

ÁLTALÁNOS VIROLÓGIA

semmelweis.hu/mikrobiologia

Prof. Dr. Ádám Éva D.Sc.

Vírusok megjelenési formái

VIRION: sejten kívüli részecske

VEGETATÍV VÍRUS: replikatív forma

DEFINÍCIÓ: a vírus *nem sejtes* fertőző ágens, amely csak *élő, fogékony sejtben* képes *replikálódni*

„Infektív genetikai információ”

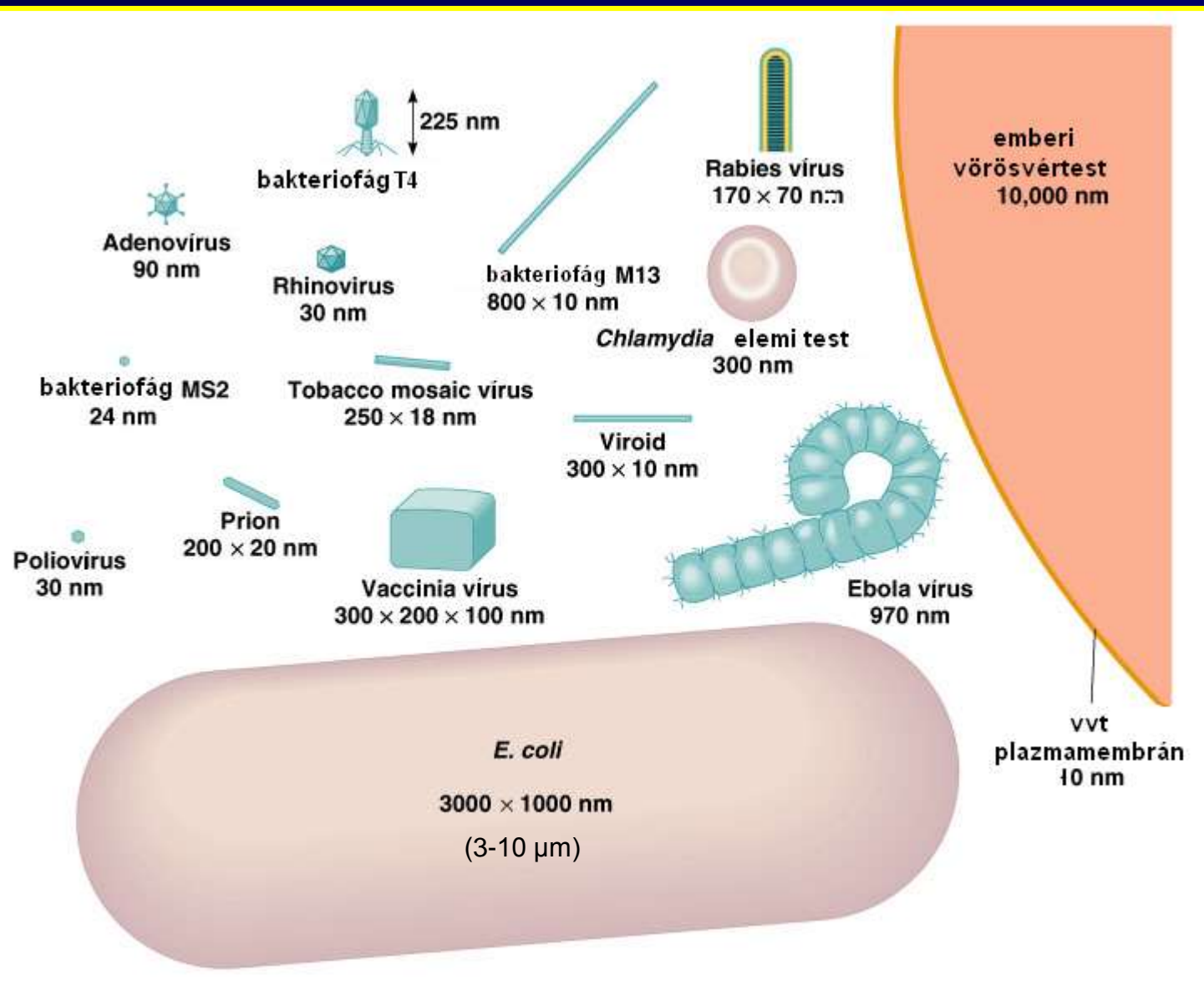
„Fehérjeburokba zárt géncsoport”

„Genetikai parazita”

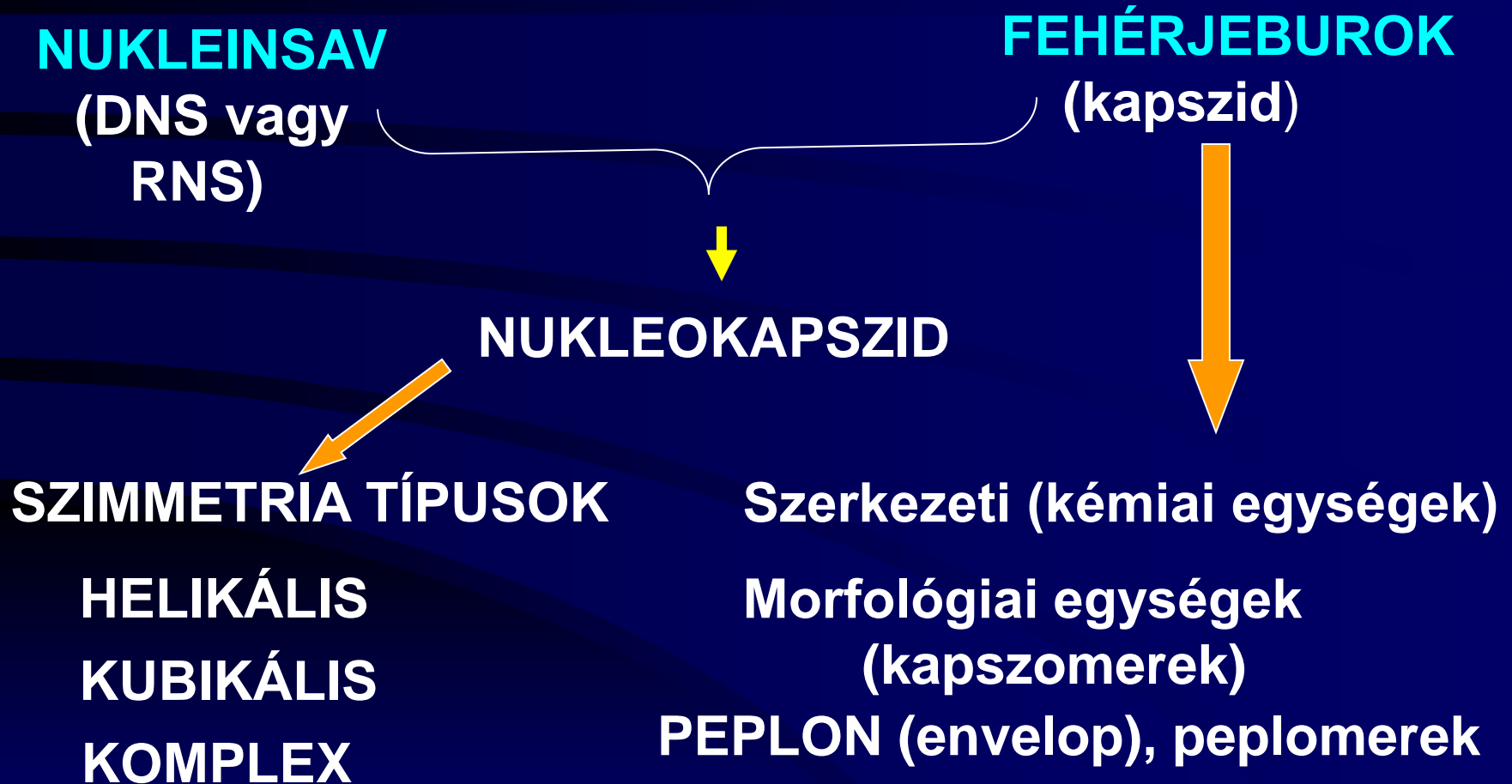
„Autonóm extrakromoszomális elem”

„A VÍRUS AZ VÍRUS” (Lwoff)

