaným pasážováním viru na labor. zvířatech nebo kuřecích embryích → sníž. virulence → zkrácená a stabilizovaná ID → ztráta schopnosti tvořit Negriho tělíska → z nich očkovací látky

sérotyp 2 Lagos bat -

sérotyp 3 Mokola

sérotyp 4 Duvenhage

→ 2,3,4 → v Africe → vyjím. u člověka

sérotyp 7 Australian bat lyssavirus → v Austrálii

sérotyp 5 European bat lyssavirus, EBL 1

sérotyp 6 EBL 2

→ 5,6 → od netopýřů i člověka → antirabická vakcína jen částečná ochrana

-množení viru : přilnutí virionu na receptor pro acetylcholin → průnik do

cytoplasmu → svlékání virionu → transkripce negat. vlákna RNA na jednotlivé m

RNA → translace-syntéza virových bílkovin → replikace RNA-tvorba pozit. vlákna RNA

a poté nových molekul genomové RNA → skládání nových virionů za pomoci proteinů

M a G → pučení přes modifikovanou buněčnou membránu za účelem získání obalu

-izolace : primární buněčné linie, bílá myš

-vnímavost : lišky, vlci, kojoti, šakali, psi, kočky → v nerv. bb cytoplasm. inkluze =

Babesova-Negriho tělíska (obsahují zejména protein N)

-patogeneze : výrazný neurotropismus, nepřítomnost virémie, pozdní nástup imunitní reakce

→ branou vstupu: podkožní nebo svalová tkáň poraněná kousnutím a kontaminovanou

slinou → urč. dobu stagnace → množení ve sval. bb, ale dlouhou dobu je neopouští (→ dlouhá

ID) → přestup do nerv. vlákna přes acetylcholinové receptory nervové svalové

ploténky → uvnitř axonů je dopravován v podobě holých nukleokapsid přes bb. nervových

ganglií směrem k CNS-centripetálně (3 mm/hod) → ukryt uvnitř bb → nedochází k indukci

imunitní reakce → dosažení paravertebrálních a trigeminálních ganglií → masivní množení

viru → cesta do mozku a míchy se zrychlí → v CNS se virus intenzivně množí v neuronech a

rychle se šíří i pomocí moku → šíření i centrifugální do v axonech nerv. bb do různých orgá-

nů → slin. žlaz (ve slin. žlázách již 3 dni před prvními příznaky)

-patogenita : inaparentní forma : netopýři, vampýři → virus ve slin. žlázách

psi : a.) zuřivá forma : 1. prodromální, 2. excitační, 3. paralytické

pes mění své chování → je neklidný, požívá kousky dřeva, hlínu, kameny

→ je agresivní → napadá své okolí → zuřivě kolem sebe kouše i mříže → silně

sliní → obrny hlavových a krčních svalů → pánevní a hrudní končetiny → celé tělo

→ hyne

b.) tichá → chybí excitační stadium

člověk : ID – 10 dní – 8 měs. → závisí na dávce, virulenci, místě vstupu → čím

blíže CNS, tím ID kratší

a.) prodromální příznaky : nespecif., pokousané místo může svědit, pálit

b.) fáze neurolog. a psychických příznaků :

I.) zuřivá forma : hyperaktivita, křeče → svalstvo laryngeální, hlavně při pokusu o napití (hydrofobie-bolestivé spasmus laryngu se dostávají při pouhé představě vody) → křeče se rozšíří na svalstvo celého těla a přecházejí v obrny → u někter. pacientů obrny od zač. onem.

II.) tichá forma : typická pro infekce netopýřimi kmeny

-vzteklina prakticky vždy smrtelná → 3 případy vyléčení

-ekologie : a.) typ městský-domácí zvířata- psi, kočky polodivoké

b.) typ ohniskový- divoce žijící zvířata

-prevence : očkování psů, lišek → perorálně živou atenuovanou vakcinou uloženou v návnadě
-profylaxe : nespecif. : vymytí rány mýdlem, dezinfekce jodovými nebo detergent. Antiseptiky
specif. : rabická vakcína- z fixních kmenů z TK (Vero, kachní embryonál. bb, kuřecí fibroblasty), inaktivace beta-propiolaktonem

→ do 48 hod po poranění zvířetem (podezřelé nebo neznámé), 6 dávek, i.m.
známé zvíře- vyšetřit v den poranění a 5 den po poranění

nemocné zvíře → utraceno → hlava k vyšetření → veterinární ústav

v Olomouci, Praze- Lysolaje, NRL ve Vratislavicích nad Nisou → vir. Ag-IF, virus-izolace na mladých myškách

→ pokud zvíře prokazatelně vzteklé, mnohočetné pokousání, více než 48 hod → dá se ještě hyperimunní humánní antirabický globulin → infikovat okolí rány + i.m. do opačné strany těla

3.) Čeleď Filoviridae

-vláknité útvary, průměr 80 nm, délka 800-1000

-obal : výběžky, střed vlákna : dutý

- při pokoj. t stabilní

1.) Rod Marburgvirus-vir marburské choroby

-hemorhag. horečka

-1967-Marburg, Bělehrad → u pracovníků, kteří ošetřovali afr. Zelené kočkodany a připravovali z jejich tkání buněčné kultury → interhumánní šíření

-smrtnost 25 %

-1999-Durba

2.) Rod Ebolavirus –Zaire, Sudan, Reston, Cote d Ivoire

-hemorhag. horečka

-přiroz. hostitel : netopýr

-mezilidský přenos, smrtnost 88 %

-přenos : krev, další biolog. Materiál nemocného

-branou vstupu : sliznice, porušená kůže

-přenos : vzduchem mezi opicemi

-onemocnění : horečka, zvracení, průjem, nástrík spojivek, bolestivá faryngitida, y skvrnitá vyrážka, krvácivé projevy → smrt (šok, multiorgánové selhání)

-patogeneze : cytopatický účinek viru na endotel + nedostatečná imunitní odpověď

-dg : specializ. Lab. : izolace na TK (Vero), na morčatech

průkaz vir. Ab, IgM

4.) Čeleď Bornaviridae

Obalené ssRNA-viry negativní polarity, helikální symetrie, segmentované

1.) Čeleď Orthomyxoviridae

-název od afinity ke sliznici dýchacích cest (řecky myxa, sliz)

