



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

VETUNI pro 21. století: Rozvoj VETUNI v oblasti digitalizace činností, profesionálního vzdělávání a flexibilních forem vzdělávání

Projekt NPO registrační číslo NPO_VETUNI_MSMT-16594/2022

Specifický cíl A3: Tvorba nových profesně zaměřených studijních programů

Studijní program:

Veterinární asistence

Návaznost na výstup:

☐ č. 1 ☐ č. 2 ☐ č. 3 ☒ č. 5 ☐ č. 6 ☐ č. 7 ☐ č. 8 ☐ č. 10

Předmět:

V2MP - Mikrobiologie a parazitologie zvířat

Typ výstupu:

Studijní opory pro teoretickou výuku

Autor výstupu:

MVDr. Dana Lobová, Ph.D.



Veterinární univerzita Brno

Palackého tř.1946/1 ● 612 42 Brno ● tel.: +420 541 561 111 ● e-mail: podatelna@vfu.cz ● www.vfu.cz ● IČ 62157124

Obecná virologie

Přednáška č. 1

Mikrobiologie a parazitologie zvířat
MVDr. Dana Lobová, Ph.D.



**Financováno
Evropskou unií**
NextGenerationEU



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



**Národní
plán
obnovy**

OBECNÁ VIROLOGIE

Historie virů, obecné vlastnosti virů, struktura virové částice, patogeneze virových infekcí, metody diagnostiky virových původců.

Základní pojmy:

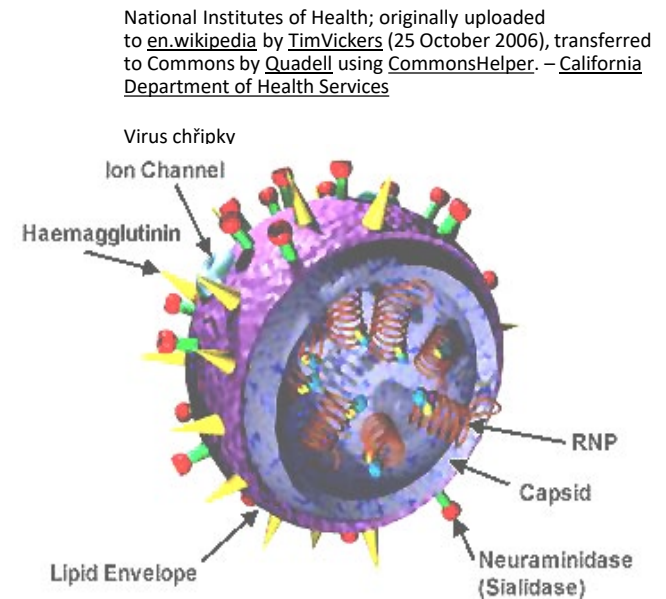
- Virus: ~~vir~~ nebuněčná částice, vně hostitelské buňky jsou metabolicky inertní, nemají žádné organely, pouze DNA nebo RNA. Virové geny jsou strukturální – kódují částice virionu, nestrukturální – kódují enzymy, které jsou zodpovědné za replikaci viru v buňce
- Virová částice- virion je komplex bílkovin a nukleových kyselin.
- Virologie – ~~virusologie~~ - vědní obor zabývající se studiem a diagnostikou virů
- Virová infekce: ~~virologická infekce~~ onemocnění způsobené průnikem viru do organismu hostitele a do hostitelské buňky. Organismus se brání tvorbou protilátek (specifická imunita), nespecifická imunita (NK buňky, interferony)
- Virová nálož – množství virových partikulí, které vyvolají infekční proces

Historie virologie

- **Zakladatel virologie –ruský botanik Ivanovskij (1892) prokázal existenci infekčních původců - virů. Objevil shluky viru tabákové mozaiky v listu tabáku.**
- **Luis Pasteur- 1885** - vakcinace proti vzteklině, 1889 založení Pasteurova ústavu v Paříži
- **Loeffler a Frosch (1898)**- první živočišný virus – virus slintavky a kulhavky
- **Reed (1902)** – první lidský virus – virus žluté zimnice
- **Enders (1949)** - první tkáňová kultura – virus dětské obrny – 50. léta mohutný rozvoj lékařské virologie (NC-Nobelova cena)
- **Kary Mullis -80.-90. léta** - rozvoj molekulární biologie (NC)

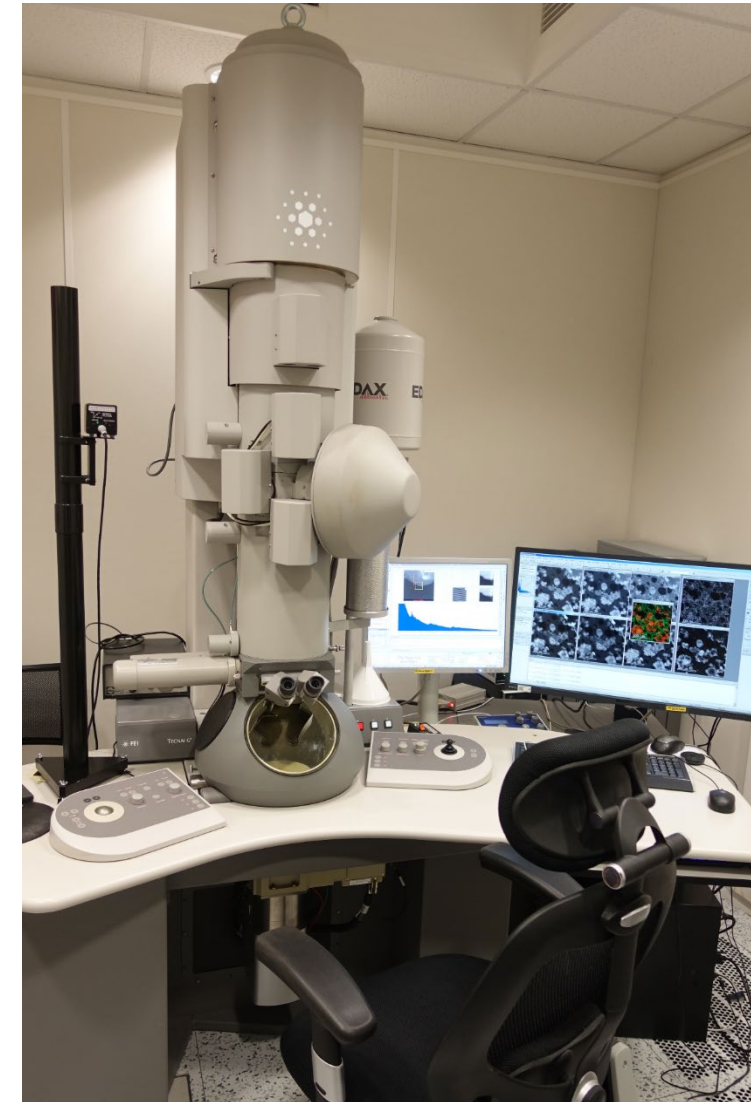
Charakteristika virů

- striktně intracelulární parazité
- replikace pouze v eukaryotické buňce
- velikost 20 - 300 nm
- velikost genomu 2 - 200 kbp