A VÍRUSOK MÉRETE

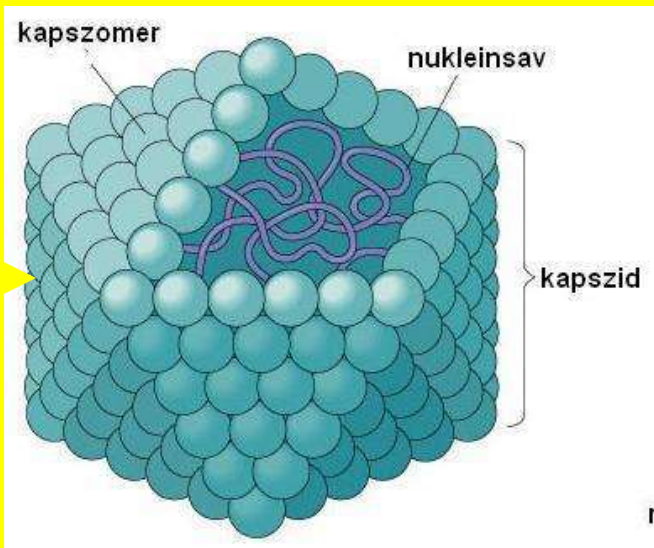


A VIRION SZERKEZETE

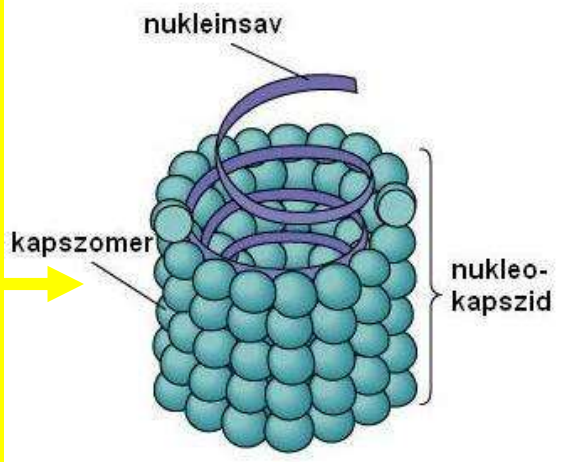


Kapszid

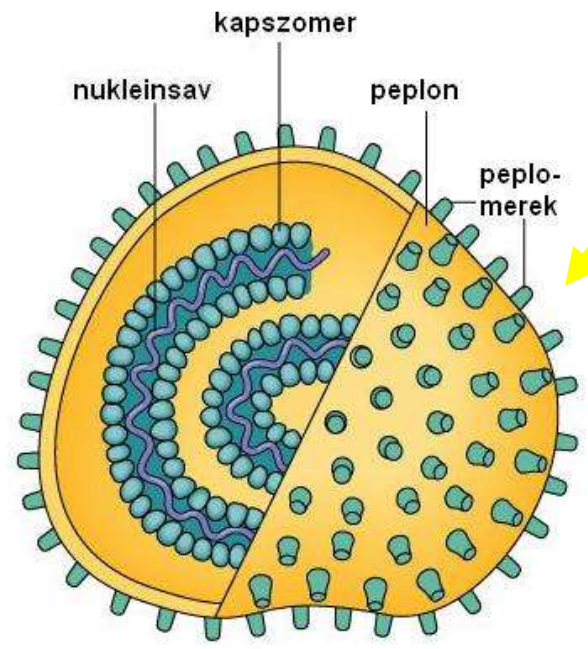
**Kubikális
(ikozahedrális)**



Helikális

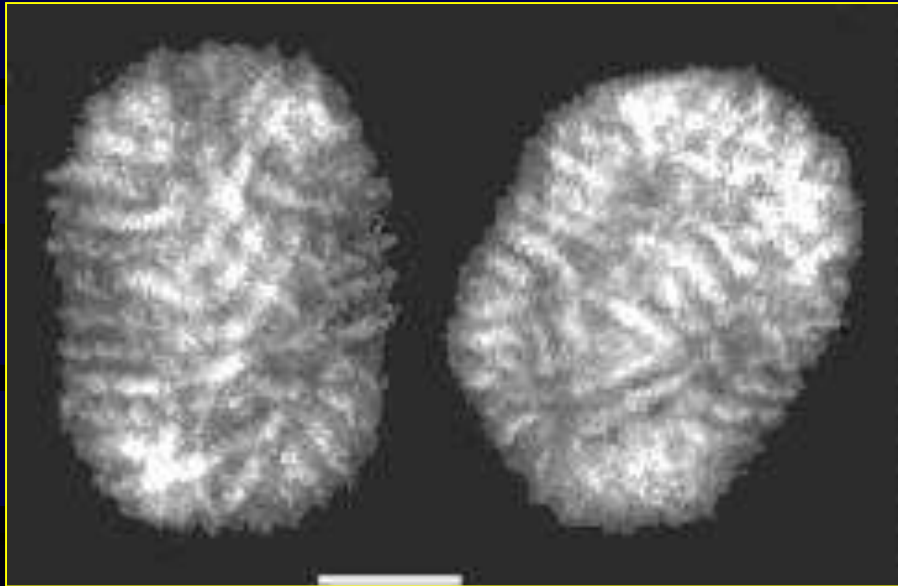


**Burkos
helikális**

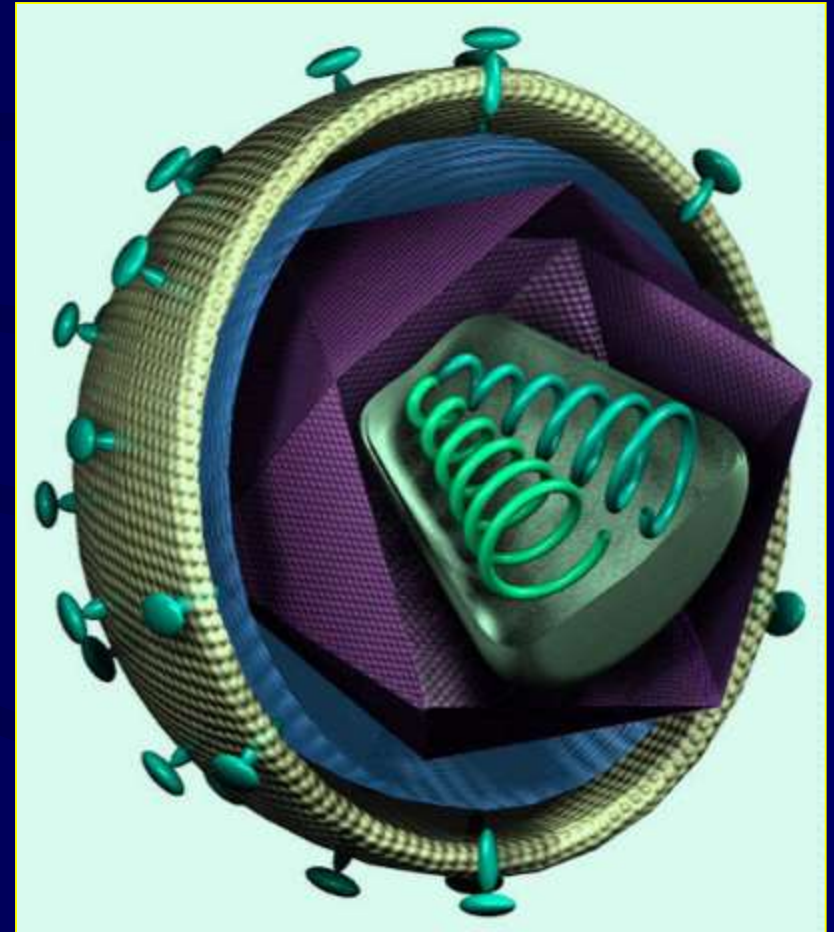


Komplex

Poxvírus (EM)



HIV



A VÍRUSOK KÉMIAI ÖSSZETÉTELE

FEHÉRJÉK

KORAI (inhibitorok, enzimek)

KÉSŐI (belső: core, DNS-kötő

enzimek: polimeráz, ligáz, neuraminidáz,
foszfatáz, kináz

struktúr: kapszid)

NUKLEINSAV (DNS vagy RNS)

egyszálú (pozitív-negatív) - kétszálú

cirkuláris - lineáris

egy molekula - több molekula (azonos - eltérő)

Szénhidrátok (glikoproteinek) és **lipidek** (peplonban vagy kapszidban)

VÍRUSOK RENDSZEREZÉSÉNEK KRITÉRIUMAI

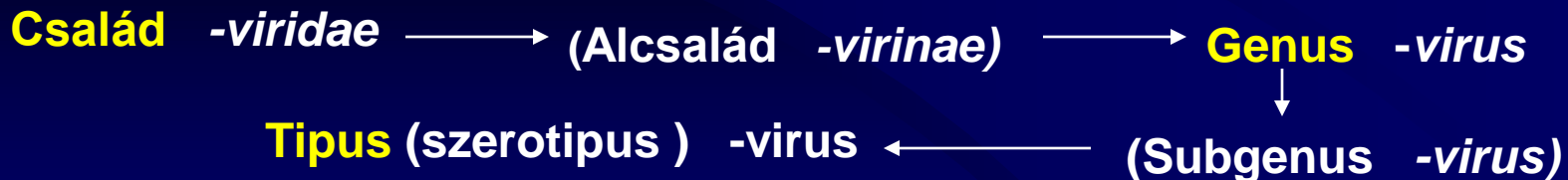
DNS vagy RNS

KAPSZID SZIMMETRIA

KÜLSŐ BUROK (PEPLON)

KAPSZOMEREK SZÁMA vagy a NUKLEOKAPSZID
ÁTMÉRŐJE

Specifikus enzimek, éter érzékenység, immunológiai tulajdonságok, átvitel, gazda-, szövet-, sejtotropizmus, zárványok, tünettan



VÍRUSOK TENYÉSZTÉSE

Csak **élő, fogékony** sejtben

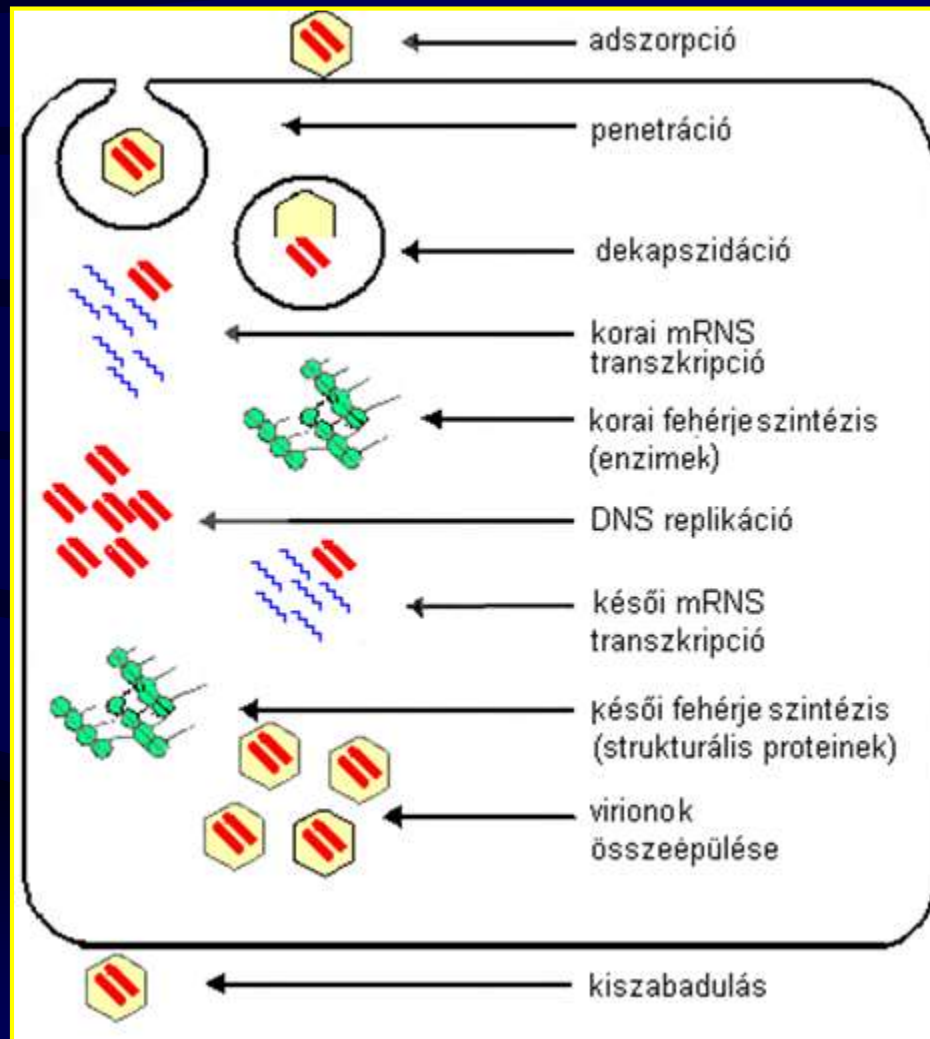
1. kísérleti állat: újszülött, felnőtt (egér, majom, gyapotpatkány, hörcsög, stb.)

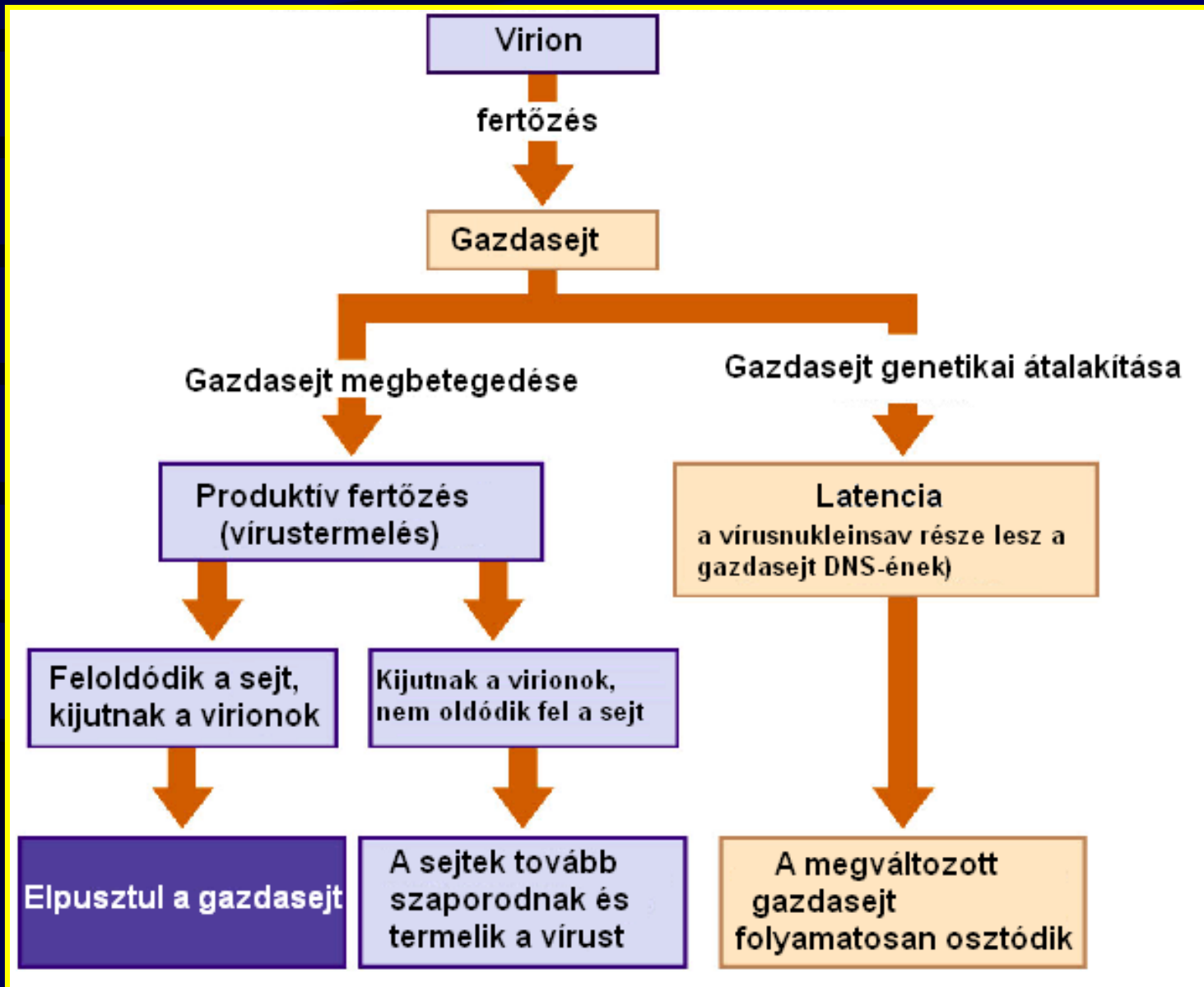
veszélyek: az állat váladékaival üríti a vírust, idegen kórokozók esetleges jelenléte (Marburg vírus, SV-40)