-segmentovaný genom, často se rekombinují a množí se v buněčném jádře

a.) Rod : **Influenzavirus A**-infekce člověka, prasat, koní, ptáků

b.) Rod : **Influenzavirus B**-infekce člověka

c.) Rod : **Influenzavirus C**-izolace od člověka a prasete

d.) Rod : **Thogotovirus**

2.) Čeleď Bunyaviridae

3.) Čeleď Arenaviridae

4.) Čeleď s virem hepatitidy D

Obalené ssRNA-viry negativní polarity, helikální symetrie, segmentované

1.) Čeleď Orthomyxoviridae

Rod Influenzavirus A

-velikost : 90-120 nm

-tvar : sférický, řidčeji protáhlý až vláknitý

-obal : lipidy z povrchové membrány hostitelské buňky

-výběžky na lipoidní membráně : a.) virový hemagglutinin – podoba štíhlé tyčinky

-glykoprotein → 3 podjednotky

-váže se na povrch buňky, odpovídá za průnik v RNA do cytoplasmy, antigenní změny brání účinku neutral. Ab

-15 podtypů – H1-15 (vodní ptáci 1-15, člověk H1,2,3)

-aglutinuje ery lidské, morčecí, slepičí

- hemagglutinace=pouze laborator. jev, používá se k důkazu přítomnosti viru v tekutině z infikovaných kuřecích zárodků-Hirstův test + k průkazu protilátek- HIT- hemagglutinačně inh. test vzniká vazbou virionů na R ery(glykoproteiny) → po určité době neuraminidasa R ery rozštěpí → hemagglutinace vymizí=eluce viru z krvinek →využití k purifikaci a koncentraci viru
- sérové a tkáňové tekutiny →obsahují inhibitory(alfa, beta,gama) →inhibují schopnost aglutinace ery →odstranění(inaktivace)

b.)enzym neuraminidasa- menší výběžky, houbovitý tvar

-glykoprotein, 4 totožné podjednotky,tvar špendlíku, na hlavice aktivní místo enzymu v podobě široké

propadliny →toto místo blokují oseltamivir, zanamivir

-odstraňují kys. sialovou z glykoproteinů na povrchu nově vytvořených virionů a na povrchu infik. b → kdyby to nebylo →agregovaly by navzájem a s povrchem buňky

-N1-9(ptáci 1-9, člověk 1,2)

-další třetí obal. bílkovina- protein M₂- prostupuje obalem jako iontový kanál-umožňuje vstupovat iontům do virionu →nutné k svlékání →blokuje amantadin

-pod obalem matrixový protein M₁-váže se na vnitřní struktury virionu tvořené ribonukleoproteinem(RNP=vlákno virové RNA(vRNA)+nukleoprotein NP-rodově specif.

Ag →jím se liší chřipka A,B,C, hlavní cíl Tc, společný všem podtypům viru chřipky A, používá se do KFR)

-na jednom konci RNP virová polymerasa(transkriptasa)

-protein NEP- transport mRNA z jádra

-nestrukturální fosfoprotein NS₁—umožňuje viru vyhnout se INF odpovědi hostitele

-RNA- jednovláknitá, negativní polarita, 8 segmentů, citlivá k účinku endonukleasy, každý segment koduje jednu ze strukturálních bílkovin
-množení viru : HA- na R →aktivně pohlceny →receptorově zprostředkovaná endocytosa →invaginace klathrinem pokryté oblasti buněčného povrchu →vytvoření vesikuly s adherovaným virionem →vesikula splývá s endosomy (nízké pH →aktivace iontového kanálu proteinu M₂ →změní konformaci HA a obnaží jeho fuzní peptidy →ionty uvolní RNP od M₁ →jádro virová RNA →mRNA +vRNA replikované →transport do cytoplasmy
vir. bílkoviny →syntesa na ribosomech ER →Golgiho aparát (úprava)
viriony dozrávají při buněčné →buněčná membrána se stává vir. obalem →NA →odstraní kys. sialovou, aby nenastala agregace
-kultivace : 2 tý kuřecí embryo →očkované do amniového vaku →hemaglutinace →tekutina obs. vir aglutinuje kuřecí a morčecí ery

→očkování do allantois →kmeny pro přípravu antigenů,

očkov.látky

TK- MDCK-psí ledviny, MK-opičí ledviny

→hemadsorpce →průkaz viru →ery přilnou k naočkovaným bb

-citlivost : UV, dezinfekční l-oxid. Činidla, aldehydy, detergenty

-uchování kmenů : mrazit s proteiny nebo 50% glycerolem

-drift-hromadění bodových mutací →následek: náhrada pův. AK v antigenních oblastech HA nebo NA AK jinými →náhrady mění antigen. strukturu příslušných oblastí → to čím dál více brání vazbě Ab vyvolaných předchozí inf. (nejrychlejší-chřipka A) →proto při vakcinaci se obměňují kmeny

-shift-nový podtyp s jiným HA , případně NA →příčina segmentovaný genom →při smíšené inf. 2 různými podtypy →genet. přeskládání →hybrid s novou kombinací genů → asi v organismu prasat přeskládání mezi ptáčimi a lidskými kmeny

1918-španělská chřipka

1957-asijská chřipka H2N2

1968-hongkonská chřipka H3N2

dědičný antigenní hřích-při inf. právě kolujícími virem se vytvoří Ab i proti kmenům dřívějším-tak se zjistilo epidemie 1889 – H2N2, 1900-H3N8

1997-H5N1 →jen z ptáků na člověka →nenese lidské geny umožňující snadné šíření mezi lidmi (velká virulence →přehnaná reakce org. Na virus →virus nemá protein NSI-ten brání indukci buněč. signálů pro tvorbu cytokinů a INF)

-místo vstupu: řasinkový epitel dýchacích cest →unášen hlenem →sliznice trachey a bronchů (vypadá jako rudý mech) →sdružen s lym →lymfat. cesty →krev →jiné orgány

-horečka →půs. na leu(IF, IL-6, TNF)

-útlum monocytů, destrukce řasink. Epitelu →prolomí se obrana sliznice dých. cest

-kompl. : zá plic-primár. Virový

sekund. Bakteriální bronchopneumonie-stafy aureus, Hemofilus inf., strepto

pneumoniae

2. Čeleď *Bunyaviridae*

-kulovité viriony, průměr 100 nm, obal + výběžky

-genom : vlákno RNA – 3 segmenty – L(large)+M (medium)+S (small)

-L koduje transkriptasu, M koduje povrchové glykoproteiny G1 a G2, S koduje nukleokapsidový protein N

-nemají M protein

-přeskupování genů při současné infekci 2 příbuznými viry je možná

-dozrávají pučení do vezikul při Golgiho aparátu

-hemaglutinují

-citlivé k rozpustidlům lipidů, detergentům, nízkému pH, 56 C

-dělí se na základě okruhu hostitelů, molekulár. Biolog. Vlastností, Ag stavby nukleoproteinu na rody : a. **Orthobunyavirus**