Morfologie a struktura virů

- Odlišná velikost a morfologie u různých čeledí virů
- **Sférický** až vláknitý tvar
- Elektronová mikroskopie: vizualizace architektury virové částice
- Nukleová kyselina je pouze jeden typ u různých virů (DNA, RNA) – genetická informace pro reprodukci viru -**genom viru**



<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/89/TemFzu.png>
ELEKTRONOVÝ MIKROSKOP

Struktura virové partikule

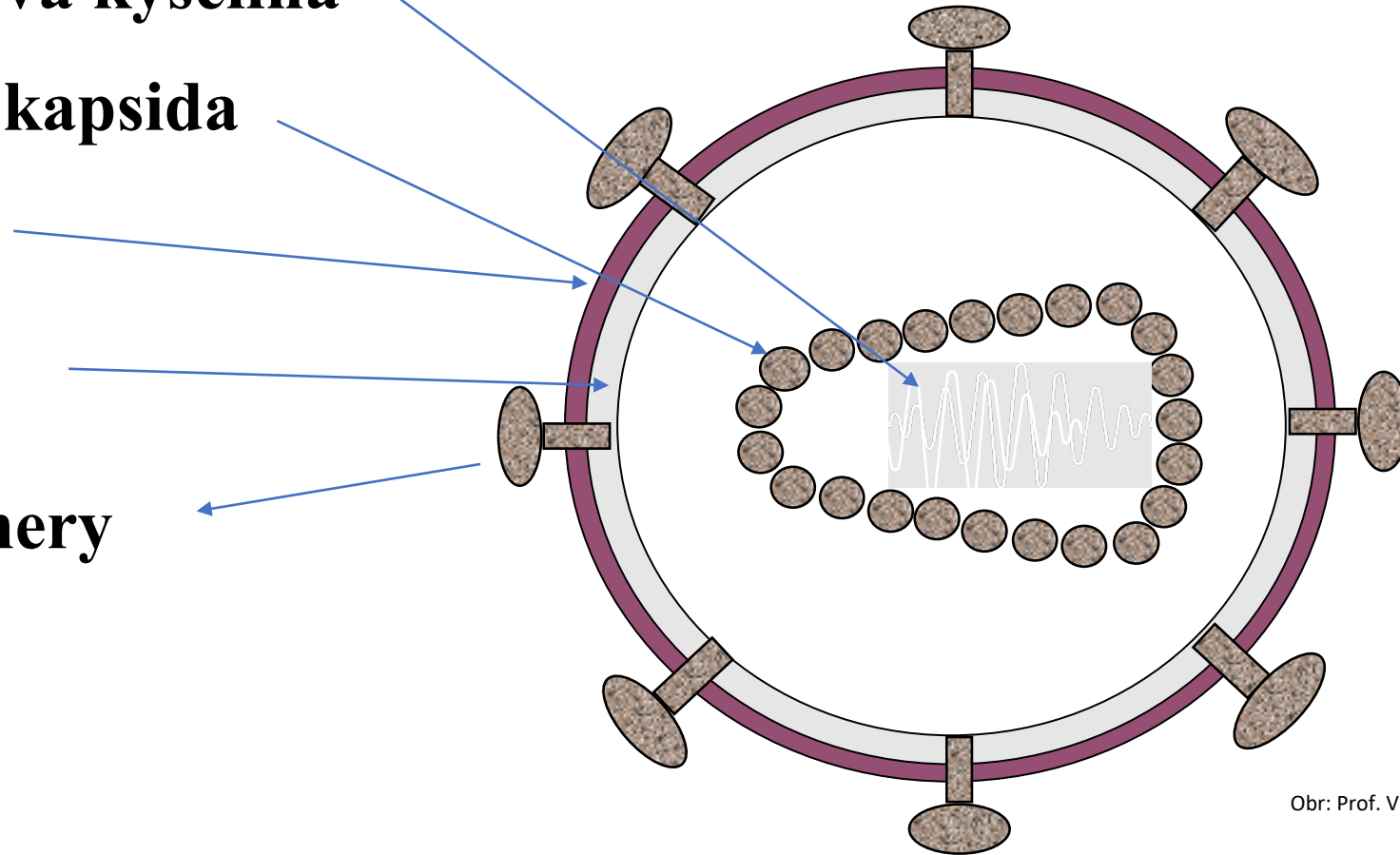
Nukleová kyselina

Nukleokapsida

Obal

Matrix

Peplomery



Obr: Prof. V. Celer ml.

Virová nukleová kyselina

- typ NK (DNA × RNA)
- počet vláken ss - jednovláknitá
 ds - dvouvláknitá
- **lineární** × cirkulární NK (většina virů x *Circoviridae*)
- **celistvá** × segmentovaná
- **polarita pozitivní (+)** × negativní (-)

Kapsida, obal viru

Ochranný obal genomu viru – proteinový plášť – architektura viru – symetrie virové částice

Kapsomera – bílkovinná molekula (γ) – struktura kapsidy. Jejich počet je pro viry každé čeledi stálý a charakteristický – NK obalená kapsidou = nukleokapsida- u neobalených virů zůstává jediným ochranným obalem.

OBALENÉ VIRY = méně odolné v prostředí

Obal viru = lipidová dvouvrstva obsahující glykoproteiny (peplomery) - vzniká modifikací cytoplasmatické membrány host. buňky. Glykoproteiny jsou kódovány virem

Funkce g: vazba na buněčné receptory, penetrace do hostitelské buňky, hlavní antigenní struktury virionů – imunitní reakce.

Prominují na povrch (orthomyxoviry, paramyxoviry, rhabdoviry..)

Matrix protein (M protein) – u některých virů (retroviry, ..) – vnitřní část obalu – zesiluje lipidový obal viru, tvar viru.

NEOBALENÉ VIRY = odolné v prostředí stabilní a odolná nukleokapsida, lepší průnik k cílovým buňkám

Symetrie virové nukleokapsidy

- **NK je stabilní a symetrická**

- ☐ Symetrie helikální - rhabdovirová partikule – závitová struktura kopíruje vlákno genomu, může změnit svou délku = otevřená struktura
- ☐ Symetrie **ikozahedrání** - herpesvirová partikule – kapsomery dvojího druhu (pentony a hexony)
- ☐ Symetrie komplexní - retroviry (HIV) –nepatří ani do jedné z předchozích

Fáze replikace viru

- DNA viry – v jádře (mimo *Poxviridae*-cytoplasma a *Asfarviridae*-replikace v cytoplasmě, syntéza DNA v jádře)
- RNA viry – v cytoplasmě (mimo *Orthomyxoviridae* a *Bornaviridae*)
- ADSORBCE virionu na povrch vnímavé buňky –ligandy (virus-glykoproteiny) / receptor (buňka)
- PENETRACE průnik virionu do buňky (**translokace, endocytóza, fúze**)
- OBNAŽENÍ GENOMU = dekapcidace =DNA
- REPLIKACE VIROVÉHO GENOMU – množení viru v buňce- tvorba velkého počtu virových partikulí