2. embrionált tojás

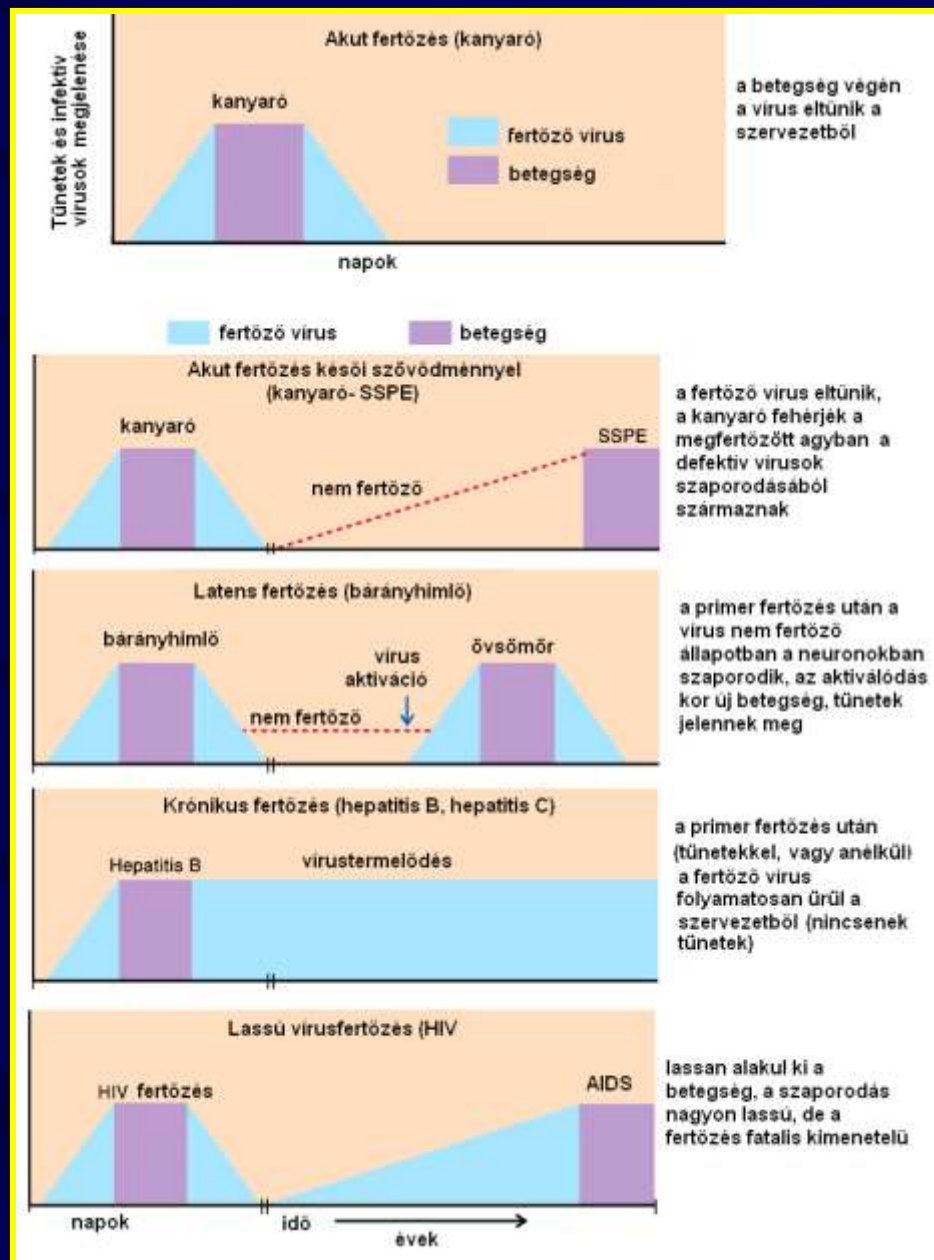
3. sejt- vagy szövettenyészet (különböző eltávolított szervekből, primer és permanens sejttenyészetek, szuszpenziós, vagy rögzített kultúrák megfelelő tápfolyadékban)

A VÍRUSOK SZAPORODÁSÁNAK SZAKASZAI





VÍRUSFERTŐZÉSEK OKOZTA MEGBETEGEDÉSEK LEHETSÉGES LEFOLYÁSAI



BAKTERIOFÁGOK

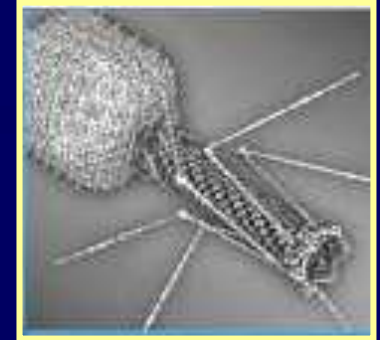
Görög: phagein (enni)



Felix D'Herelle,
a *Shigella* baktérium
fágjának felfedezője
(1917)



T4 farkos fág

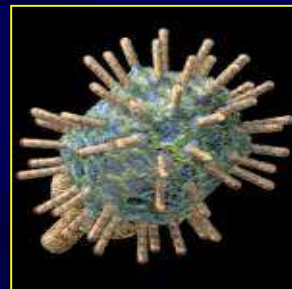


Copyright: CIMC

MORFOLÓGIA
(helikális, kubikális,
komplex)



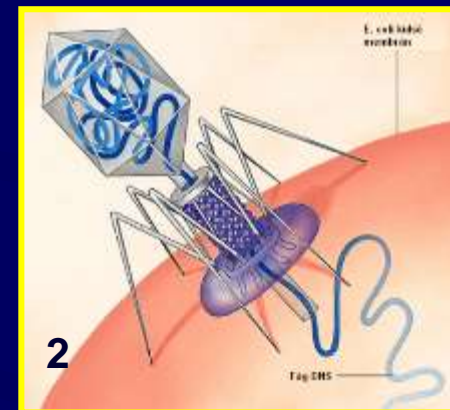
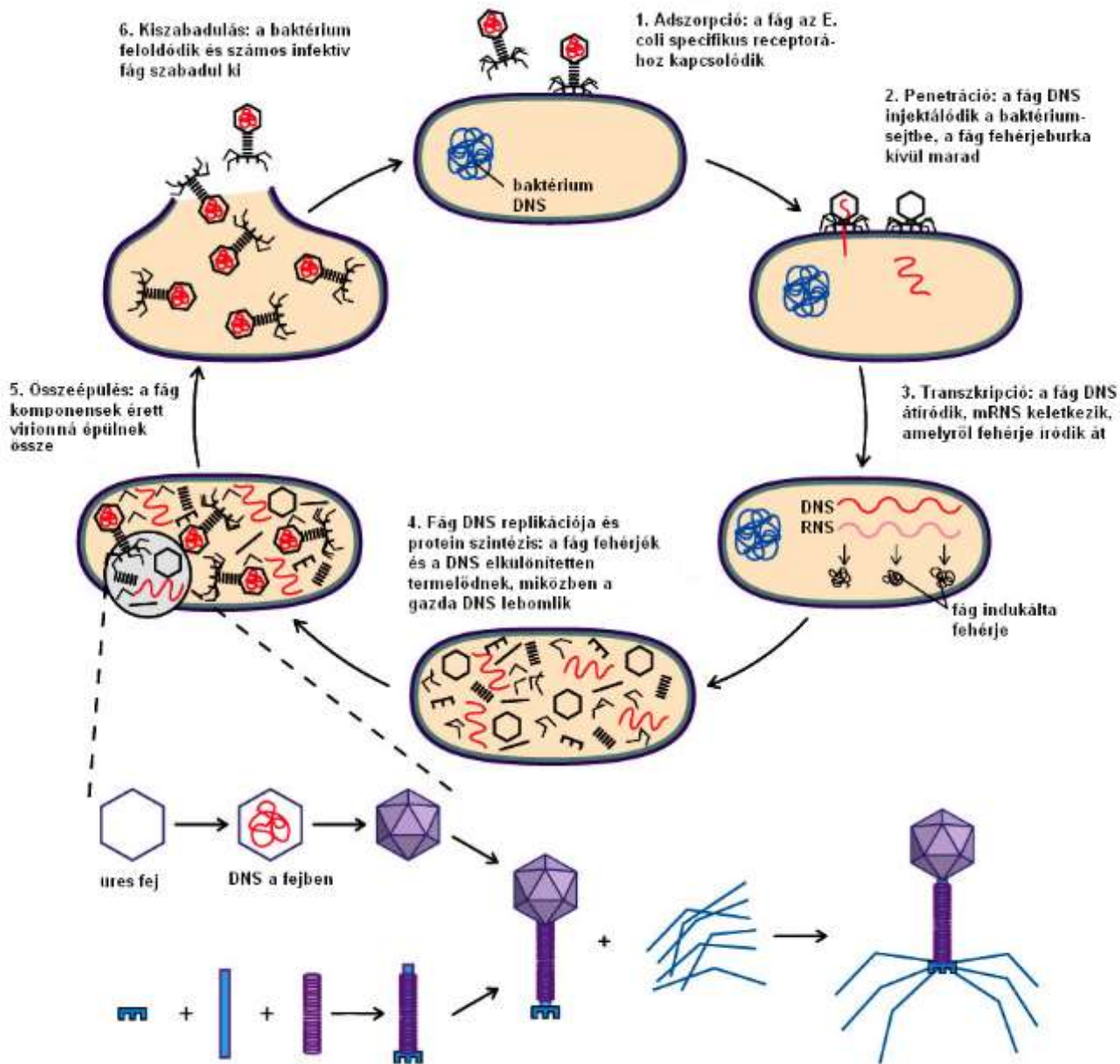
P22



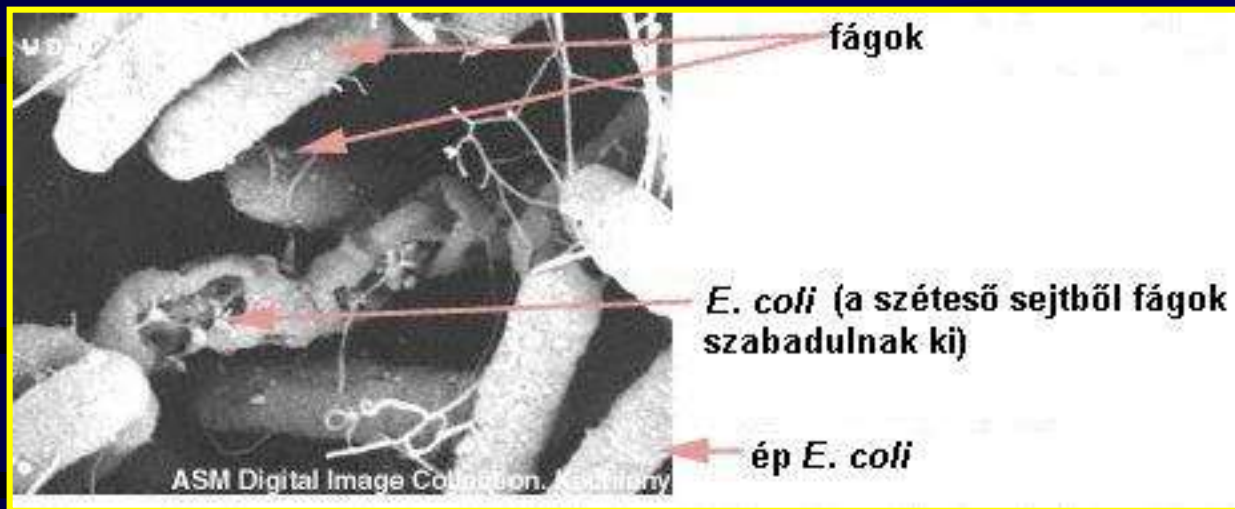
Phi29



Fonalas fág

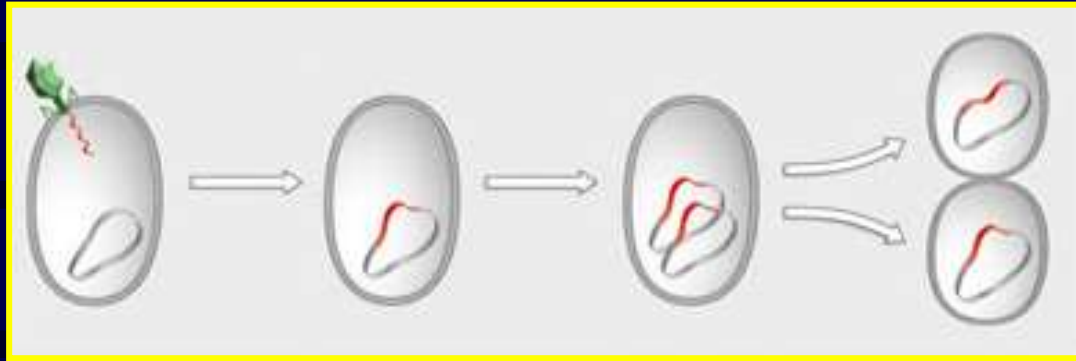


Fág-szaporodás: litikus ciklus



Felhasználás: fágtypizálás, fágter követés mintában (epidemiológiai vizsgálatok),
terápiás próbálkozások →
(Grúzia, USA 1920-, 30-as évek) ,
biotechnológia





Fág szaporodás: lizogén ciklus

TEMPERÁLT FÁG (replikációt irányító gén derepressziója → replikáció)
Lizogén konverzió (toxintermelés, R-gének)

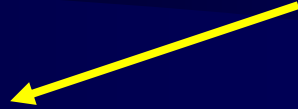
ANTIVIRÁLIS KEMOTERÁPIA

Prof. Dr. Ádám Éva DSc

KEMOTERÁPIÁS INDEX

a vírus replikációját gátló „drog” koncentrációja
a szervezetre toxikus „drog” koncentráció

Modern technológia - molekula tervezés
(de ehhez ismerni kell az „ellenséget”)



molekuláris biológia - a vírus szaporodásának és a
specifikus támadáspontoknak a megismerése