-arboviry

-virus Batai → chřipkovité onem. + bolesti svalů + horečka + nechutenství

-virus Lednice

-virus Ťahyňa-zdroj zajíci, hlodavci, přenos : komáři, horečka, chřipkovité příznaky, někdy podráždění mozkových plen

b. **Nairovirus**

-virus krymsko-konžské hemorhag. Horečky-horečka + krvácivé projevy + postižení jater (Jižní Rusko, Ukrajina, Balkán), přenos : klíšťata

c. **Phlebovirus**

-virus horečky Údolí Rift

-viry skupiny horečky papatači – přenos koutule(malí komárci): virus neapolský, sicilský
→ 2- 4 dny horeček → uzdravení

- virus Toscana-přenos koutule-flebotomy-asept. meningitidy, meningoencefalitidy

- virus Uukuniemi – přenos : klíšťata

d. **Hantavirus**

-liší se od ostatních rodů čeledi *Bunyaviridae* → nepatří mezi arboviry

-adaptace na myšovitě hlodavce → u nich persistentní bezpříznakové inf. → šíří se exkrety (slina, moč, trus)

-člověk náhodný hostitel

-20 druhů

-virus Hantaan -Čína- hemorhagická horečka + ledvin. Sy

-virus Dobrava-Belgrade-Evropa-Balkán- zdroj : myšice, onemocn. těžší forma než Hantaan

-virus Seoul-celý svět- zdroj : potkan, středně těžká forma onemocnění

-virus Puumala-Skandinávie, stř. Evropa, zdroj : norník, lehčí forma

-virus Tula- u nás, zdroj : hraboš, málo patogenní pro člověka

-virus Sin Nombre- sev. Afrika, postižení plic

- patogeneze : vstupní brána : dých a zažívací trakt, kůže → receptory beta-3-integriny (regulují cévní propustnost a fci tro) na povrchu endotelií, makrofágů, tro → porucha fce cév → příčina hemorhag. nekros, degenerace tubulů v ledvinách, intersticiál. Zá plic s překrvením a edémem → účast imunopatolog. mechanismů (popsány vyšší hladiny cytokinů TNF alfa, IL6, 10, IgE)

- patogenita : a. Hemorhagická horečka s ledvinným sy

I. těžší – horečka + bolesti hlavy + svalů, albuminurie, hypotense, šok, petechie, hemorhagie, nástřik spojivek, akutní myopie, oligurické stadium až selhání funce ledvin

-rekonvalescence : měsíce

II. lehčí formy – jen některé příznak

b. Plicní sy- edém plic

-dg : orgány zvířat – IF, ELISA

člověk – Ab-IgM-IF, ELISA (Ab proti viru Hantaan, Puumala)

3. Arenaviridae

arena = písek

-infikují hlodavce, mnohdy kongenitálně, u nich vyvolávají persistentní inf.

-vel. : 100 nm, obalené, hustě pokryty výběžky

-dřeň virionu : zrníčka-tvarem a velikostí odpovídají ribosomům hostitel. b.

- genom : segmenty L, S

1. virus lymfocytární choriomeningitidy

-vnímavé myši → infekce při narození, kongenitálně → nejsou schopny Tc CD8

virus odstranit → persistentní inf. → virus + Ab v krvi (→ imunokomplexy → usazují se v cévách, zejm. ledvin → glomerulonefritis), vylučuje se močí

- u člověka vzácně, zimní měsíce, přenos : inf. potraviny, vdechnutí prachu inf. močí myši, laborator. přenos

- onemocnění : obraz chřipky až atypické pneumonie, asept. meningitida až meningoencefalitida (na podkladě buněč. imunit. reakce), vzácně hemorh. Horečka

- izolace : z moku (mnoho lym, sníž. glu), krve, výplachu nosohltanu

- dg : myš, Ab : ELISA, KFR, IF

2. virus hemorhagické horečky Lassa

- onemocnění : t, faryngitida, sval. bolesti, hemorhag. kožní vyrážka, pneumonie, poškození srdce, ledvin

- smrtnost 35-65 %

- rezervoár : krysa

- přenos : potraviny kontaminované močí, z člověka na člověka

- izolace z krve

- dg: TK, IF, ELISA

3. Viry jihoamerických hemorhag. horeček : argentinské – Junin

Bolivijské – Machupo

Venezuelské – Guanarito

Brazílské – Sabia

Rod Deltavirus

-leží mimo definované čeledi

- virus hepatitidy D- neúplný virus, dovede se pomnožit jen v přítomnosti jiného viru- HBV → poskytuje mu produkty chybějících genů
- velikost : 40 nm, povrchový Ag HbsAg
- nukleokapsida : cirkulární RNA → většina bází se páruje → částečně dvojvláknitá tyčinkovitá struktura → dovede se sama štěpit a opět spojovat + delta-Ag (jediný protein kodovaný genomem HDV-2 peptidy)
- hostitel : nejdříve HBV, pak HDV → superinfekce, současně → koinfekce
- jen onemocnění jate → chron, fulminantní → časté
- Rumunsko, střeozemí, jižní Amerika
- dg : průkaz delta Ag- HDAg, vir. RNA, Ab-anti HD v séru

Obalené DNA viry

Obalené DNA – viry, ikosaedrální symetrie

Čeď Herpesviridae

- kubická symetrie kapsidy, obal
- množí se v buněčném jádře, kde vytváří typické inkluse
- nehemaglutinují
- adaptovány na obratlovce i bezobratlé
- některé onkogenní
- název herpes = plazící se, lezoucí tvor
- vel. : 120-200 nm
- nukleoid (na vláknitém útvaru navinutá DNA jako na cívce), kapsida (20stěn), tegument (útvár s amorfním materiálem), obal (dvouvrstevný s krátkými výběžky)
- DNA- lineární, dvouvláknitá, v průběhu množení viru cirkularizuje
- množení : přilnutí, splynutí s plasm. membránou (receptor- heparansulfát, CR1), do cytoplasmy se uvolní kapsida a proteiny z tegumentu → zástava syntesy buněč. bílk. + průnik do jádra a indukce transkripce prvních časných virových genů, nukleoproteinový komplex do jádra → DNA do kruhu, transkripce vir. DNA → replikace v jádře, translace informace z mRNA v cytoplasmě → transkripce alfa genů, beta (enzymy), gama (strukturální proteiny), obal získávají pučením přes jadernou membránu, viriony se hromadí v perinukleárním prostoru a modifikovaným ER jsou dopravovány na povrch buňky
- cyklus 18-20 hod, vznik potomstva provází rozpad buňky
- schopnost latentní inf. → genom v kruhové formě

Podčeď Alphaherpesvirinae

- krátká replikační doba – 12-18 hodin
- latentní inf. nervových ganglií
- rody se liší drobnými rozdíly v organizaci genomu