Patogeneze virových infekcí

- Veškeré procesy probíhající v buňkách, tkáních a organismu hostitele po infekci patogenním virem. Tyto změny indukují imunitní reakci organismu. Rozsah patologických změn je rozmanitý od subklinické infekce až po onemocnění s letálním průběhem.
- **Permisivní buňka** - buňka vnímavá k infekci, má vhodné receptory
- Tropismus (neurotropní, dermatotropní...viry)
- **Nepermisivní buňka** – replikace viru blokována v některém stupni životního cyklu viru (absence receptorů)
- Interakce viru a buňky může mít tyto formy:
 - 1. Lytická infekce – **cytopatický efekt**
 - 2. Produktivní infekce bez cytocidních změn
 - 3. Perzistentní infekce

Typy cytopatického efektu:

- **Můžeme sledovat na monolayeru buněčné kultury (*in vitro*)**
 - ☐ Difuzní destrukce (*PRRS, Flavivirus, Calicivirus..*)
 - ☐ Plaky (*Herpesvirus, Poxvirus*)
 - ☐ Syncytium (*Maedi Visna virus, Respirivirus*)
 - ☐ Absence cytopatického efektu (*Circovirus, Lyssa virus*)

Stabilita viru ve vnějším prostředí

- Je ovlivněna vlastnostmi proteinů a nukleových kyselin
- Inaktivace viru:
 - 1. teplotou 55- 60°C /30 min (virus hepatitidy B 60°C/1 hod)
 - 2. vlivem pH 5 -9 (acidostabilní jsou enteroviry/ citlivé jsou viry SLAK)
 - 3. ultrafialovým a ionizujícím zářením – desinfekce boxu a lab. ploch, při výrobě vakcín – inaktivace
 - 4. chemickými činidly - detergenty (Triton X), aldehydy –formaldehyd, oxidační činidla- ethylen oxid, chlornany, ozon
- PRIONY – vysoce rezistentní k teplotě i chemickým látkám 121°C/1hod, 1M NaOH/30min.

Diagnostické laboratorní metody

- **Přímý průkaz viru (NK, virus, atg)**

- Molekulární biologické metody (PCR, qPCR, sekvenování část genomu, NGS sekvenování)
- Izolace viru na buněčné kultuře
- Elektron mikroskopie
- Imunohistochemie (atg)
- Fluorescenční mikroskopie (atg)

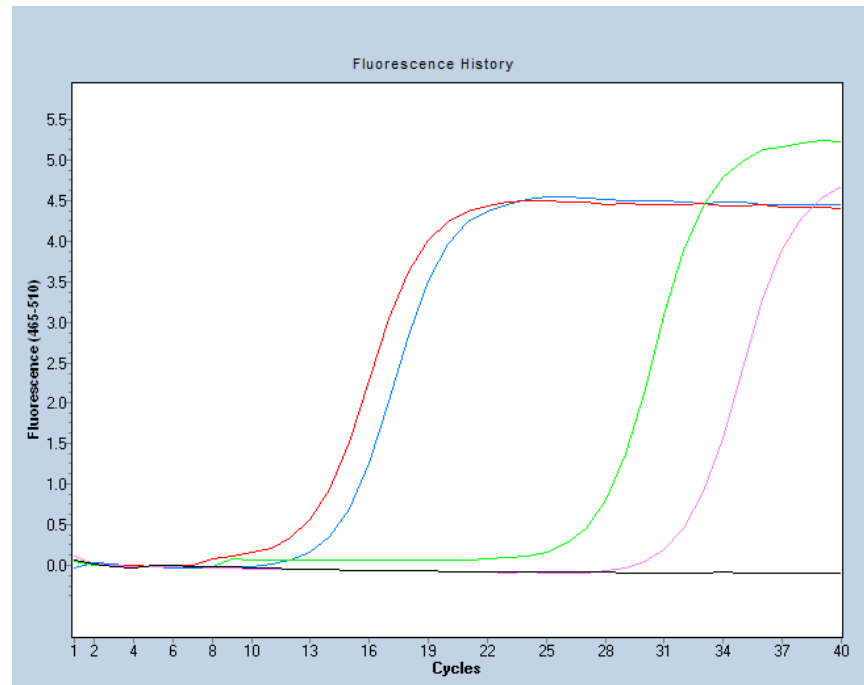
- **Nepřímý průkaz viru (protilátky IG)**

- ELISA
- Virus neutralizační test (VNT)
- Hemaglutinační inhibiční test (HIT)
- Imunodifuzní test
- Immunoblot
- Fluorescenční test

Molekulární biologické metody

- Hybridizační techniky za použití DNA nebo RNA sond
- Amplifikační techniky (zmnožení NK)
 - ❑ PCR kvalitativní metoda (1993 Nobelova cena za chemii)
 - ❑ qPCR kvantitativní metoda (počet kopií DNA)
 - ❑ multiplex qPCR – více patogenů
 - ❑ Sekvenování – části genomu (gen pro kapsidový protein)
 - ❑ NGS sekvenování – celogenomové sekvenování – lidský genom

qPCR



Amplifikační křivka: qPCR

Sekvenování genu 16S rRNA

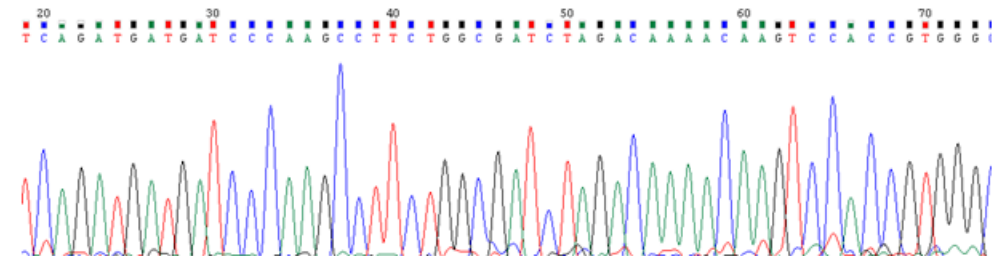
Bartonella henselae complete genome, strain BM1374165
Sequence ID: [HG969191.1](#) Length: 1975503 Number of Matches: 2

Range 1: 1483831 to 1483956 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

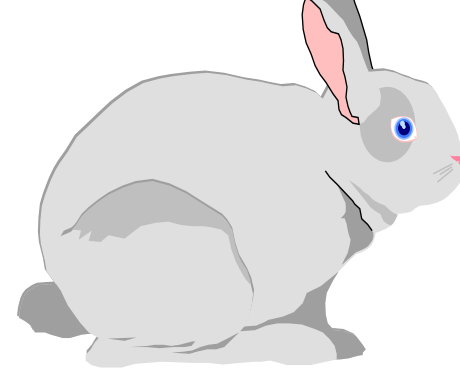
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
226 bits(122)	1e-55	125/126(99%)	1/126(0%)	Plus/Minus	
Query	3	CTTCGTTTCTCTTCTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCGATCTAGACAAAACAAG			62
Sbjct	1483956	CTTCGTTTCTCTTCTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCGATCTAGACAAAACAAG			1483897
Query	63	TCCACCGTGGGCTTTGAAAAACGCTTTCCTTGATAAAATTTAAGCGTTTATA-GAGGAT			121
Sbjct	1483896	TCCACCGTGGGCTTTGAAAAACGCTTTCCTTGATAAAATTTAAGCGTTTATAAGAGGAT			1483837
Query	122	GCCGGG	127		
Sbjct	1483836	GCCGGG	1483831		