KÍVÁNALMAK

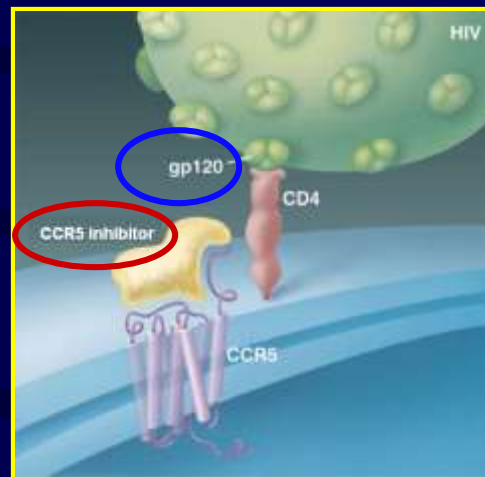
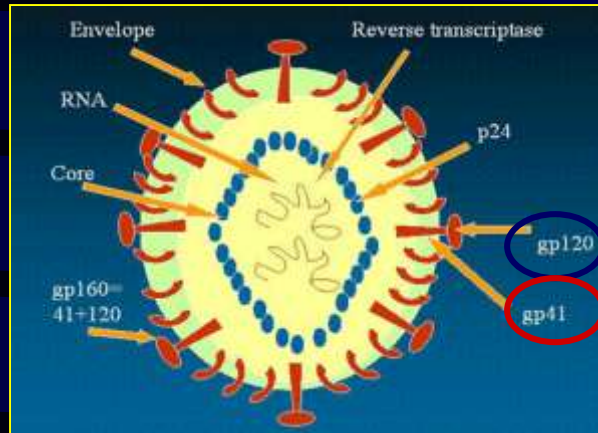
1. a gátolt folyamat esszenciális legyen a vírus számára
2. A szer elfogadható mértékben legyen csak toxikus a gazdaszervezetre

ADSZORPCIÓ GÁTLÁSA

Polianionos vegyületek (poliszulfátok, poliszulfonátok, polinukleotidok és negatív töltésű albumin) : kapcsolódnak a pozitív töltésű HIV gp120-hoz

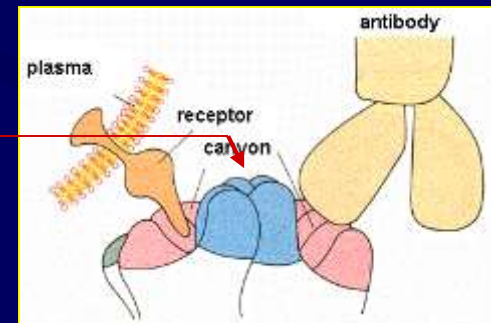
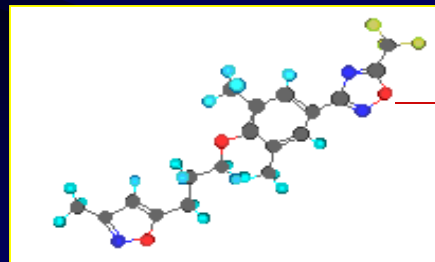
→ *nem tud kötődni a CD4-hez*

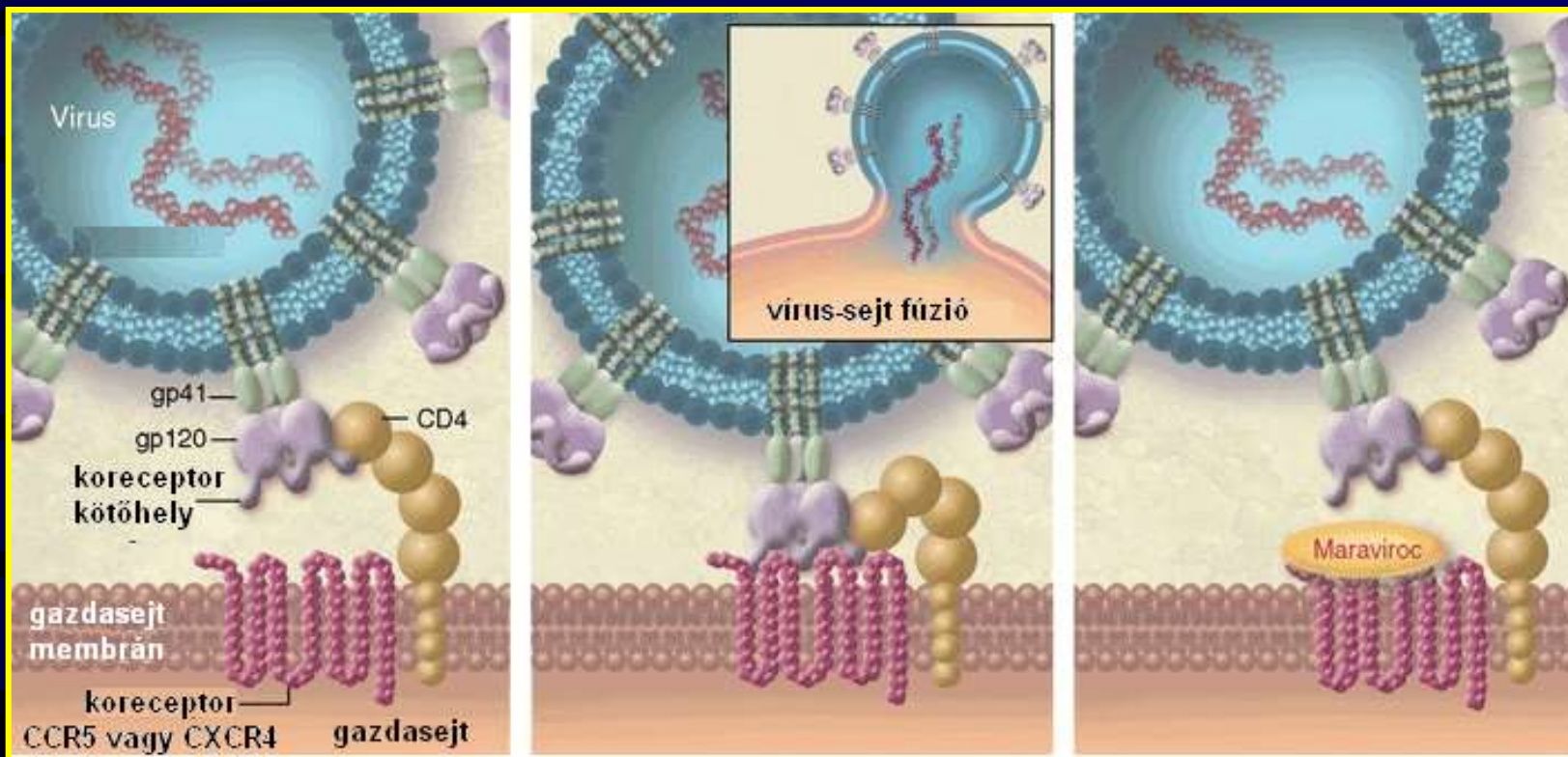
Kemokin receptorok szerepe a fúzióban



Kemokin receptor antagonisták: T20 vegyület (gp41 mediált fúziót gátolja)

Pleconaril (egyres enterovírus fertőzések)





HIV ko-receptor gátlása

PENETRÁCIÓ ÉS DEKAPSZIDÁCIÓ GÁTLÁSA

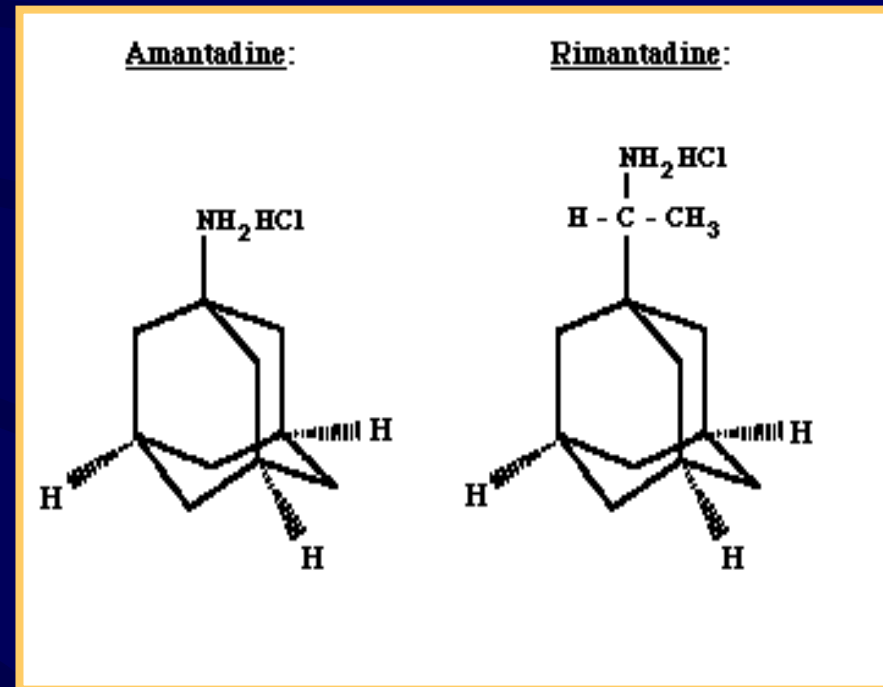
Viszonylag kevésbé ismert lépései a vírusszaporodásnak.

A *penetrációban* gyakran egy vagy több vírusfehérje is szerepet játszik.

A *dekapszidációt* nagyrészt celluláris enzimek segítik.

Influenza ellen aktív gyógyszerek
(valószínűleg a sejtmembrán
ioncsatornáit gátolják)

- mindkét szer támadáspontja a matrix protein (M2)
- a kezelt sejt nem képes csökkenteni endoszóma pH-ját, ami a hemagglutinin konformációs változásához (és a membrán fúzióhoz) szükséges



GENOM REPLIKÁCIÓ GÁTTLÁSA

Közvetlen gátlás: replikációjához szükséges specifikus polimerázok gátlása

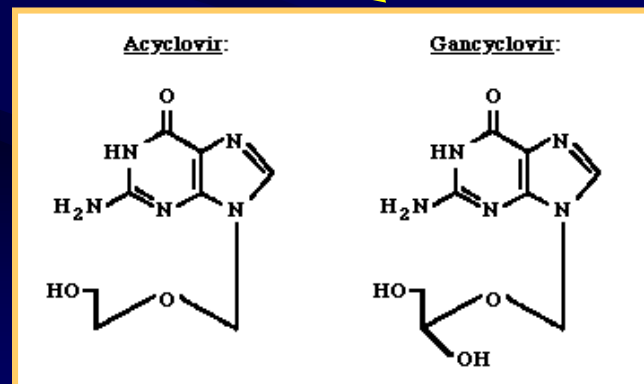
Közvetett gátlás: beépülés a nukleinsavba, láncterminals

POLIMERÁZ SZUBSZTRÁTOK (NUKLEOTID/NUKLEOZID ANALÓGOK)

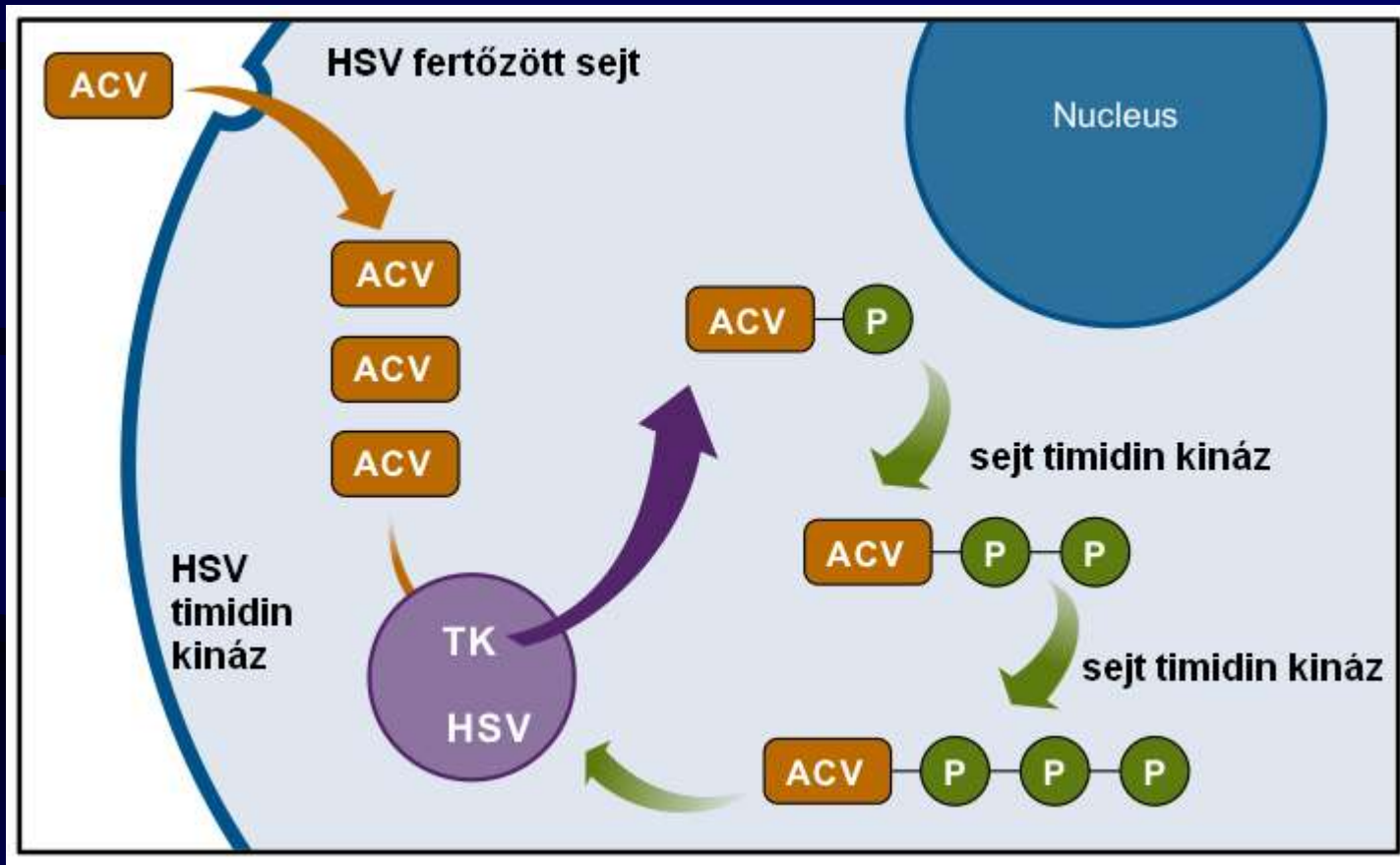
- enyhén (acyclovir) vagy erősen (IdU, AZT) toxikusak
- felezési idejük nagyon rövid (1-4 óra)
- pro-drogok: a hatásosághoz foszforilálódniuk kell

ACYCLOVIR: HSV 200 x hatásosabban foszforilálja, mint a sejt enzimek, és a sejt DNS polimeráz kevésbé érzékeny, mint a vírus DNS polimeráz.