Rod Simplexvirus

Virus herpes simplex (HSV 1,2)

- typ 1 a 2 se liší Ag strukturou povrchového glykoproteinu gG
- genom : 2 části L a S
- povrchové glykoproteiny : gB → infekčnost, gC → váže se na komplement. složku C3b, gD → infekčnost, neutral. Ab, gG → nese typovou Ag specifitu (Ab proti němu odliší 1 a 2)
- produkt gama 1 34.5 → neurovirulence viru → nedovolí, aby se metabolismus nakažené buňky zastavil příliš rychle → předčasný rozpad
- na povrchu virionu i inf. b. → gE → receptor pro Fc fragment IgG → chytá Ig za jejich konstantní část a chrání tak viriony a nakažené bb. před účinkem Ab
- produkt jiného genu → zadržuje MHC I v cytoplasmě a chrání před Tc CD8+
- izolace : většina TK → CPE → balónovitě zduřelé bb. + malá syncyria
 - patogenní → myš očkovaná do mozku, králik na poškrábanou rohovku
 - kuřecí embryo → chorioalantoidní blána → poky (drobná ložiska)
- patogeneze : neurovirulence + latence
 - 1 → sliznice dutiny ústní, spojivka
 - 2 → sliznice genitálu
- ve vstupní bráně množení → ID 4dne → příznaky z rozpadu nakažených buněk
- virus → do nervových zakončení → axonálním transportem → ganglia trojklan. Nervu, do ganglií podél kosti křížové
- vzácně : generalizace (těh., imunosuprese, ekzematici), do mozku
- ganglia : vir.genom v podobě cirkulární DNA přetrvává po celý život (exprese minim.)
- pokud virus nedokončí reprodukční cyklus → latentní inf. se neprojeví navenek
- zátěž → aktivace viru → pomnožení v gangliu a podél nervů se vyseje do sliznice nebo kůže v okolí vstupní brány
- kůže : typické puchýřky na rozhraní dermis a epidermis (tekutina velké množství viru), zánětlivá reakce ve škáře pod vesikulami → puchýřky se kalí → pustuly → zasychání
- sliznice : vesikuly → praskají → bolestivé malé vřídky
- rekurentní endogenní onemocnění → tyto epizody se často opakují
- imunitní buněč. reakce → lokalizace inf. → neeliminuje virus z ganglií
- Ab chrání proti inf. zvnějška, ne před endogenní reinfekcí
 - pasivní vrozená imunita : do 6 měs.
- patogenita : 1 – primár. Inf. → hlavně děti, často inaparentní
 - děti : gingivostomatitida, keratokonjunktivitida, meningoencefalitida
 - dospělí : faryngitida, tonsillofaryngitida, nekrotizující encefalitida spánk.

Laloku

- 2- prim. Inf. → herpes genitalis + celkové příznaky
 - novorozenci → herpes generaliz. (postižení kůže, mozku, plic, jater)
- rekurentní inf. – 1 – mírné až bezpříznakové → občasné vylučování viru slinou nebo herpes labialis-opar rtů → pálení, svědění až bolesti → puchýřky na rozhraní sliznice rtů a kůže
 - (aktivace : oslunění, hormony, úlek, horečka, imunosuprese)
- méně časté gingivostomatidy, keratitidy
- rekurentní inf. – 2 – rekurentní herpes genitalis → mírnější než prim.
- jediný zdroj : člověk
- latentně nakažena většina populace, 1/3 trpí rekurentními inf.
- přenos 1 : líbáním, 2: pohl.stykem, porodem

- virus se vylučuje během aktivní inf., prim. Nebo rekurentní, manifestní nebo inaparentní → puchýřky, sliny, slzy
- th : acyklovir, valaciklovir, famciklovir → neodstraní inf., ale zabrání aktivaci
lokálně : oční, kožní → idoxuridin
terapeut. Autovakcína ??
- dg : TK → určení NT
rozlišení obou typů 1,2 → monoklonální Ab proti Ag gG
cytologický průkaz intranukleárních inkluzí
PCR

ROD Varicellovirus

Virus varicelly-zosteru

- izolace : TK : lidské embryonál. bb → CPE: zakulacené světlolomné bb + drobná syncyia
- v nakažených bb. eosinofilní intranukleární inkluze
- virus neuvolňuje se do kultivačního média, pasáží se v podobě suspenze inf. bb
- jediný Ag typ
- zkřížená imunita s HSV → dána shodnou strukturou s povrchovým glykoproteinem gB → vznik neutralizačních Ab fungující bez účasti komplementu
 - v inf. bb → glykoprotein gE → neutraliz. Ab účinkující v přítomnosti komplementu
- choulostivý, inaktivace : rozpustidla lipidů, detergenty, 56 C, vysychání, pH jiné o 0,8
- patogeneze : vstup : respirační trakt → pomnožení v bb respirační sliznice → regionál. lymfat. uzliny → pomnožení → generalizace krví → prim. Virémie : játra, slezina, sek. Virémie (ke konci ID, první dni příznaků) : virus přítomen v lym, monocytech → rozsev do sliznic a kůže → množení viru v bb pokožky → typická vyrážka (+ epitelie plicních sklípků)
prim. Inf. → plané neštovice
- komplikace : pneumonie, encefalitida (přímý účinek nebo imunitní reakce)
→ během prim. Inf. → VZV do ganglií senzoryckých nervů (podél nervů nebo leu)
→ uzdravení → virus latentní v těle po řadu let v neuronech, bb dorsálních kořenových ganglií → oslabení → aktivace (starší věk, mlg) → virus se v gangliu pomnoží → vycestuje podél nervů do kůže a v příslušném dermatomu vyvolá bolestivý pásový opar - herpes zoster (+ postiženy meningy)
- opakovaný zoster → u normál. jedinců → vzácný
- imunita : Ab v prvních dnech příznaků → rozpad infik. bb.
důležitá je imunita buněčná
- patogenita : bng, celkové onemocnění
→ výsev puchýřků → intenzivně svědí, kalí se, zasychají, mezitím vznikají nové → hojí se bez jizev, běžné léze na sliznicích
- kompl. : bakter. Inf → stafy aureus, str pyogenes
defekt imunity → zá plic → +
encefalitis, zá mozečku
- herpes zoster → bolestivé onemocnění, jednostranná lokalizace uvnitř dermatomu
→ typický šikmý pás na hrudníku (kompl.: neuralgie, porucha imunity → postižení vnitřních orgánů)
- th. : acyklovir, valaciklovir, famciclovir, foscarnet, IF
- epidemiologie : zdroj : nemocný člověk, přenos : kapénková inf.
- prevence : imunní lidský globulin
vakcína
- dg : izolace : TK : lidské embryonální bb
Ag → IF

Ab : KFR, ELISA (IgM, IgG →zhodnocení stavu nemocného)

B-virus

-opice → latentní inf.