Range 2: 1640065 to 1640190 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#) [First Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
226 bits(122)	1e-55	125/126(99%)	1/126(0%)	Plus/Minus	
Query	3	CTTCGTTTCTCTTCTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCGATCTAGACAAAACAAG			62
Sbjct	1640190	CTTCGTTTCTCTTCTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCGATCTAGACAAAACAAG			1640131
Query	63	TCCACCGTGGGCTTTGAAAAACGCTTTCCTTGATAAAATTTAAGCGTTTATA-GAGGAT			121
Sbjct	1640130	TCCACCGTGGGCTTTGAAAAACGCTTTCCTTGATAAAATTTAAGCGTTTATAAGAGGAT			1640071
Query	122	GCCGGG	127		
Sbjct	1640070	GCCGGG	1640065		



Kultivační systémy ve virologii (*in vitro*)

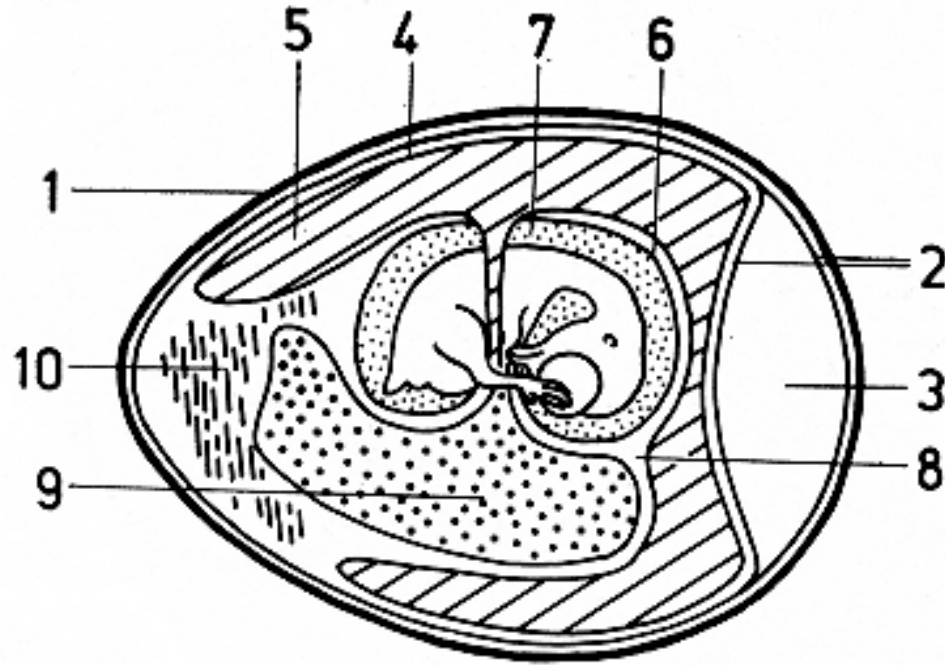


- **Kultivace viru do organismu experimentálního zvířete**
(lab.myši) zastaralé - welfare zvířat. Diagnostika viru vztekliny (Lyssa virus).
- **Inokulace viru do kuřecího embrya - virus chřipky**, aviární viry, *Rickettsia*, *Chlamydia*. (žloutkový vak, amnionový vak, alantoinový vak, chorioalantoidní membrána).
- **Kultivace viru v buněčné kultuře** - nejčastější způsob izolace živého viru.

Inokulace do kuřecího embrya

10 denní embryo.

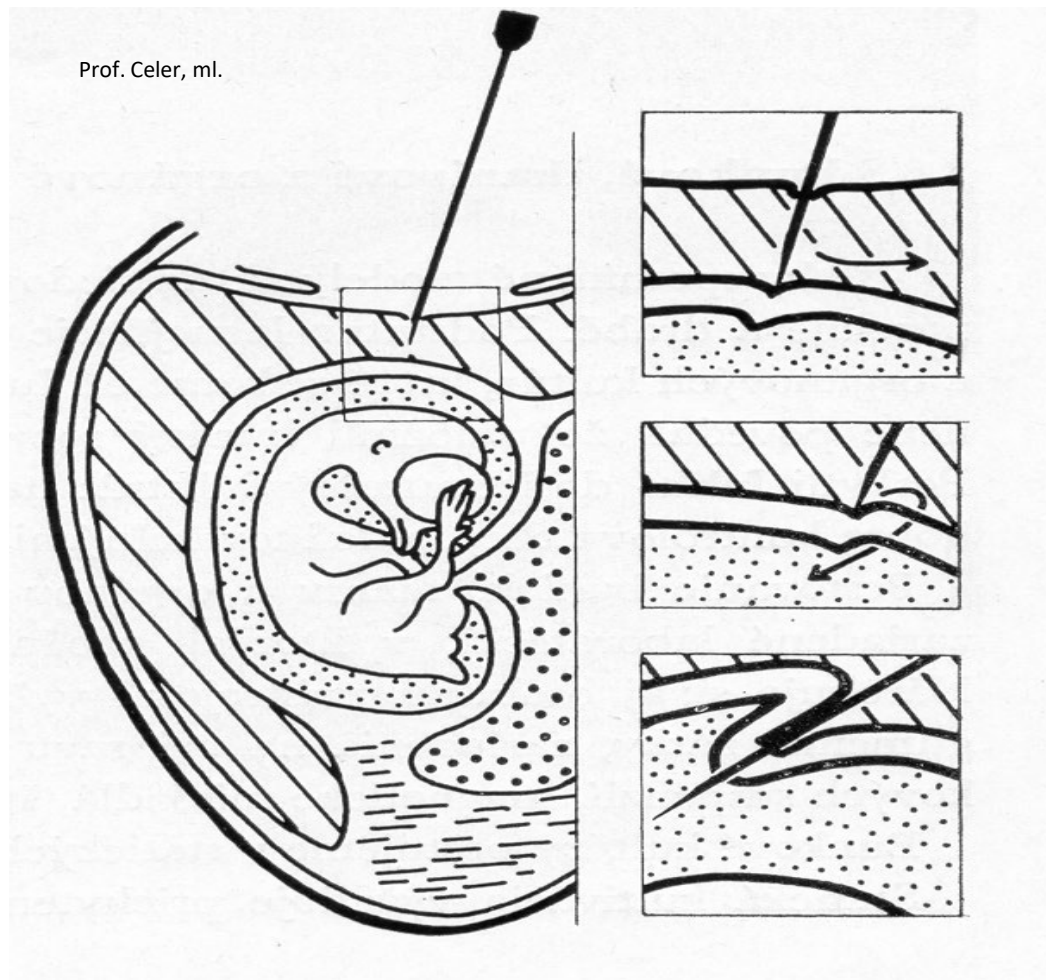
yolk sac, amnion sac, allantois sac, chorioallantoic membrane