GANCYCLOVIR: CMV fertőzésben 10 x hatásosabb, mint az acyclovir (CMV-kódolt kináz foszforilálja)

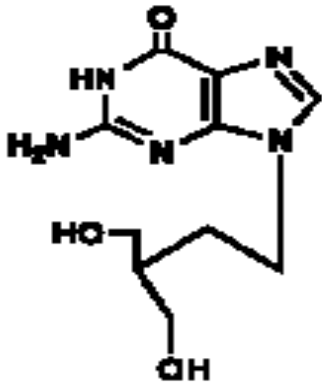


Acyclovir aktiválódása

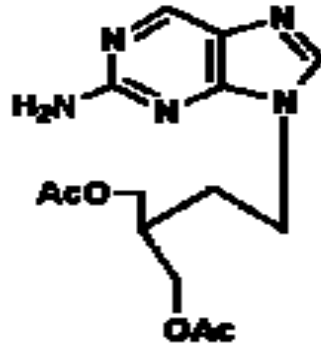


EGYÉB HSV-ELLENI NUKLEOZID ANALÓGOK

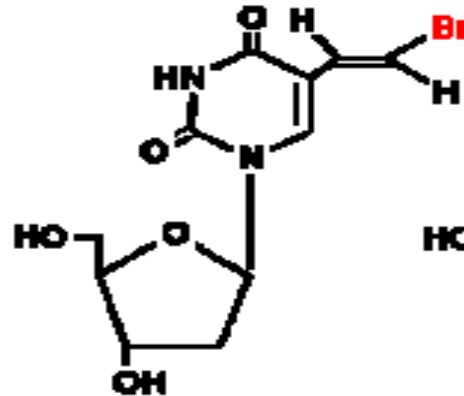
Penciclovir:



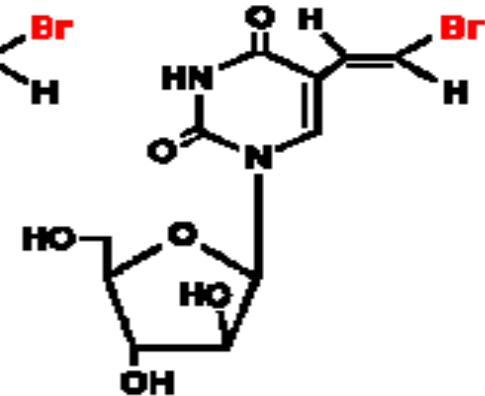
Famciclovir:



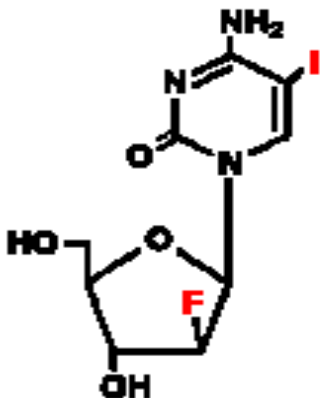
BYDU:



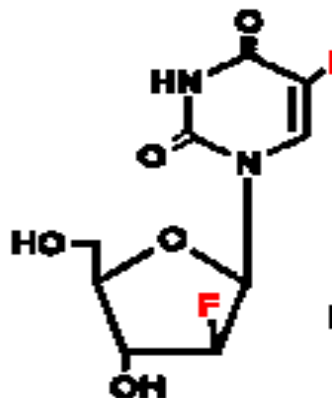
Broavir:



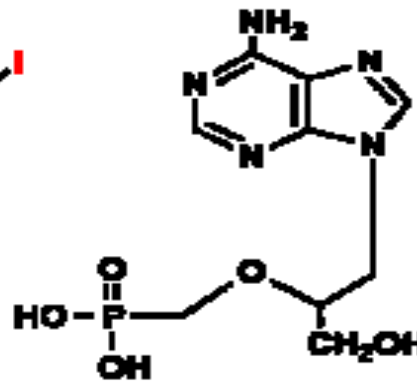
FIAC:



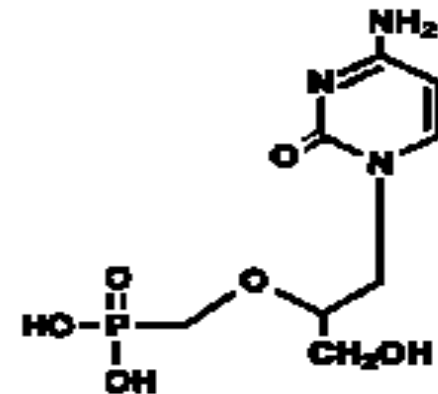
FIAU:



(S)-HPMPA:

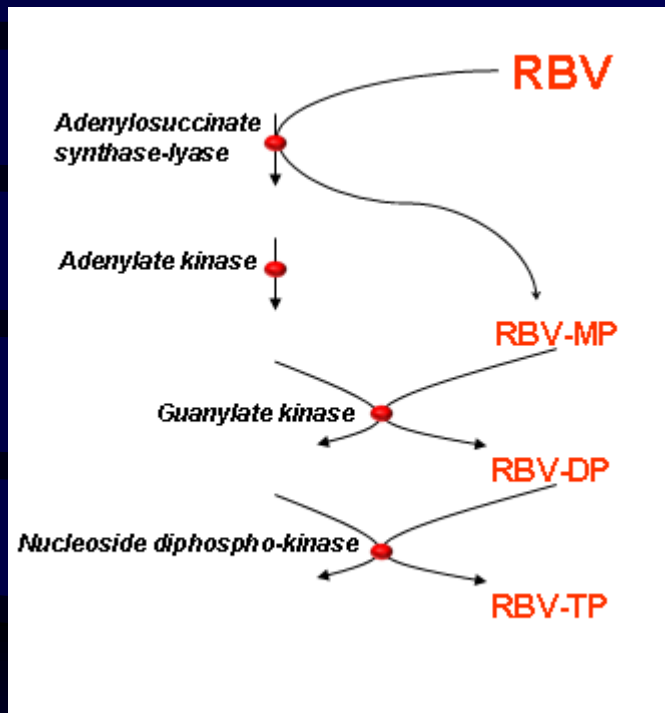


(S)-HPMPC:



Ribavirin (purin prekursor analóg)

- intracelluláris foszforiláció után gátolja az RNS polimerázt



- hatásos Lassa- és hantavírus fertőzésekben
- terápiás értékű csecsemő- és kisgyermekkorú súlyos RSV fertőzésekben
- HCV fertőzésben interferonnal kombinálva

HIV FERTŐZÉSEK TERÁPIÁJA

NUKLEOZID ANALÓG REVERZ TRANSZKRIPTÁZ

GÁTLÓK: a virális RNS-dependens DNS polimerázt gátolják és beépülnek a vírus DNS-be (láncterminátor drogok)

Zidovudine (AZT, ZDV, Retrovir, 1987),
Didanosine (ddl, Videx),
Staduvine (d4T, Zerit)

Zalcitabine (ddC, Hivid)
Lamivudine (3TC, Epivir)

NEM NUKLEOZID ANALÓG REVERZ TRANSZKRIPTÁZ

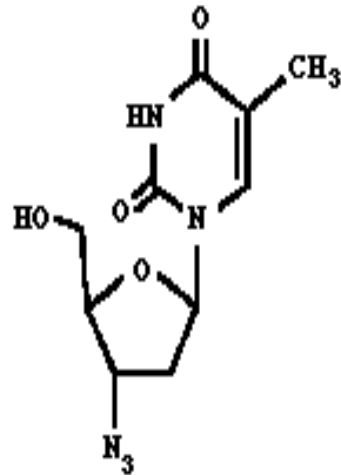
GÁTLÓK: nem épülnek be a virális DNS-be, a HIV replikációt a reverz transzkriptázhoz kötődve gátolják

Delavirdine (Rescriptor)

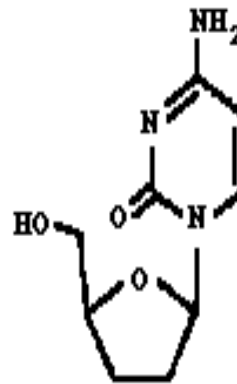
Nevirapine (Viramune)

HIV ELLENI NUKLEOZID ANALÓGOK

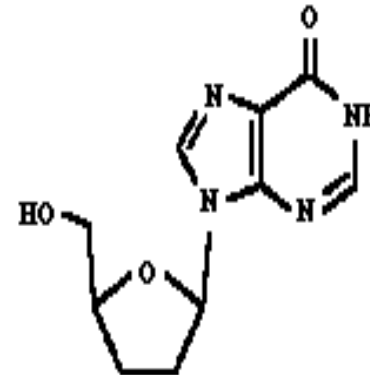
AZT:



ddC:



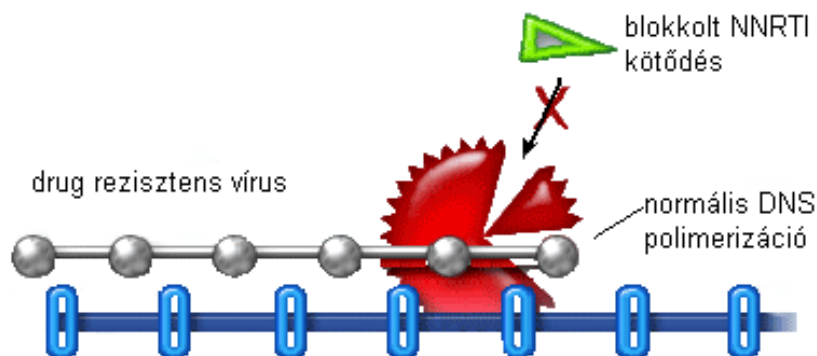
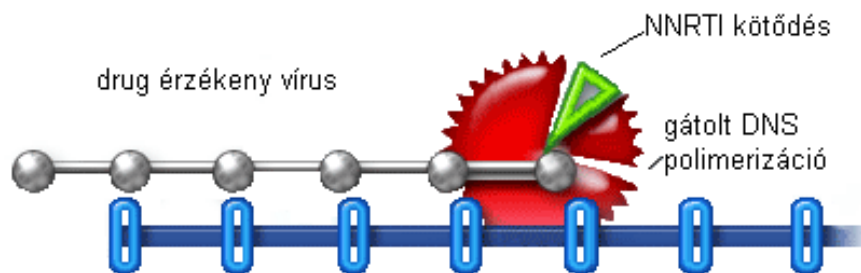
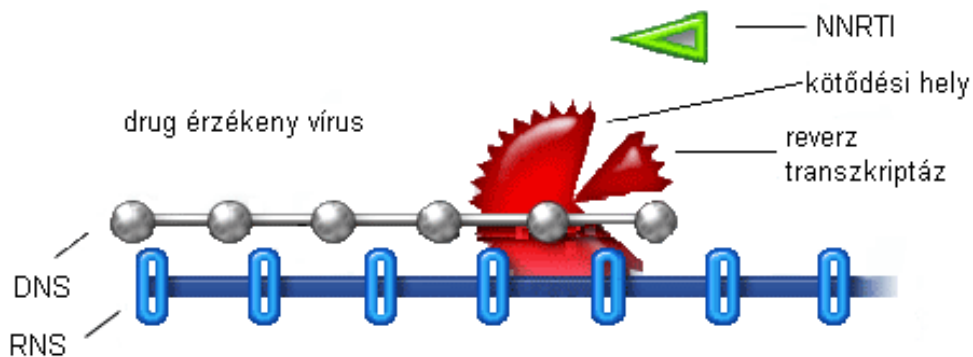
ddI:



• láncterminátorok

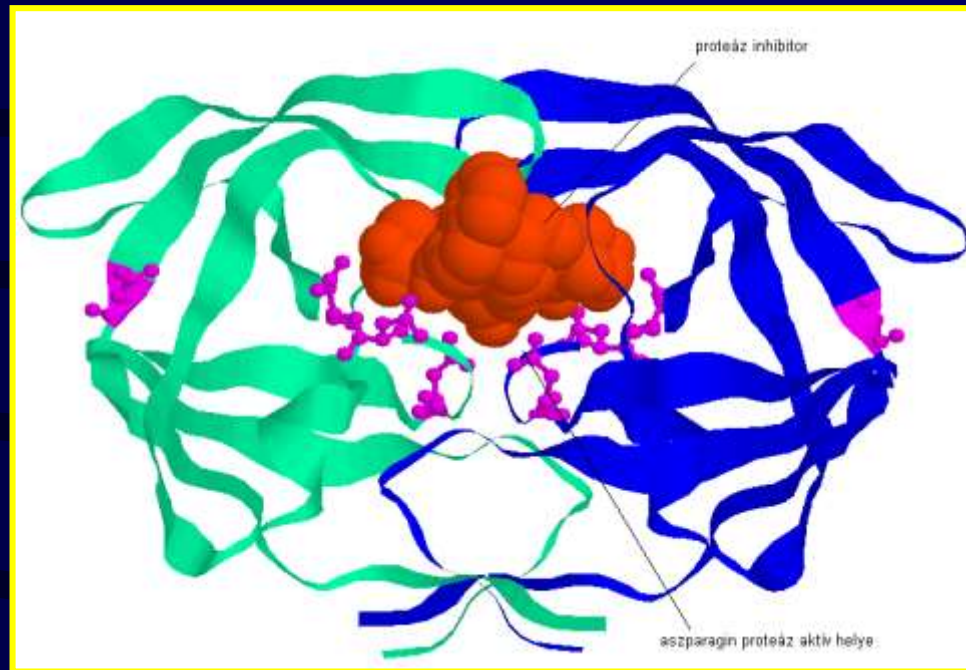


Nem nukleozid-analóg reverz transzkriptáz gátlók hatásmechanizmusa



NNRTI: nem nukleozid analóg reverz transzkriptáz gátló

PROTEÁZ GÁTLÓK : HIV-1 proteáz kompetitív gátlása



- gátolják a vírus érését

Saquinavir (Invirase, SQV, 1995) ,
Indinavir (Crixivan, IDV),
Amprenavir (Agenerase)

Ritonavir (Norvir, RTV)
Nelfinavir (Viracept, NFV)

HAART (Highly Active Anti-Retroviral Therapy)

- **Reverz transzkriptáz inhibitorok kombinációja**
(ZDV+ddl, ZDV+ddC, d4T+ddl, ZDV+3TC, d4T+3TC)
- **Reverz transzkriptáz inhibitorok kombinációja proteáz gátlókkal**
(ZDV+ddl+IDV, d4T+ddl+NFV, ZDV+ddC+RTV,
ZDV+3TC+RTV+SQV)

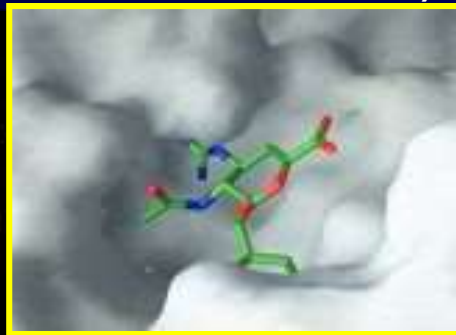
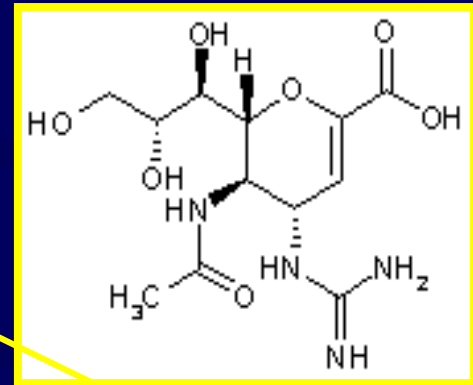
Nem javasolt kombinációk: d4T+ZDV, ddC+ddl, ddC+d4T, ddC+3TC

INFLUENZA ELLENI SZEREK

Sziálsav (N-acetilneuraminsav) analógok

influenzavírus neuramidináz szelektív gátlása (kiszabadulás gátlása, a vírusok egymáshoz és a fertőzött sejtek membránjához tapadnak, nem jön létre a virémia)

ZANAMIVIR (Relenza): a neuraminidáz aktív centrumához kötődik (inhalációs alkalmazásnál a behatolási kapuban halmozódik fel)



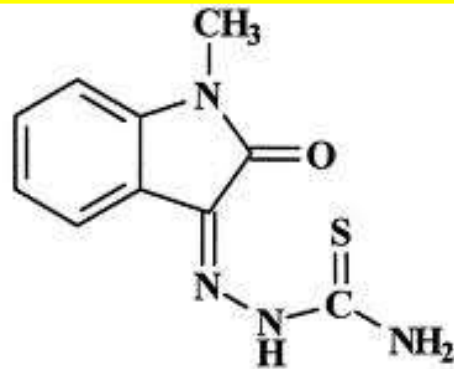
OSELTAMIVIR (Tamiflu):

prodrug (foszfát-etilészter), amelyet a máj eszteráz enzimek alakítják osetamivir karboxiláttá (hidrolízis)



ÖSSZEÉPÜLÉS, ÉRÉS, KISZABADULÁS GÁTLÁSA

- Kevéssé ismert lépések
- Marborán : fekete himlő kemoprofilaxis



N-methylisatin 3-thiosemicarbazone



INTERFERON/OK

- Vírus szaporodással interferáló glikoproteinek
- IFN- α : α -interferon (20 altípus), különböző sejttípusok
- IFN- β : β -interferon (2 altípus), fibroblast és makrofág sejtek
- IFN- γ : γ -interferon (3 altípus), T-limfociták

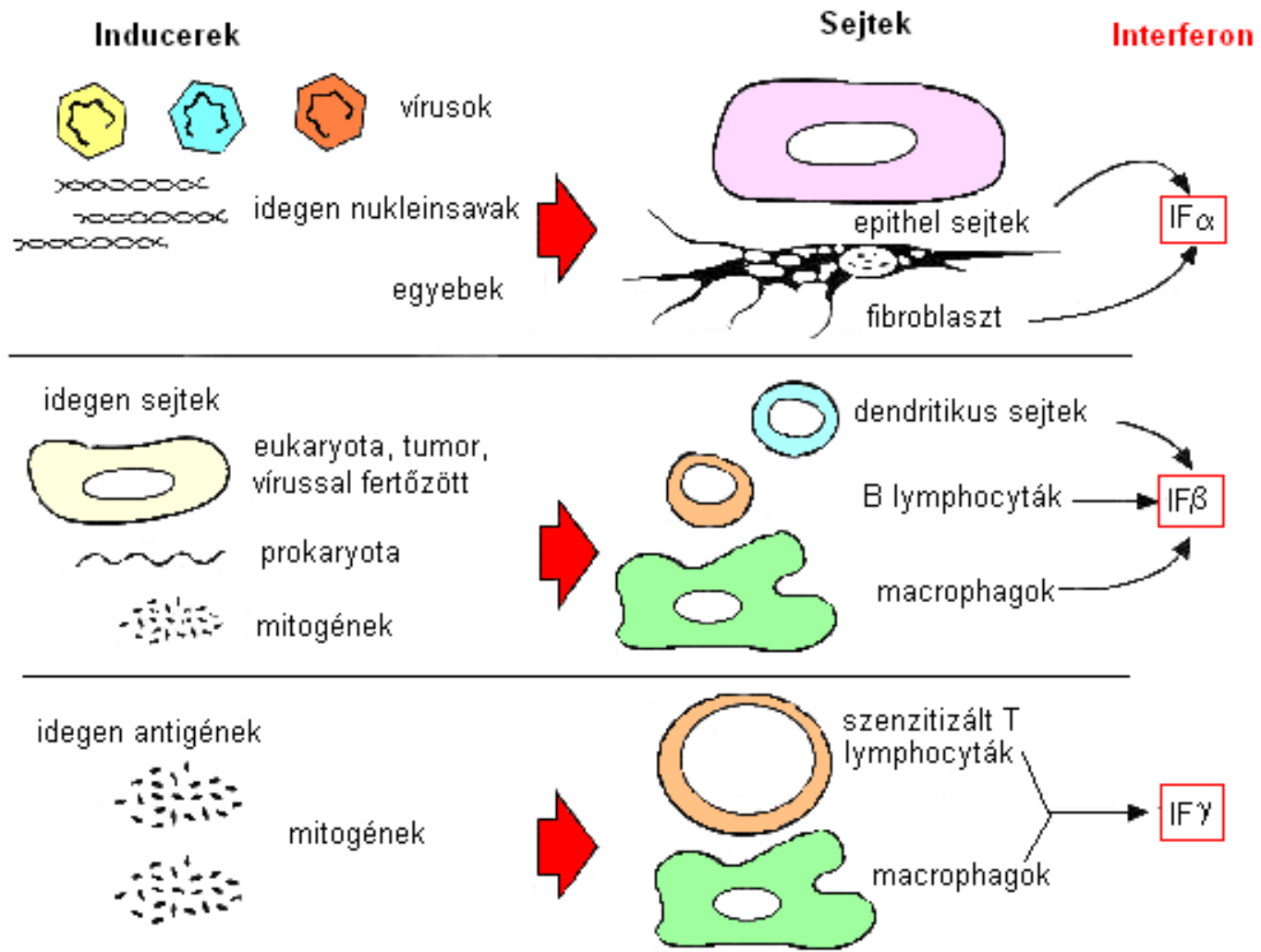


Pegilált interferon
(PEG-hez kötött,
elnyújtott hatású, HCV)



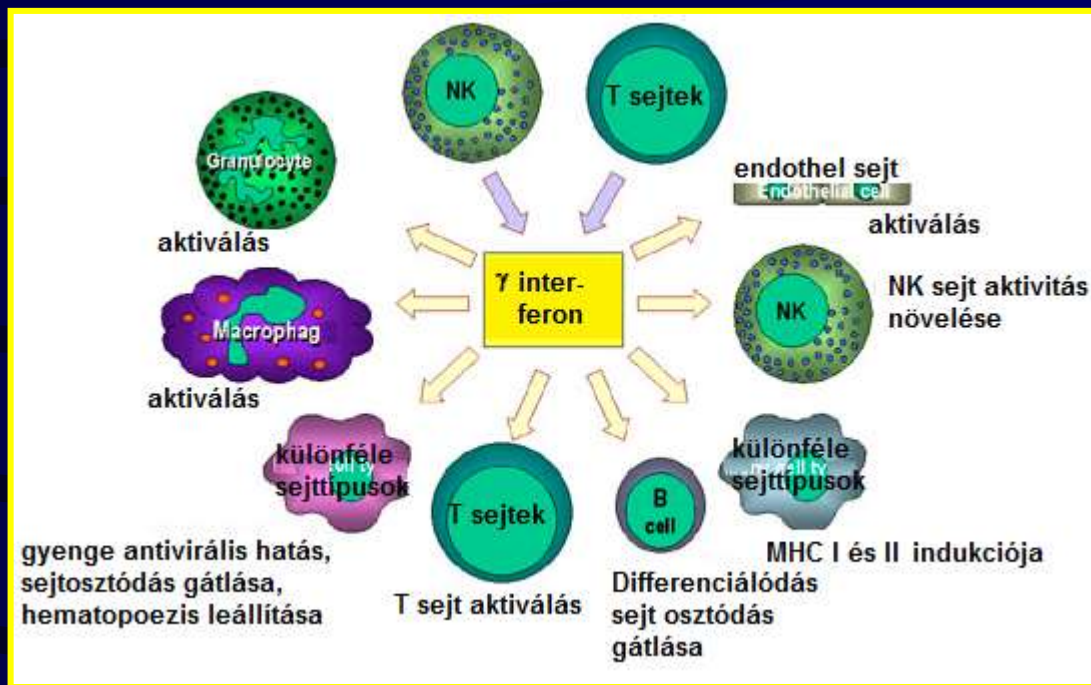
JELLEMZŐIK:

1. gazdasejt specifikusak, nem vírusspecifikusak
2. termelődését **vírusok** (ds RNS), **kémiai szerek** (szintetikus polinukleotidok), néhány **baktérium species** és **gombakivonat** indukálja
3. csaknem valamennyi állati sejt képes a termelésére (legnagyobb mennyiségben a csontvelő-, és lépsejtek, makrofágok termelik)