-člověk → smrtelná encefalopatie

Podčeleď Betaherpesvirinae

-replikační cyklus nejméně 24 hod

-většinou patogenní jen pro jeden druh

Rod Cytomegalovirus

Lidský cytomegalovirus, Human herpes -HH 5 (VZV=HH3)

-název odráží fakt, že se infikované bb. zvětšují, obsahují intranukleár. i cytoplazmat. inkluze

-po primární inf. → persistence → může se aktivovat

-většina inf. inaparentní

-virion : větší pleiomorfnost obalu, jinak shoda s ostatními herpesviry

-z infik. b. se uvolňuje velké množství inf. částic i neúplných partikulí

-choulostivý vir

-genom největší z herpesvirů

-důležitý : hlavní kapsidový protein MCP, hlavní obalový glykoprotein gB(terč neutral. Ab), tegumentové fosfoproteiny pp65, pp 150(dg)

-jediný Ag typ

-množí se pomalu, 48-72 hod, nezastavuje buněčný metabolismus, spíše stimuluje

-izolace : TK : lidské fibroblasty z kůže nebo plic

-nové nukleokapsidy → hromadění buněčné jádro → vzhled soviho oka

-patogeneze : vstup : sliznice respirační, zažívací trakt, urogenitál. → generalizace pomocí leu

-primár. Inf. → inaparentní → virus přetrvává v bb slinných žlaz, ledvin. Kanálků → množí se

→ vylučuje se močí, slinou → imunita dostane inf. pod kontrolu(buněčná-Tc) → po likvidaci se virus udržuje v latentním stavu v monocitech a makrofázích

-aktivace latentní inf → klin. nemá → krátkodobé vylučování viru

-virus u těh → placentě → plod → kongenitální inf = kongenitální

cytomegalie → generalizovaná(mozek, játra, krvetvorba) a persistentní → virus se slinou a močí vylučuje několik let

-imunokompromitování : plíce, játra, jícen, střevo, sítnice

-transplantace : horší přežití štěpu, imunosupres. Účinky → bakteriální, mykotické, virové superinfekce

-transplantace kostní dřeně → těžká pneumonie

-patogenita : 1.) inaparentně probíhající inf.

-vyj. IM + atyp. Lym + zvýš. jaterní transaminasy + 0 heterofil. Ab

2.) kongenitální inf.

hepatosplenomegalie, trombocytopenie, kožní petechie, žloutenka, mikrocefalie, nitrolební kalcifikace, hluchota, chorioretinitida,

častěji lehčí postižení : mentální retardace

3.) inf po transplantacích

příjemci ledvin, jater, srdce : CMV infekce 60-100%

a) jako sy IM + t + bez heterofilních Ab

b) invazivní onemocnění : postižení GIT, jater, plic

příjemci kostní dřeně

intersticiální cytomegalovirová pneumonie

4.)nemocní s HIV

plíce, CNS (progredující retinitis, encefalitis), GIT(esofagitis)

-th. : ganciklovir, foscarnet

-epidemiologie : zdroj : člověk, přenos : orální, respir., pohl.,transpl.

-virus : sliny, slzy, moč, mateřské mléko, spermat, poševní sekret, krev

-po prim. Inf se vylučuje dlouho, rekurentní inf. → intermitentní vyluč. Viru

- u TRF → odstraňování leu z krve

-prevence :

ganciklovir

rekombinantní subjednotkové vakciny (obsahují hlavní obalový glykoprotein gB nebo fosfoprotein pp65)

-Ab –serologie → serokonverze, vzestup titru Ab

izolace viru : lidské fibroblasty

urychlená kultivace → centrifugace inokula na TK narostlou na kulatém krycím

sklíčku → důkaz viru pomocí IF

monoklonální Ab → produkt genu IE-1

PCR – moč, sliny

Příjemci transplantátů, nemocní s HIV → odlišit inf. od invazivního onemocnění → CMV

v bronchoalveolární laváži, biopsii, krvi

Krevní polymorfonukleáry → IF → Ag pp65

Rod Roseolovirus

Virus exanthema subitum (HHV 6)

-HHV-6A, 6B → liší se geneticky, Ag, biologicky

-HHV-6A → účinněji indukuje TNFalfa, cytokinů

→ možná neurotropnější

-HHV-6B → většina manifestních inf.

-velikost : 200nm, tegument široký

-genomy obou variant : z 90 % podobnost

-nejlépe se množí v aktiv. T-lym CD4+, CD8+, makrofágy, dendr. bb, fibroblasty, epitelie

-podporuje indukci receptorů CD4+ na bb. → činí více vnímavé k HIV

-neuroinvazivní

-patogenita : prim. inf. → neurč. onem. → horečka + křeče

20 % dětí → vyrážka : exantema subitum VI. nemoc

vzácně hepatitida nebo atypická lymfocytosa

reaktivace → bez příznaků

reaktivace HHV-6B u příjemců transplantátů – u 1/2

→ horečnaté onemocnění, encefalitis, zá plic, hepatitidy, příznaky z potlačení fce

kostní dřene, potlačení imunity, zhoršení průběhu CMV, změny psych. Stavů

-th. : jen u encefalitis imunokompromit. jedince → ganciklovir, foscarnet, cidofovir

-epidemiologie : nejčastěji 6-9 měs., u norm. jedinců HHV6A → bezpříznakově, manifestace

HHV6B → přenos na dítě ze slin matky

-dg : izolace → TK z lymfoblastů

Ab → IF, ELISA

DNA → PCR

(prim. Inf. → DNA + 0 IgG)

Lidský herpesvirus 7 (HHV 7)

-prim. Inf. → dětství → většinou inaparentní, vzácně pod obrazem horečnatého onemocnění nebo exanthema subitum

-mohou být neurolog. kompl.