1. Skořápka
2. Zóna pellucida
3. Vzduchová bublina
4. Chorioalantoidní membrána
5. Alantois
6. Amnionový vak
9. Žloutkový vak

Detekce viru chřipky

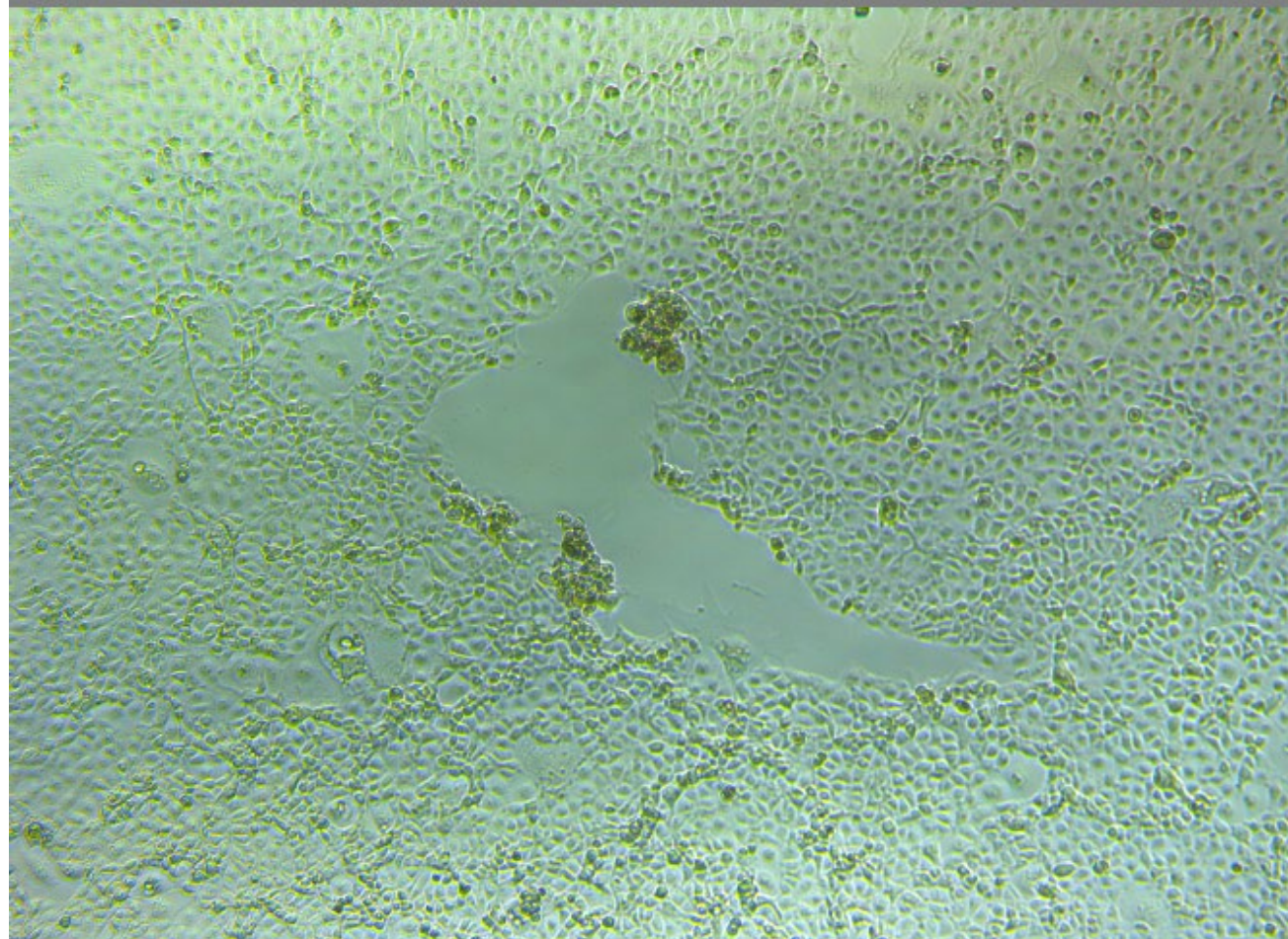
- Alantois



Buněčné linie

- ⊙ Nejefektivnější tkáňová kultura v podmínkách *in-vitro*
- ⊙ Získává se: 1. selekcí z primární buněčné kultury ovlivněné mutací, fyzikálně, chemicky – selekce jednoho typu buněk
2. kultivací nádorových buněk (karcinom dělohy- HELA cells, LEP- human embryonal cells)
- ⊙ Nekonečné pasážování
- ⊙ Heteroploidní sada chromozomů
- ⊙ Roux lahve (sterilní, ploché dno, plastický uzávěr)= **monolayer**

Buněčný monolayer z felinních ledvin
s cytopatickým efektem





**Financováno
Evropskou unií**
NextGenerationEU



Speciální virologie (vybrané DNA a RNA viry zvířat)

přednáška č. 2

Mikrobiologie a parazitologie zvířat

MVDr. Dana Lobová, Ph.D.



**Financováno
Evropskou unií**
NextGenerationEU



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



**Národní
plán
obnovy**

Obor: Veterinární asistence



**Financováno
Evropskou unií**
NextGenerationEU



**Národní
plán
obnovy**

DNA viry – genom viru je tvořen DNA (dsDNA, ssDNA)

Replikace viru v jádře

- Adenoviridae
- Herpesviridae
- Papovaviridae
- Parvoviridae
- Circoviridae

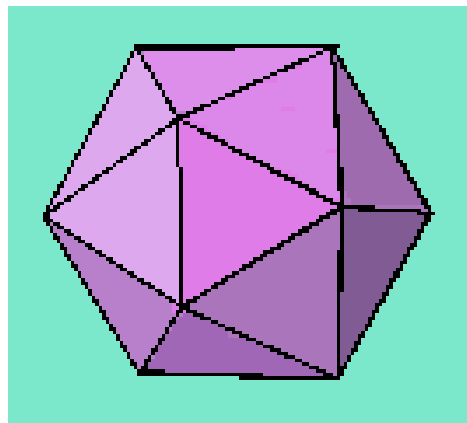
Replikace viru v cytoplasmě

- Poxviridae
- Asfarviridae

Čeľad': *Herpesviridae*

- Herpes- plíživý
- Velikost: 120 - 200 nm
- Genom: ds DNA 150 kbp, kóduje více než 20 strukturálních proteinů
- Ikozahedrál'ní symetrie kapsidy, 162 kapsomer
- Obal s povrchovými glykoproteiny
- Replikace nastává v jádře buňky, obal pochází z nukleární membrány
- Intranukleární eosinofilní inkluze