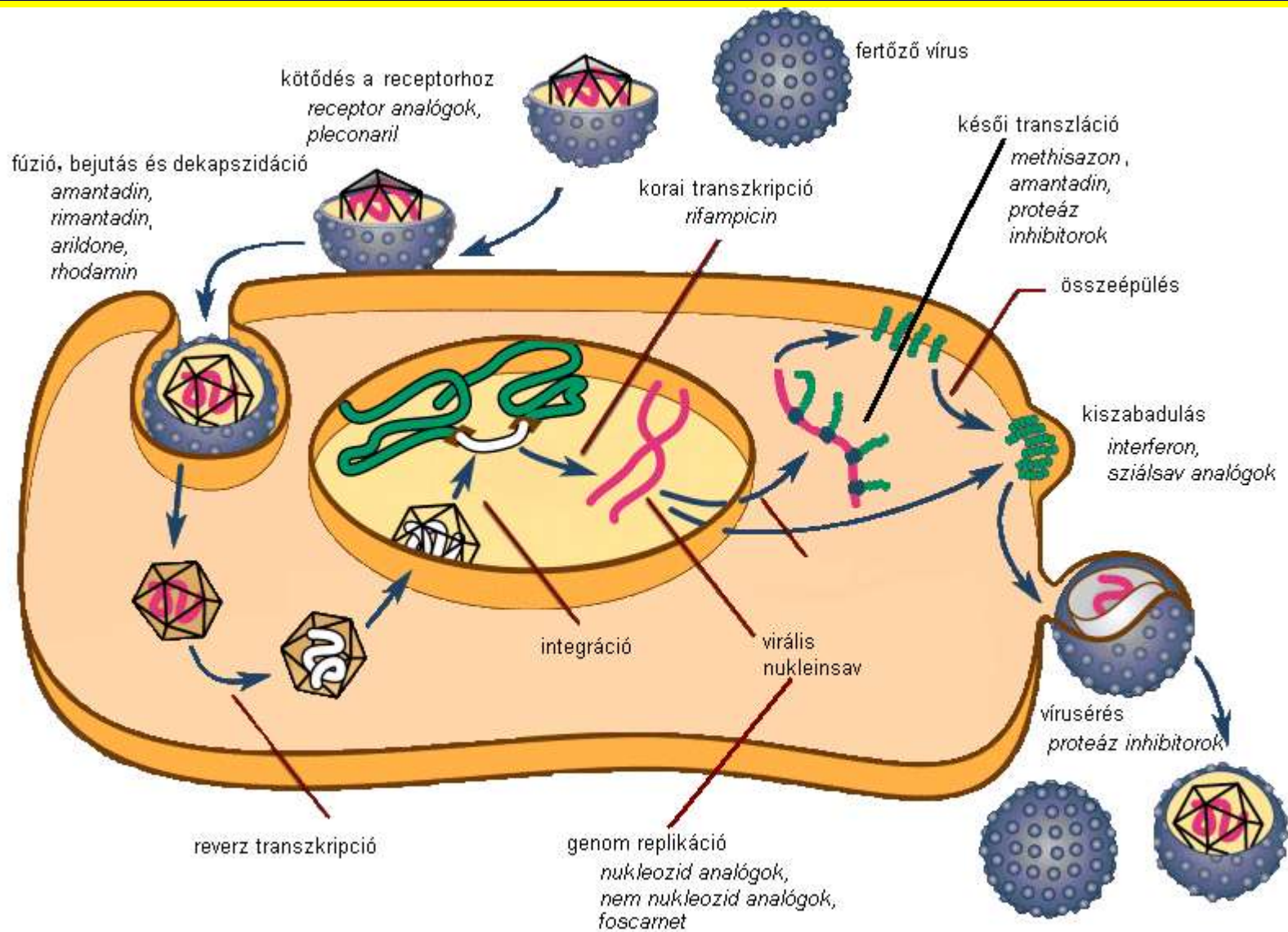
Interferon inducerek

Gamma-IFN sejtszabályozási hatásai



1. Gátolja a sejt szaporodást
2. Növeli a T-sejt aktivitást
3. Növeli az NK sejtek citotoxikus aktivitását a vírussal fertőzött sejtekkel szemben
4. Növeli a hisztokompatibilis antigének expresszióját a limfocitákon, stb.





ANTIVIRÁLIS SZEREK MELLÉKHATÁSAI

Jód-dezoxiuridin (IDU): szisztémás kezelésben bőr, máj károsítás lokális kezeléskor: esetleg teratogén hatás (terhesség)

Amantadin: pszichiátriai, neurológiai panaszok (hallucináció, érzéskiesés, ataxia)

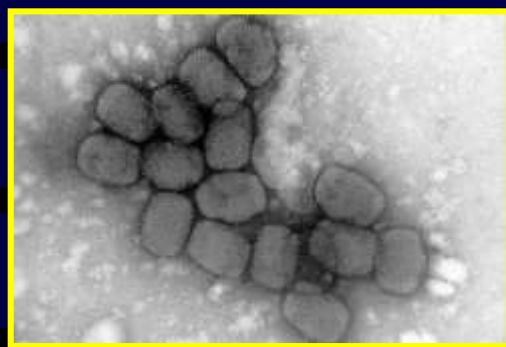
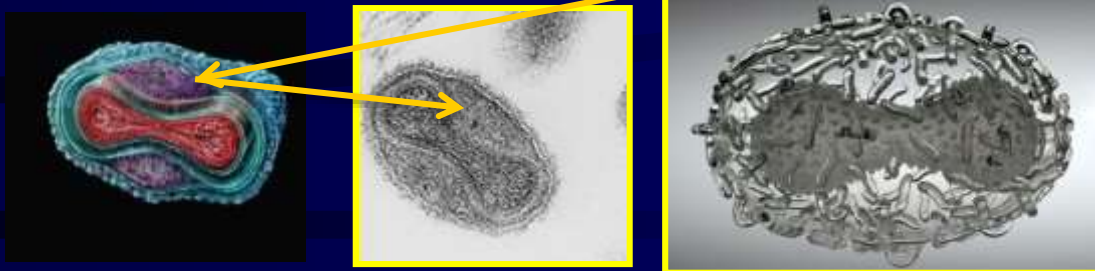
AZT (azidotimidin, Retrovir): csontvelő károsodás (neutropénia, leukopénia)

Interferon: „Influenza-szerű” tünetcsoport (láz, izomfájdalmak, idegrendszeri tünetek, leukopénia, trombocitopénia)

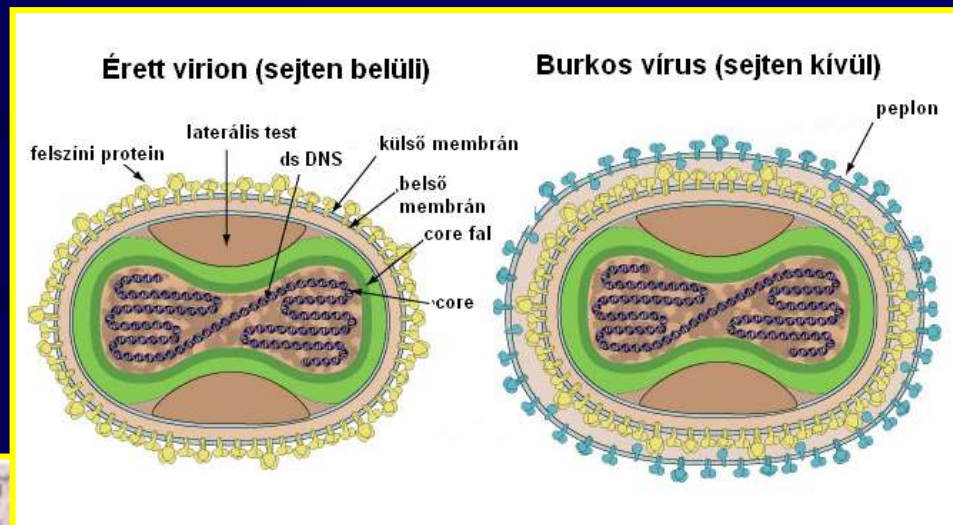
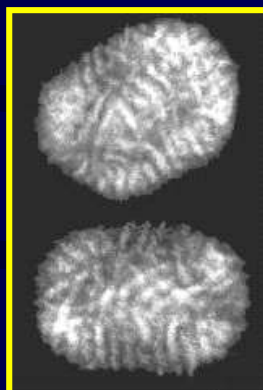
POXVÍRUSOK

Prof. Dr. Ádám Éva D.Sc.

MORFOLÓGIA: komplex, ovoid (tégla), laterális testek, peplon



(300-240 nm)



NUKLEINSAV: ds, lineáris

REPLIKÁCIÓ: citoplazma,
zárványok: Guernieri-féle
testek



POXVÍRUSOK RENDSZERTANA

CSALÁD: **Poxviridae**

GERINCESEK poxvírussai: **CHORDOPOXVIRINAE** (alcsalád)

GENUSOK: **ORTHOPOXVIRUS:** **VARIOLA, VACCINIA**
(COWPOX) , MONKEYPOX

MOLLUSCIPOXVIRUS: M. CONTAGIOSUM

YATAPOXVIRUS: YABAPOX, TANAPOX

PARAPOXVIRUS: ORF

ROVAROK poxvírussai: **ENTOMOPOXVIRINAE** (alcsalád)

FEKETE HIMLŐ

- 1796: **VAKCINÁCIÓ**
- 1979: **ERADIKÁCIÓ**
- **JELLEN: BIOLÓGIA FEGYVER**



VARIOLA MAJOR (fekete himlő)

Variola (latin varius) : foltos
varus: pattanás, kiütés, pörsenés

Kb. 3000 évvel ezelőtt, Kína, India, Nyugat-Afrika

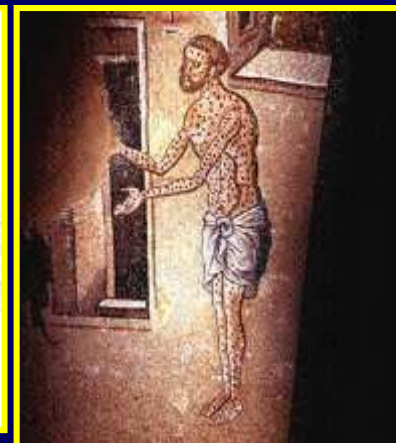
1700-as évek: Európa

1721: Amerika

a nagy járványokban: kb. **100** millió halál,
200 millió betegnél maradó heg és vakság
1950: eradikációs program kezdése az
USA-ban



V. Ramses fáraó
múmiája



Mozaik a XIV.
századból



szifilisz



Smallpox(pox/pock: himlő/szifilisz)



Fekete himlő

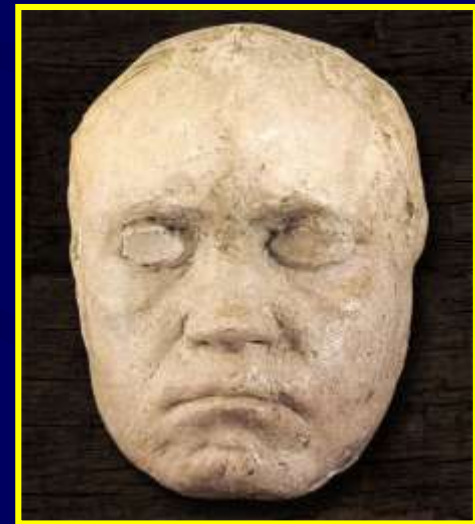
Híres „áldozatok”

Számos híres ember szenvedett fekete himlőben a történelem során, köztük az Egyesült Államok három elnöke:

Abraham Lincoln, **Andrew Jackson** and **George Washington** (1751) , akinek maradó hegek voltak az arcán, bár ezt soha nem mutatták a hivatalos portrékon és bankjegyeken

A szovjet diktátor **Sztálin** 8 éves korában betegedett meg és gyógyult fel a fertőzésből. A hivatalos fotókról retusálták a himlős hegeket, így azok nem láthatók azokon.

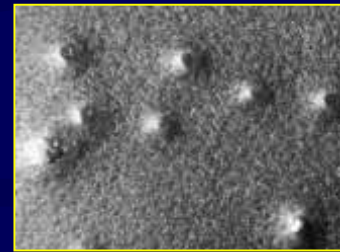
Ludvig van Beethoven arcáról az 5. szimfónia keletkezése idején készült maszkon (1806) is megfigyelhetők a fekete himlő maradványai



TERJEDÉS: cseppfertőzés, direkt kontaktus, inkubáció: 7-17 nap

**TÜNETEK (macula-
papula-
vesicula-
pustula)**

azonos stádium



4. nap



7. nap



centrifugális terjedés
máj, lép, tüdő, csont



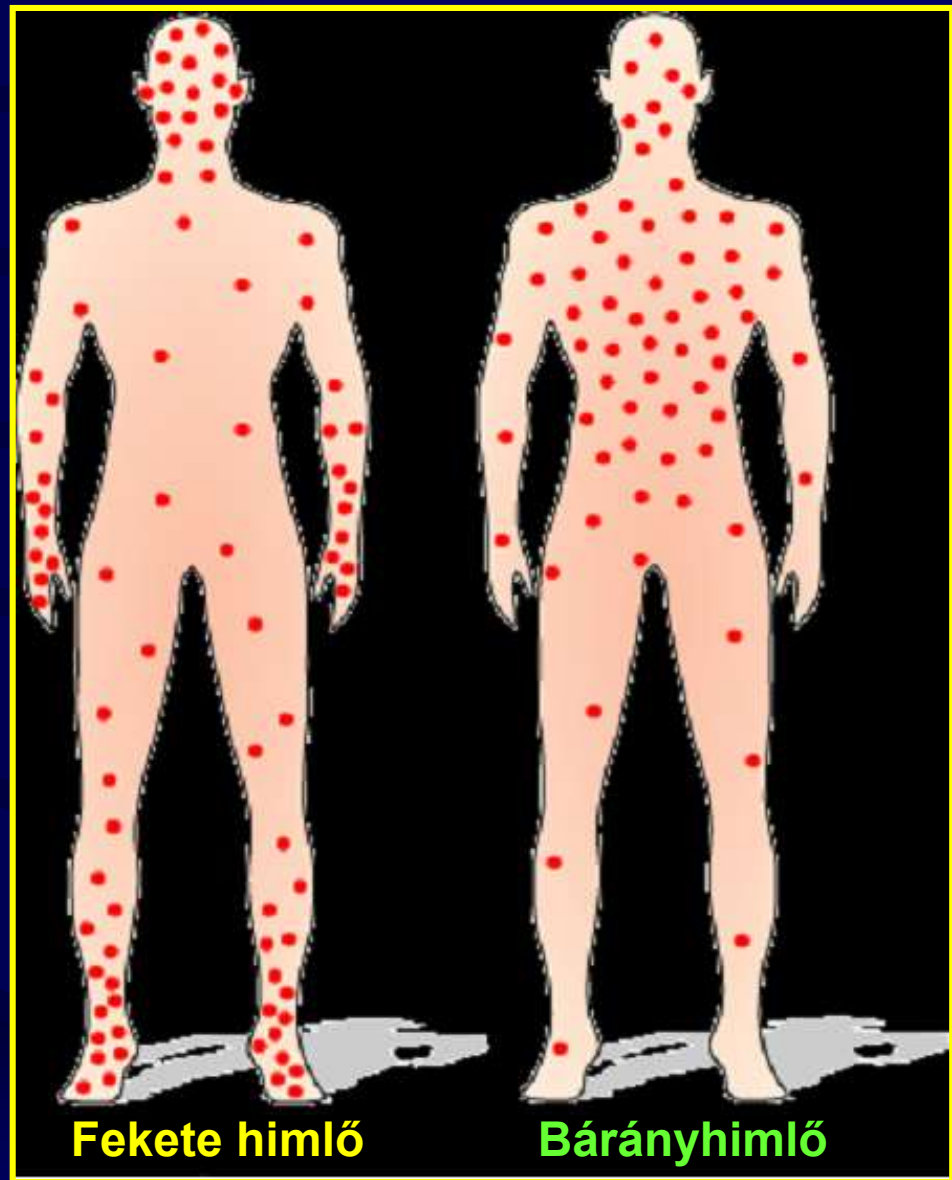
bőr (tenyér és talp)