-komplikace přijetí transplantátu

Podčeleď Gammaherspesvirinae

-latentní inf. lym → proliferace

Rod Lymphocryptovirus

-skryté inf. lym

EB- virus (HHV 4)

- schopnost persistence v org., schopnost vyvolat produktivní inf v jednom typu bb (epitelie nosohltanu), latentní inf v jiném (lym B)

- vztah k mlg, schopnost transformovat B lym in vitro v nesmrtelné lymfoidní buněčné linie

- typ 1,2

-virion : v obalu převládá jediný glykoprotein

-geny → činné při lytické, latentní inf. B – lym → jedinečné → soudí se, že pochází z buněčné DNA (v norm. buněč. DNA motivy z genu pro protein EBNA-1, EB- virový gen BCRF1 → téměř totožný s genem pro IL-10)

-typy EBV : 1,2 → liší se pouze v genech pro nukleární proteiny (EBNA) v latentně inf. bb. a v Ag epitopech reagujících s Ab a Tc

-1,2 se dají vypěstovat z nosohltanu, z lym periferní krve 1

-EBV – Ag: EBNA → EB-virový nukleární Ag (6 odlišných bílkovin)

→ v latent. Inf. bb

EA → časný Ag → v bb na zač. lytického cyklu (složka difusní EA-D a restringovaná EA-R)

VCA → virový kapsidový Ag uvnitř buněk → ke konci lytického cyklu

MA → membránový Ag na povrchu bb

- množení viru : buněčným receptorem na lym → protein CD21 (příbuzný Ig, norm. receptor pro komplement. složku C3), s receptorem se váže glykoprotein obalu gp350/220 → vstup do jádra → genom se stáčí do kruhu → závisí na buněčných transkripčních fa, zda inf. latentní nebo lytická → latentně inf. bb (několik nukleár. proteinů-EBNA, 2 latentní membrán. Proteiny-LMP, 2 malé molekuly RNA (EBER) → tyto genové produkty udržují latentní inf. a působí, že latentně nakažené B-bb se transformují a in vitro se množí jako permanentní buněčné linie → latentní inf → zněma v lytickou pomocí induktorů

-izolace : na B-lym (z pupečnickové krve nebo krve dospělých) → virus (např.

z nosohltanu) inf. a transformuje v nesmrtelné buněč. Linie

: v laboratoři → udržování viru v podobě persistně inf. kultur

lymfoblastoidních bb odvozených z Burkittova lymfomu, mlg ná

-patogeneze : vstup → ústa (sliznice dut. Ústní, tonsilly) → množení epitelie vývodů slin. žláz, přítomen ve slinách, výplachích nosohltanu → ve tkáni nosohltanu napadá lym B → imunitní sy: neobvykle silná imun. Buněč. reakce → velký počet T

lym → odstraňují inf. B lym → T-lym CD8+ ve velkém množství v krvi jako „atypické mononukleáry“, → masivní lymfocytární infiltrace tkání může mechanicky poškodit např. jaterní bb → v séru Ab pro různých Ag EBV → EBV taky polyklonální aktivátor B-lym → heterofilní Ab (reagují se zvířecími ery) + autoprotilátky proti různým vlastním strukturám → stoupá hladina Ig → uzdravení virus v latentně inf. lym, epitelu orofaryngu, cervixu → příznaky z aktivace viru u norm. jedinců neznámy

-vylučování: sliny

-patogenita : děti, mladí dosp. → inf. mononukleosa-pseudomembr. Angina s krční lymfadenitidou, atyp. Bb v krvi, poz. Paul – Bunell reakce na heterofilní Ab, mnohdy postiženy játra, někdy periferní nervy

-onkogenní potenciál viru → Afrika → mlg Burkittův lymfom (kofaktor malárie)
→ jižní Čína → nasofaryng. Ca

→ imunokompr. → B lymfomy

-epidemiologie: sliny → líbání, TRF, pohl?

-dg : 1) atyp. Bb,

2) a. heterofilní Ab → Ab shlukují beranní ery- Paul Bunell. Reakce kontrola : + morčecí ledviny → heterofilní Ab zůstanou

+ hovězí ery → zmizí

b. IM-test → aglutinace koňských ery

c. OCH-test → hemolýza hovězích ery v přebytku komplementu

3) sérologie : ELISA, IF

časná inf → Ab proti VCA IgM, A, E, G (nízkoavidní), 0 proti EBNA-1

Rod Rhadinovirus

Lidský herpesvirus 8 (HHV8)

- spjat s Kaposiho sarkomem

- obsahuje velké množství genů buněčného původu → molekulární pirátství
→ produkty genů indukují tvorbu kapilár, ovlivňují proliferaci bb, účinkují jako cytokiny

- patogenita : prim. Inf. → vzácně IM (bez heterofilních Ab)

- vztah k Kaposimu sarkomu (→ ten vzniká z endotelií cév v kůži, uzlinách, GIT)

→ Itálie, Stř. Východ → výskyt u HIV, příjemců transplantátů → léčba : ganciklovir, cidofovir

- dále vztah k lymfoproliferativní Castelmannově chorobě, B – lymfomem tělních dutin

- epidemiologie : přenos : slina, pohl. styk, krev

: nález : lymfoidní tkáň, mononukleáry perif. krve, cervixu,

prostaty, cervixu, spermatu

- dg : PCR

Obalené ds/ss DNA-viry, kubická symetrie kapsidy, využívají reverzní transkriptasu

Čeď Hepadnaviridae

Rod Orthohepadnavirus

Virus hepatity B

HBV

- 3 typy virových částic : 42-47 nm Daneovy (dejnovy) částice, 20 nm velké kulové partikule, 20 nm široká kratší vlákna → všechny na povrchu australský

Ag = povrchový Ag-HBsAg

- infekční Daneova částice-lipoproteinový obal(

HBsAg), nukleokapsida (fosfoprotein HBcAg + DNA + polymerasa)

- vlákna + kulovité částice (HBsAg + buněčné lipidy)

- obalený, ale resistantní (snese několik minut. Var, 1/2 roku při pokoj. t), odolný vůči detergentům

- inaktivace : autoklavování (120 C/20 min), horkovzdušná sterilizace (160 C/60 min), oxidační činidla (persteril, chlorové preparáty). Aldehydy (2% glutaraldehyd), Alkoholy (80% ethanol/2 min)
- genom : částečně dvojitě vlákenná, cirkulární DNA
→ vlákna nejsou symetrická, 1) záporné vlákno tvoří téměř neúplný kruh, na 5' konci : reverzní transkriptasa → 4 geny : → proteiny strukturální, proteiny účastníci se replikace

2) kladné vlákno → neúplné, zakončeno krátkou RNA

- 7 genotypů (A-G), u nás A, jinde v Evropě i D a G
- virové proteiny : 1) nukleokapsidový - dřevový Ag – HBcAg → nezbytný pro sestavování virionu, integrální součást nukleokapsidy → není v séru, jen v nakažených bb

2) HBeAg → uvolňován z buňky, koluje v séru → potlačuje imunitní reakci vůči viru

3) HBsAg (ze 3 proteinů S, M(pre-S2), L(pre-S1))

S+M → kulovité, vláknité částice → ve velkém množství kolují

v krvi

Oba pre-S → přilnutí virionu k hepatocytu

4) nestrukturální proteiny : a) protein Pol (virová

polymerasa) → zahájení syntézy záporného vlákna DNA, reverzní transkriptasa

b) protein HBx → Ca do cytoplasmy,

transkripce v buněč. jádře, replikace HBV

-antigenní struktura HBsAg : protein S → 3 determinanty:

1) a → společná pro všechny podtypy HBV, Ab proti ní protekční, neutralizují účinnost viru

2) d nebo y

3) w nebo r

→ kombinace těchto determinant → 9 subtypů

(ayw1,2,3,4, ayr, adw2,4, adrq → protilátky proti subtypům nejsou protekční

(adw-homosex, ayw-i.v. narkomani)

-množení viru → vazba na receptor hepatocytu → uvolní se nukleokapsida → genom do jádra → v jádře neúplně dvojitě vlákenná DNA dotvořena → kovalentně uzavřenou cirkulár. DNA → působí jako virový minichromosom → DNA pomocí RNA polymerasy přepisována do čtyř sad různě velkých molekul RNA → translaci vir.

proteiny + největší pregenomová RNA-pgRNA (matrice pro reverzní transkripci vir.

genomu) → pgRNA + polymerasa + HBcAg (vytváří nukleokapsidu → enkapsidace

pgRNA → uvnitř nové nukleokapsidy reverzní transkripce genomu na minus-vlákno DNA → neintegruje se do buněčného genomu → zralé nukleokapsidy do jádra → DNA z nich uvolněná zvyšuje jadernou zásobu až na 20 kopií na buňku → později pučí do ER- → získávají povrchové Ag obalu → transport do Golgiho aparátu → další modifikace → nové zralé viriony exportovány z buňky (bez rozpadu buňky)

-mutanty HBV : DNA → RNA → DNA --- → na tento proces není dostatek opravných mechanismů → vzniká velké množství mutací

1) známá mutanta : precore-mutanta → mutace v oblasti promotoru HBc → potlačena tvorba HBeAg

virulentnější, rezistn. k IF, častější fulminantní průběh inf.

2) mutace týkající a-determinanty HbsAg → náhrada glycinu argininem → antigenní varianta G145R → stabilní → v budoucnu vystřídá HBV

3) mutanty rezistentní na lamivudin → citlivé na adefovir

-onkogenita : chron. inf → cirhosa → hepatocelulární ca

(poškození jater po inf+ chron. aktivní regenerace hepatocytů → buňky hepat → zvýš. schopnost proliferace)

-kultivace viru : rutinní není možná

-patogeneze : ID (necelé 3 měs.) → ve vzniku chorobných příznaků převládá imunit. reakce hostitele

- virus se množí pouze v hepatocytech → nakažena celá populace hepatocytů → v krvi 10^{10} /ml Daneových částic → ještě se neaktivuje imunit. sy → způsobuje HbeAg (působí imunopres.) → 7 tý – 3 měs. až příznaky: Tc- → cytokiny typu IF, TNFalfa → potlačení množení viru + likvidace inf. hepatocytů → celk. příznaky + příznaky z poškození jater

- Ab anti HBs → odstranění viru z oběhu → imunokomplexy HBs + antiHBs → usazení v cévách a glomerulech → reakce pozdní přecitlivělosti

- Imunita nedostatečná → inf. chronická

- Patogenita : 1) akutní hepatitida : a) 75 % , děti 90 % - asympt.

b) abortivní forma - lehké onemocn. chřipk. typu,

dyspept. Rázu, lehce zvýš. hladiny jater. enzymů

c) anikterická - jaterní enzymy zvýšeny, ALT > AST

d) ikterická — žloutenka

e) fulminantní - jaterní selhání + smrt

2) asymptomatické nosičství – 10 % inf. → HBsAg → více než 6 měs.

3) chronická hepatitida - zá jater trvající déle než 6 měs

a) persistentní

b) aktivní → jaterní cirhosa → hepatocelulární ca

(do chron. → téměř všechny inf. novorozenců)

- terapie : u chron. → alfa IF, lamivudin, adefovir, entecavir

- epidemiologie : Asie, Stř. Východ, Afrika, okolo Amazonky

: zdroj : člověk → parenterál., pohl. styk, porod

- prevence : vyšetř. Dárců krve, vakcinace (rekombinantní vakciny obs. HbsAg

: poranění zdravotníků : specif. Ig

- dg : akutní inf : HBsAg, HBeAg, anti-HBcAg (IgM)

: rekonvalescence : vymizí HBsAg, HBeAg, anti-HBs, anti-HBc (IgG), anti-HBe

: uzdravení : anti – HBs

: replikace : HBe (vysoká inf. pacienta)

PCR – DNA → monitorování hladin vir. DNA po protivirové terapii

HBs Ag	IgM anti-HBc	celková anti-HBc	anti-HBs	
+	-	-	-	zcela čerstvá inf.
+	+	+	-	čerstvá inf v posl. 6 měs.
-	+	+	+/-	nedávná aktivní inf. s uzdravením
+	-	+	-	chron. inf.
-	-	+	+	uzdravení po inf
-	-	-	+	očkování

KULTIVACE

TKÁŇOVÉ KULTURY

1. Primární kultury

- přímo z tkání nebo orgánů lidí a zvířat
- mají stejný počet chromozomů jako buňky orgánu, tkáně, odkud jsou získány
- ***jen pasáž 1***
- množí se pouze na pevném podkladě, nemnoží se v suspenzi
- nerostou ve vrstvách na sobě
- po implantaci zvířatům nevyvolávají bujení
- mohou se užít k výrobě vakcín
- nevýhodou : mohou být infikovány viry, které se latentně vyskytovaly u zvířete (např. opičí viry na opičích ledvinných buňkách)
- ***MK-2(buněčná linie opičích ledvin)-enteroviry, chřipka, parachřipka, parotitis, HSV, variola, vakcinie, RSV, kuřecí embryonální fibroblasty, buňky králíčích ledvin, buňky lidských embryonálních ledvin***

2. Sekundární kultury

- aby bylo víc buněk
- množení z primárních buněk
- ***2. pasáž buněk***

3. Diploidní kmeny

- zachovávají si **diploidní karyotyp** normálních buněk
- lze udržovat několik desítek pasáží, pak lyzují
- množí se jen na pevném podkladu
- nevyvolávají nádory
- **lidské embryonální plíce – LEP** –enteroviry, adenoviry, HSV, VZV, CMV, vakcinie, v rolleru při 33 C –rhinoviry

4. Trvalé buněčné linie

- odvozeny od normální nebo nádorové tkáně
- mají nepravidelný počet chromosomů
- množí se i v suspensi
- rostou v několika vrstvách po sobě
- dají se nekonečně pasážovat
- mají charakter nádorových buněk
- po implantaci vyvolávají nádorové bujení, nesmějí se užít k výrobě vakcín
- diploidní výbava se na heteroploidní mění pomocí karcinogenů, SV 40
- **HEP-2 (z epidemoid. ca)**-enteroviry, HeLa(ca čípku)-adenoviry, HSV, některé enteroviry, VERO(z ledvin opice), RD(z rhabdomyosarkomu)-enteroviry
-
-