- Hostitelská specifita: každý herpesvirus má svého přirozeného hostitele, (širší hostitelská specifita u Aujeszkeho choroby)
- Latence viru v organismu hostitele – neproduktivní infekce, (LAT transkripty) trigeminální ganglia v mozku, bílé krvinky = nedochází k poškození buňky, buňka se může dělit
- Reaktivace viru (kortikoidy, stres, imunosuprese)
- Malá odolnost ve vnějším prostředí



Ikosahedrální symetrie
nukleokapsidy



Podčeleď: *Alphaherpesvirinae*

Rod: SIMPLEXVIRUS

- Herpes simplex virus 1 (Herpesvirus člověka typ 1)

Rod: VARICELLOVIRUS

- Varicella-Zoster virus (Herpesvirus člověka typ 3)
- Virus Aujeszského choroby (Suid herpesvirus 1 - Pseudorabies virus)
- Virus Infekční bovinní rhinotracheitidy (Herpesvirus skotu 1)
- Herpesvirus koní typ 1 a 4
- Virus koitálního exantému koní (Herpesvirus koní 3)
- Herpesvirus koček, herpesvirus psů
- Virus Markovy choroby drůbeže

Virus infekční bovinní rhinotracheitidy (IBR / IPV)

Respirační syndrom (IBR)

- akutní horečnaté onemocnění horních cest dýchacích, výtok z očí a nosu, salivace, konjunktivitis, encephalitis, gastroenteritis, aborty 4 – 7 měsíc březosti.

- Infekční pustulární vulvovaginitida (IPV)

Horečka, změny na poševní sliznici, bolestivé močení,

- Balanoposthitis – postižení býků, virus může být přítomen v semeni.

Virus Aujeszského choroby -Pseudorabies

- Primárním hostitelem a hlavním zdrojem viru je prase, hostitelsky nespecifický
- Onemocnění u něj probíhá za příznaků encefalomyelitidy, bronchopneumonie, potratů nebo celkového horečnatého onemocnění.
- U jiných druhů zvířat je infekce omezena na CNS (pruritus).
- Patogeneze: Infekce ingescí nebo inhalací
- Primární replikace v orofaryngu, transport do CNS axoplazmou kraniálních nervů. Sekundární replikace v CNS, ganglion-neuritis, meningoencephalitis
- Místem latence je gangl. trigeminale
- K vylučování viru dochází orálními a nazálními sekrety

Herpesviry koní

Podčeď: Alphaherpesvirinae

EHV-1 Virové zmetání klisen

EHV-4 Virová rhinopneumonie

EHV-3 Exanthema Coitale

Podčeď: Gammaherpesvirinae

EHV-2 EHV-5

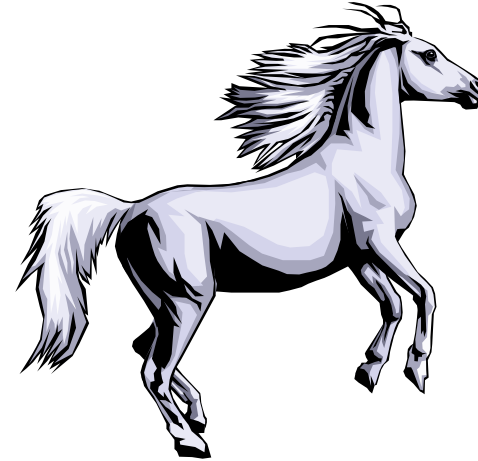
V patogenezi virového zmetání klisen EHV 1 se uplatňují :

epiteliální buňky, leukocyty a endoteliální buňky a to v respiračním traktu, imunitním systému a březí děloze

Primární replikace viru - v epitel. buňkách respir. traktu

Infekce endoteliálních buněk cév v nasální oblasti, virémie prostřednictvím monocytů a lymfocytů.

Sekundární replikace v endoteliálních buňkách dělohy, CNS, testes, endokrinních orgánů, ale také infekce trigeminálního ganglia



Herpesvirus psů (CHV-1)

- Fatální, hemorrhagické, generalizované onemocnění štěňat do 4 týdnů stáří. U dospělých psů vyvolává pohlavní onemocnění.
- Inkubační doba je 3 – 8 dní, typický je bolestivý nářek štěňat, bolesti břicha, anorexie, dyspnoe.
- U dospělých zvířat vaginální a prepuciální výtok, nodulární změny na sliznicích.
- Příležitostně vzniká respirační onemocnění.
- Kritické období k infekci jsou tři týdny před porodem a tři týdny po porodu.

Felinní herpesvirus-1

- virus rinotracheitidy koček
- Onemocnění respiračního aparátu, oka a vyjimečně kožní či neurologické projevy. Klinické příznaky bývají nejzřetelnější při primoinfekci koťat. Onemocnění označováno jako „ kočičí ryma“.
- Latentní forma
- Místem replikace je nosní sliznice, oko, tonzily a nazální konchy



Čeľad': *Parvoviridae*

- Neobalené viry
 - Velikost virové partikule kolem 25 nm
 - Genom tvoří ssDNA
 - Velikost genomu přibližně 5.2 kb
 - Ikozahedrální symetrie kapsidy
-
- Mimořádně stabilní a odolné (teplota, pH)
 - Replikace v jádře aktivně se dělících buňkách (enterocyty, leukocyty, myokard)
 - Většina druhů obsahuje hemagglutinin
 - Přenos- orální---orofaryngeální

Parvovirus psů

- Akutní vysoce přenosné onemocnění (CPV-1, **CPV-2**)
- Zvracení, hemoragická enteritida, myokarditida
- Přenos – orální-oropharynx – enterocyty—myokard—virémie
- Hostitelé: Canidae (psi, vlci, lišky, kojoti)—vysoká promořenost v útulcích a chovných stanicích
- Vysoká mortalita -2-3 dny po objevení kliniky
- Nejohroženější kategorie zvířat: 6 týdnů- 6 měsíců stáří.

Virus panleukopénie koček rod: *Protoparvovirus*

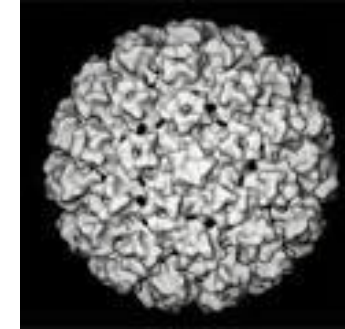


- Akutní vysoce kontagiozní nebezpečné onemocnění koček
- Patologické změny v GIT, CNS, kostní dřeni a lymfatickém systému
- Klinické příznaky: anorexie, zvracení, průjem, neutropénie a lymfopénie
- Typická je: hemoragická gastroenteritis
- Úmrtnost 25-100%

Očkování

- Není ze zákona povinné
- Od 6 týdnů věku 2-3 revakcinace, přeočkování 1x ročně
- Nobivac – 1x 3 roky
- Zvířata starší dvou let onemocní vzácně, mohou být ale zdrojem nemoci pro zranitelná štěňata. Proto je dobré očkovat pravidelně i starší zvířata.
- Parvoviróza je součástí všech kombinovaných vakcín proti infekčním psím onemocněním (puppy vakcíny)

Čeľad': *Papillomaviridae*



- 16 rodů v populaci člověka a zvířat – **rod: *Papillomavirus***
- Viry napadají epidermální a slizniční epitel, replikují se v jádře
- Čeľad' zahrnuje viry s onkogenní interakcí
- Způsobují benigní tumory (papilomy-chirurgické odstranění) nebo sarkoidy- (léčba cytostatiky)-akutní, chronické i latentní infekce
- Jejich diagnostika se provádí histologicky, elektron-mikroskopicky, případně metodami molekulární biologie.