FEKETE HIMLŐ és BÁRÁNYHIMLŐ

BŐRTÜNETEINEK ELHELYEZKEDÉSE A TEST FELSZÍNÉN

(*fekete himlő*: tenyér, talp +
azonos stádium)

(*báránymimlő*: tenyér, talp –
különböző stádium)



DIAGNÓZIS: direkt víruskimutatás,
vírus-izolálás,
vírus-antigén kimutatás,
szerológia vizsgálatok: HAG, ELISA, RIA, IF

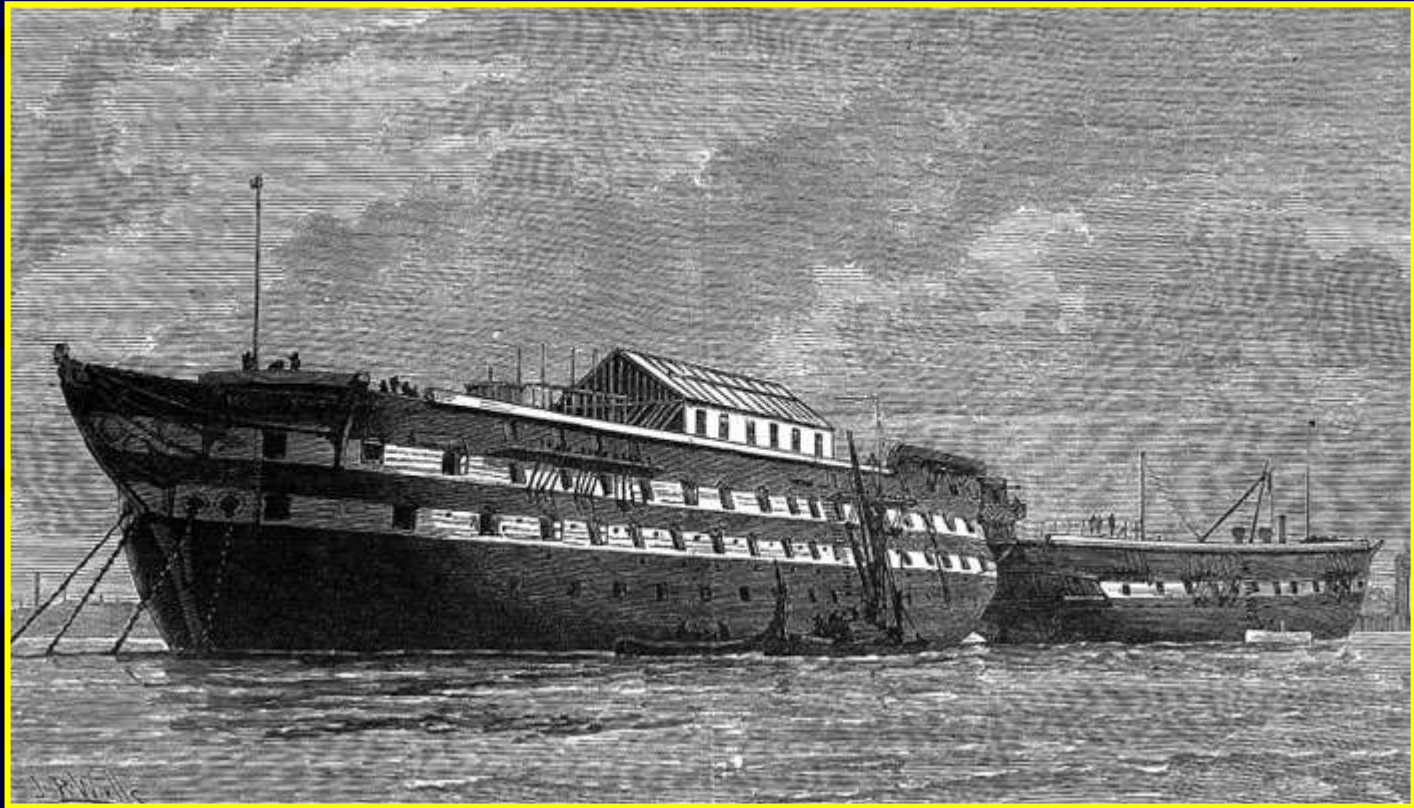
DIFFERENCIÁL DIAGNÓZIS (más poxvírusok,
enterovírusok, herpesvírusok
(varicella, generalizált herpes),
bakteriális (secunder syphilis)
fertőzések, kontakt dermatitis)



**Variola minor
(alastrim)**

Mortalitás 30-50 %

„A különböző kultúrák más-más módon próbálták megakadályozni a betegség terjedését, vagy a betegek karanténba zárásával, szándékos fertőzéssel, vagy vakcinálással”



„Atlas” és „Endymion” hajók a fekete himlőben szenvedők elkülönítésére, Deptford Creek, 1881 (The Wellcome Library, London)

Prof. Dr. Ádám Éva D.Sc.

Megelőzés

Varioláció



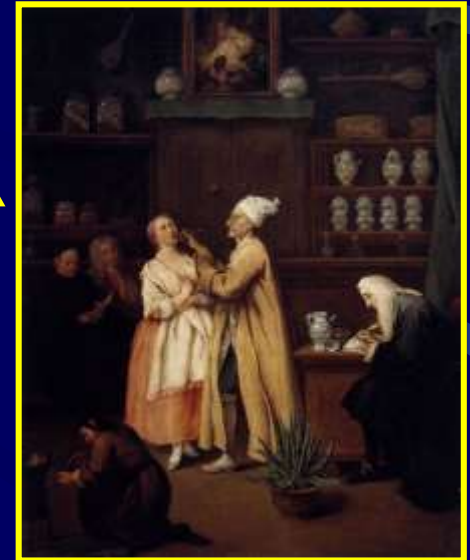
X. század, Kína,
intranasalis “oltás”
(inokulálás) a fekete
himlős var orr
nyálkahártyára
vagy bőrbe
helyezésével



XVIII. század, a törökországi
brit konzul felesége anyyira
biztos volt a hatásosságban
és veszélytelenségben, hogy
a saját gyermekeit immunizálta
ezzel a módszerrel (1717), és
értesítette a brit királyi családot
is, ahol szintén bevezették az
immunizálás ezen módját



Lady Montague
(1717)



Megelőzés Vakcináció

„ a tehénhimlőben megbetegedett fejőnők immunisak a fekete himlővel szemben”

1798: vakcinálás élő vírussal (Poxvirus officinale)

vacca (latin): tehén ⇒ **vakcina, vakcináció**



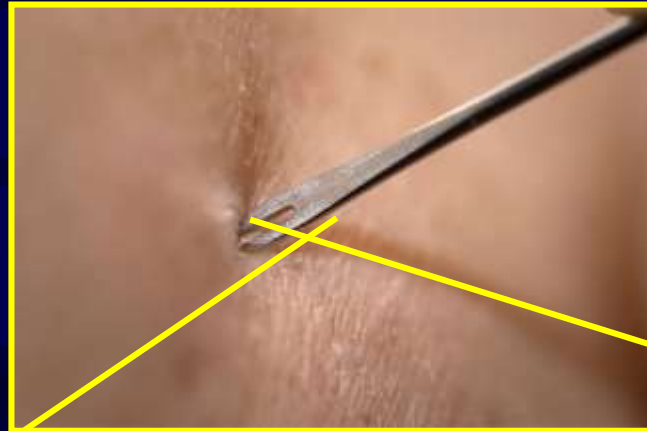
JENNER, E.
(1749-1823)



Az első vakcinálás: James Phipps, 8 éves London)



oltólándzsa



scarificatio



21.nap

Új védőoltás: **szövettenyészteten tenyésztett vaccinia vírus**

KOMPLIKÁCIÓK

bronchitis , tüdő oedema, arthritis,
osteomyelitis, encephalitis,
keratitis, cornea fekély → vakság

Terhesség: perinatalis fertőződés,
congenitális fertőzések



VAKCINÁCIÓS KOMPLIKÁCIÓ:



Anya védő-
oltása a
terhesség 2.
hónapjában



Szöveti necrosis
az oltás után



Generalizált
vaccinia
fertőzés



Eccema vaccinatum



Autoinoculatio

WHO ERADIKÁCIÓS PROGRAM

- ⇒ hatásos oltóanyag van
- ⇒ állati rezervoár nincs

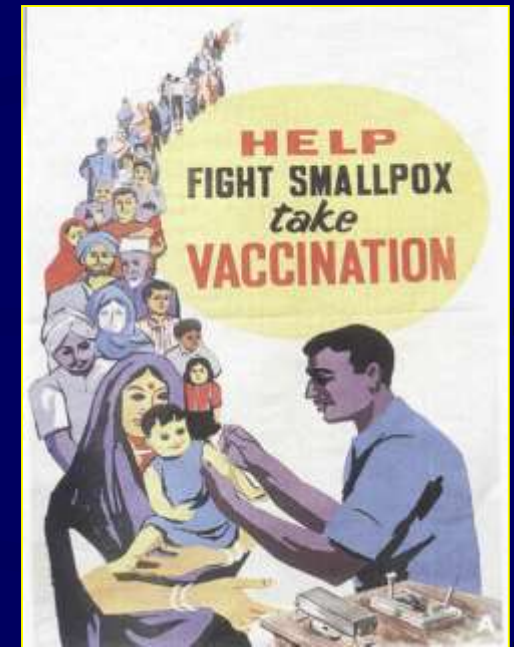
1977. Utolsó természetes eset Szomáliában

1978. Laboratóriumi fertőzés Angliában

1979. december 9. **WHO deklaráció a világ himlőmentességéről**

1983. Utolsó két laboratórium: CDC, Atlanta **USA**, Virologiai és Biotechnológiai Központ, Koltsovo, **Oroszország**

1996. WHO, az utolsó törzsek megsemmisítése, 1999. június 30.



**WHO deklaráció
a világ himlőmentes-
ségéről
(Genf, 1979)**



EGYÉB POXVÍRUS FERTŐZÉSEK

MONKEYPOX: zoonózis - 2003, USA: 35 igazolt eset,
gambiai óriáspatkány - pele → prérikutya
(emberben a vacciniavírus védő hatása)

Állat-ember: marás, testfolyadék, bőrelvált.
Ember-ember: cseppfertőzés, váladék, fertőzött ruhanemű



(USA, harapás)



COWPOX: foglalkozási ártalom (fejőnők), (lokális léziók), macska!

Milker`s node (tehenészcsomó, fájdalomtalan bőr „daganat”, foglalkozási ártalom)



Orf (fájdalmatlan, lokális bőr necrosis)



Molluscum contagiosum (kis, benignus daganat, direkt és indirekt kontaktus, STD)



A fekete himlő vírusa, mint a bioterrorizmus fegyvere

Történet

A 17. és 18. században Észak-Amerikában, az indiánok elleni harcokban variola vírussal fertőzött takarókat “ajándékoztak” a bennszülötteknek

1947-ben a korábbi Szovjetunióban aerosol formájában állítottak elő virulens himlővírust, és adaptálták a bombákkal és ballisztikus rakétákkal való elterjesztésre

Terjesztés (aerosol), növeli a civil populáció veszélyeztetettségét a himlőoltás beszüntetése (eradikáció), csökken az immunisak száma (legalább 40 millió adag vakcinának kell készenlétben lennie a támadás 4-8 hetén belül)

„A” kategória

- könnyen szóródnak, emberről-emberre is terjednek
- magas mortalitás
- pánikkeltés
- közegészségügytől speciális felkészültséget igényel

C. botulinum, B. anthracis, Y.pestis, F.tularensis, Variola major, vírusos vérzéses lázak