5. Orgánové kultury

- celé fragmenty orgánů in vitro
- nemnoží se
- zachovávají si charakteristické funkce-respirační sliznice-pohyb řasinek

6. Geneticky modifikované tkáně

- **L20B (geneticky modifikované myší buňky s receptorem pro lidský poliovirus)**
-enteroviry

Příprava tkáňových kultur

-tkáňově myté sklo- mechan. očištěné, oplachováno ve vodě obyčejné, pak destilované, pak deionizované

-příprava buněk :trypsinem(rozvolňuje buňky) se působí na drobné fragmenty tkání, připravené šetrným rozstříháním (plíce, ledviny)

-živná média pro tkáňové kultury-pufrované solné roztoky + glukosa+AK + vitam.+ růstové fa+ indikátor pH(fenolová červen-metabolizující buňky vytváří kyselé produkty, červená barva se mění ve žlutou)

(nejznámější –Parkerovo – médium 199, Eaglovo minimální esenciální (MEM)- komerčně dodávané jako koncentráty

- přidání ATB(PNC,GENTA)+ někdy i antimykotika(amfotericin)

-přidání 2-10 % telecí sérum (na nasazení potřebuje 10% médium, po očkování 2 %)

-příprava média v NRL pro enteroviry:

a. růstové 10 % médium- 40 ml MEMu+ 360 ml deionizované sterilní vody +8 ml roztoku ATB, 40 ml prekolostrálního séra, 4 ml NaHCO 3

b. udržovací 2 % médium – 40 ml MEMu + 360 ml deionizované vody + 8 ml ATB+4 ml NaHCO₃ + 8 ml telecího prekolostrálního séra

-nasazení buněk : buňky nasazujeme na Mullerovy lahve, případně na umělohmotné sterilní lahve. Na 1 mullerku přijde asi 3 mil. buněk a 5 ml 10% média. Nejdříve vypočítáme, kolik mil. buněk je v 1 ml buněčné suspenze (např. 117 mil. buněk v 12 ml buněčné suspenze, tzn. $117:12=9$, takže v 1ml buněčné suspenze je 9 mil. buněk). Dále počítáme potřebné množství buněk na všechny mullerky (např. 5 mullerek, tzn. na 1 mullerku 3 mil buněk, tak na 5 mullerek bude potřeba 15 mil.) Potřebné množství buněčné suspenze získáme, když vydělíme potřebné množství buněk na všechny mullerky množstvím buněk v 1 ml (např. $15:9=1.6$). Dále na jednu mullerku potřebujeme 5 ml 10% média (např. 5 ml média x 5 mullerek=25 ml 10% média je potřeba na 5 mullerek). Nyní odečteme od množství potřebného 10% média množství potřebné buněčné suspenze (např. 25 ml – 1,6 ml buněčné suspenze=23,4 ml, takže v tomto případě k 1,6 ml buněčné suspenze musíme přidat 23,4 ml 10 % růstového média). Suspenzi pořádně promícháme, aby se buňky rovnoměrně promísily a pak na každou mullerku dáme 5 ml suspenze. Nasazené lahve umístíme do termostatu při + 37C. Růst buněk trvá 48 hodin, což zkontrolujeme pomocí mikroskopu.

-suspenze buněk po nasazení v médiu sedimentuje, buňky se uchycují na povrchu nádoby, proliferují a vytvářejí souvislý povrch-**monolayer**

-infikování buněk novým materiálem : Z mullerek odsajeme 10% růstové médium. Na buňky dáme 0,2 ml nového materiálu, vyj. stolice, kde dáme 0,5 ml materiálu. Materiál necháme absorbovat 30 min při laboratorní teplotě. Výjimkou jsou opět stolice, které odsajeme z láhví. Ostatní materiály se neodsávají. Do všech lahví se přidá 5 ml 2% udržovacího média. Naočkované lahve uložíme do termostatu při 37 C.

-denně prohlížíme mullerky pod inverzním mikroskopem. Buňky, v nichž se pomnožil virus se mění. Tomuto jevu říkáme **cytopatický efekt (CPE)**.

CPE pikornavirů : přítomnost drobných zakulacených buněk, silně světlolomných, které hynou a odpadávají od stěny zkumavky, tím se médium stává alkalickým a červená až zfaloví na rozdíl od žloutnoucího média v kontrolních nenačkovaných kulturách.

CPE adenovirů : vznik větších, shlukujících se buněk, které silně metabolizují a tím médium okyselují.

CPE RSV a parainfluenzy: obrovské mnohojaderné útvary, tzv. syncyia

CPE poxvirů : ložiskové CPE

CPE herpesvirů : nepravidelně zaokrouhlené buňky, nevelká syncyia, větší kulaté balonovité buňky

-jakmile se **objeví CPE**, použijeme tekutinu z tkáňových kultur **k dalším pasážím a testům**. Pokud zůstanou **buňky nezměněny**, pokusíme se o **jednu až dvě slepé pasáže**

-některé viry se tkáňových kulturách množí, ale **nedělají CPE**, zjistíme je **hemadsorpcí** nebo **interferencí**.

-hemadsorpce : ve zdánlivě nezměněných buňkách se pomnožil hemadsorpční virus, buňky pak adsorbují na svůj povrch erythrocyty. K podezřelé kultuře tedy přidáme suspenzi ery a po inkubaci v lednici sledujeme, zda se ery nenachytaly na povrch některých buněk

chřipka, parachřipka, parotitida → k bližšímu určení se použije známé antisérum v testu **zábrany hemadsorpce**

-interference : jev, kdy jeden virus brání množení druhého. Projeví se např. tak, že zdánlivě normální kultura, v níž se pomnožilo necytopatogenní interferující agens(např. Virus zarděnek), se ukáže být rezistentní k pozdější infekci jiným, spolehlivě cytopatickým virem ECHO 11

-identifikace : elektronový mikroskop

- imunofluorescence
- ELISA

molekulárně biologicky
neutralizační test

Přehled vzorků k virologickému vyšetření

Odpadní vody

Výtěry z krku, nosu, moky, výpotky z kolene → můžeme rovnou očkovat

Stolice → odebrat vzorek velikosti lískového ořechu

+ 10 ml PBS + 0,5 ml ATB + 1 ml chloroformu (na vychytání mastnoty) → do třepačky na 20 min (aby vznikla suspenze) → centrifugace 20 min, 2000 ot./min → supernatant se odsaje a centrifuguje 20 min, 2000 ot. → výsled. supernatant se očkuje na TK