Veterinárně významní zástupci: bovinní papilomaviry

papilomaviry koní

virus orální papilomatózy psů

papilomavirus králíků

- Humánní zástupci (HPV) přes 100 typů: kožní bradavice, genitální bradavice (nezhoubné), karcinom děložního hrdla u žen a penisu u mužů. Vysoce rizikové typy HPV (16, 18) – vakcíny CERVARIX, SILGARD

Charakteristika čeledi:

- **Neobalené** viry
- **Velikost** virové partikule 45 - 55 nm
- Sférický **tvar** s ikozahedrání **symetrií** nukleokapsidy
- **Genom** tvoří dvojvláknitá, cirkulární DNA
- Jsou **odolné** vůči vysokým teplotám, širokému rozmezí hodnot pH a organickým rozpouštědlům.
- Jsou schopny **produktivní** i **abortivní** infekce (transformace buňky)

Čeď: *ASFARVIRIDAE*

- African Swine Fever – není přenosný na člověka a jiné druhy zvířat
- Rod: Asfivirus
- Genom je složen z ssDNA
- velikost 170-215 nm
- Obalený
- RES (retikuloendotelový systém - soustava fagocytujících buněk roztroušená v řadě orgánů zejm. ve slezině, játrech, lymfatické tkáni. Podílí se na imunitě organismu.)
- Replikace v makrofázích
- Rezistence 4°C- 20°C – několik let
- Přenos - klíště, kontakt, zbytky potravin živoč. původu
- Reservoár – *Sus ethiopicus* – *východní Afrika*

Čeled': *Asfarviridae*

Výskyt:

- Gruzie, Belgie, Bulharsko, Estonsko, Litva, Lotyšsko, Maďarsko, Polsko nebo Rumunsko-tyto státy zasáhl africký mor prasat.
- Červen 2017, 200 případů, nyní aktuálně jsme zemí bez výskytu

Opatření:

- Náhodný odběr dovezeného vepř. masa ze zemí s výskytem
- Zákaz překrmování domácích zvířat zbytky potravin omezit přikrmování divočáků

Vzorky pro diagnostiku:

- Odebíranými vzorky jsou nesražená krev (bílé krevní buňky) a sérum
- slezina, játra, plíce ledviny, gastrohepatické a submandibulární mízní uzliny a tonzily.

RNA viry

Koronaviry, chřipkové viry, Lyssa virus

Obečné vlastnosti RNA virů

- Vysoká variabilita
- Replikace v cytoplazmě buněk (kromě Bornavirů)
- Genom je tvořený RNA

- **(+) ss RNA**

Picoronaviridae, Arteriviridae,
Coronaviridae

- **(+) ss RNA s reverzní transkripcí**

Retroviridae

- **(-) ss RNA**

*Paramyxoviridae, **Rhabdoviridae**, Filoviridae,*

- **(-) ss RNA se segmentovaným genomem**
viru)

Orthomyxoviridae (*antigenní a biologické varianty*

- **ds RNA**

Reoviridae

Čeľad: *Coronaviridae*

Since 1960

- Koronavirus (*Coronavirus*) - CORONA=VĚNEC, je společné označení (nikoli taxonomické jméno) pro čtyři rody (alfa, beta, delta a gamma) obsažených v podčeledi *Orthocoronavirinae*, řádu *NIDOVIRALES*: Způsobují závažnější i méně závažná onemocnění zvířat a lidí.
- Alfacoronavirus - respirační infekce drůbeže, ptáků, skotu, prasat, norci, netopýři, člověk, enterální infekce koček
- Betacoronavirus podrod-*Sarbecovirus* - roče 2002 nazvaný SARS-CoV (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus*)=ZOONÓZA, 10 % mortalita
- 2012 MERS-CoV (*The Middle East respiratory syndrome coronavirus*)=ZOONÓZA z velbloudů, Saudská Arábie, Jižní Korea, SAE
- 2019 Wu-chan –SARS-CoV2-(*Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*)
- Gamacoronavirus - lidé
- Deltacoronavirus- ptáci, kachny

Rod: *Alfacoronavirus*

- *Alfacoronavirus 1*
- Felinní koronavirus (FCoV)
- příbuzný koronavirus psů (CCoV)
- Porcine transmissible gastroenteritis virus (TGEV)
- *Alfacoronaviry*
- *Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV)*
- *Human coronavirus (HCoV-229E)*
- *Human coronavirus (HCoV-NL63)*

***Alfacoronavirus 1* Virus infekční peritonitis koček (FIPV)**

Výskyt v chovech s vysokou koncentrací zvířat. Smrtelné onemocnění. Neexistuje žádná spolehlivá terapie.

Onemocnění má dvě formy:

Efuzivní (vlhká)

Neefuzivní (suchá) – při částečně zachovalé imunitě

Virus FIP se vyvíjí mutací z enterálního koronaviru (FCEV). Oba viry se liší ve schopnosti množit se v makrofázích.

Místem primárního pomnožení je epitel tonzil a později následuje pomnožení v enterocytech tenkého střeva.

Infekce makrofágů v mezenterálních mízních uzlinách umožňuje distribuci viru v organismu.

Buněčná imunita má protektivní význam, protilátky spíše „usnadňují“ infekci (syndrom časně smrti) a navodí vznik imunokomplexů.

Vakcinace – „temperature sensitive“ mutanta aplikovaná na nosní sliznici (stimulace jen buň. imunity)

Felinní coronavirus (FCoV) =středně labilní	Opt.teplot a chovů (18-20°C)	Více než 7 týdnů	Suché prostředí	Sodium hypochlorid
--	------------------------------------	---------------------	-----------------	--------------------

FIP

Vlhká forma

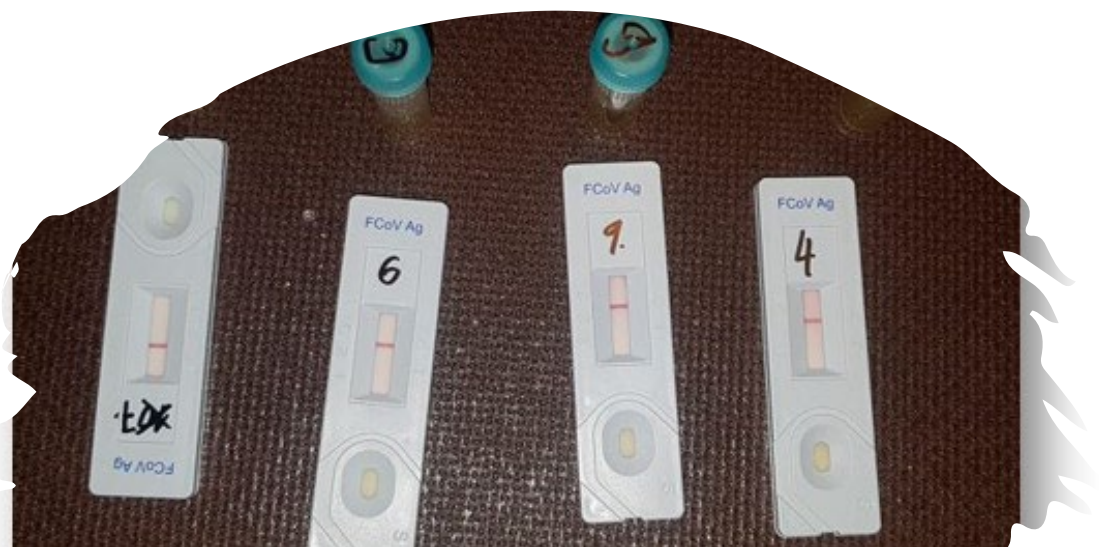


Suchá forma



Diagnostika

- krev – nespecifické změny v hematologii, Alb:Glob (<0,4), plazmatické bílkoviny (elektroforéza, alfa-1-kyselý glykoprotein)
- efuze – biochemie ($\uparrow$ protein) a cytologie ($\downarrow$ buněk, Neu, Mfg)
- trus – sledování vylučování, prevence v chovech – PCR
- rychlotesty pro průkaz Ag i Ab
- (*post mortem*) **imunohistochemie** tkáňových vzorků (Mfg)
- metody molekulární biologie (RT-nPCR, qPCR, sekvenování)
 - nejvyšší senzitivita (91,6 %) a specifita (94 %) testu z efuze



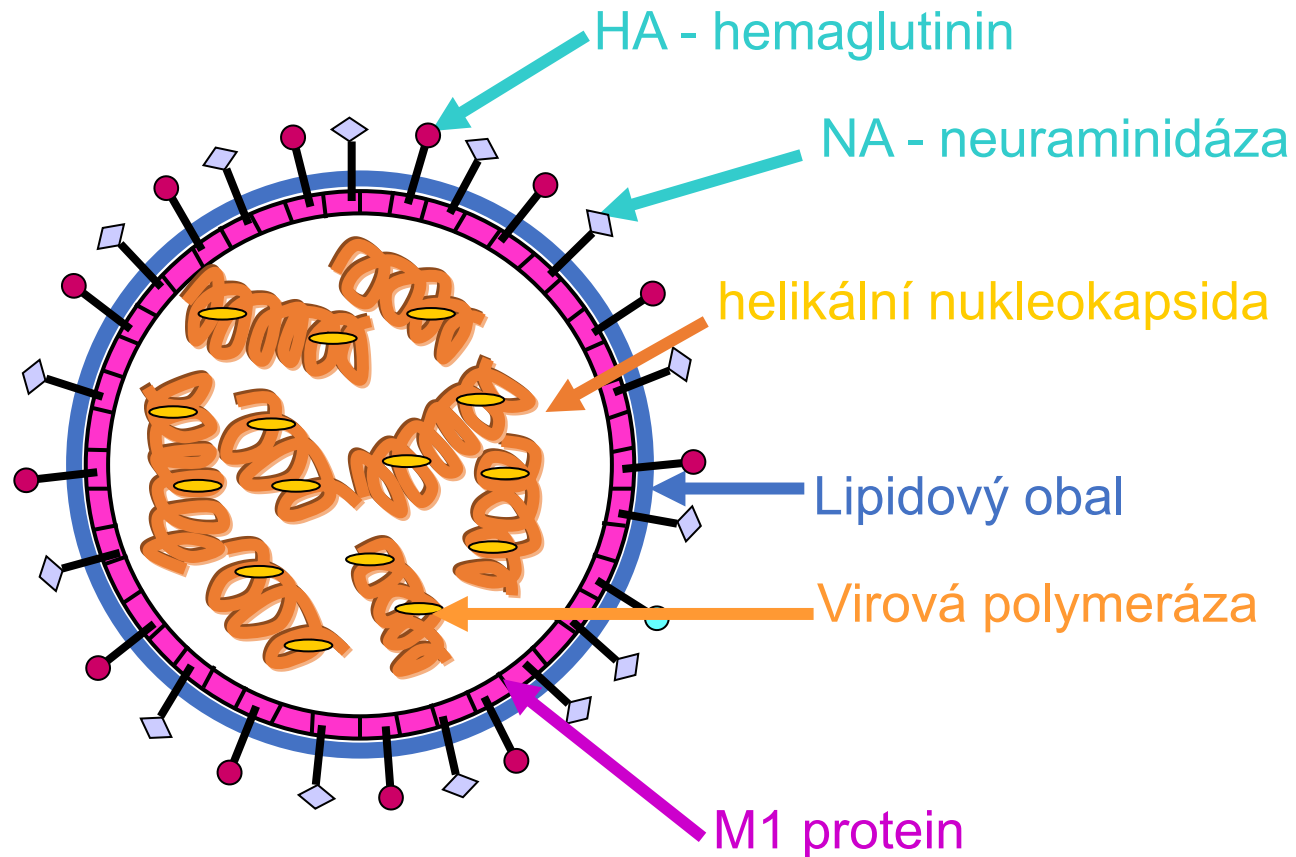
Čeled': *Orthomyxoviridae* = chřipkové viry

- Obalené viry
- Velikost virové partikule 80 - 120 nm
- Pleomorfní tvar, helikální symetrie kapsidy
- **SEGMENTOVANÝ** genom tvoří 7 - 8 fragmentů (-)ssRNA
- **Antigenní variabilita**
- Rody: Influenza virus A, B, C
- Odolnost viru ve vodě několik dnů

Subtypy influenzových virů u lidí

- 1918/19 španělská chřipka (H1N1), izolace viru r. 1933, virus cirkuloval do roku 1957
-
- 1957 asijská chřipka (H2N2) cirkulace do 1968
- 1968 Hong Kongská chřipka (H3N2)
- 1977 staronový virus H1N1 (Čína, Rusko, Evropa, Amerika)
- Současnost H3N2 a H1N1

Struktura influenzavirů A



typ A, B, C : **M1** protein

sub-typy: **HA (15 typů)** nebo **NA (9 typů)** proteiny

Hostitelé, klinické projevy

- **Člověk, prase, kůň**
- Horečnaté respirační onemocnění
- Replikace viru jen v respiračním traktu
- Inkubační doba 1-3 dny
- Člověk: H1N1
- Prase: H1N1, H3N2 (přenos z lidské populace)
- Kůň H7N7 (A/equi/1/Prague/1956)
H3N8 (A/equi/2/Miami/1963)

- **Vodní drůbež**

- asymptomatické onemocnění
- H1 – H15 a N1 – N9 všechny kombinace

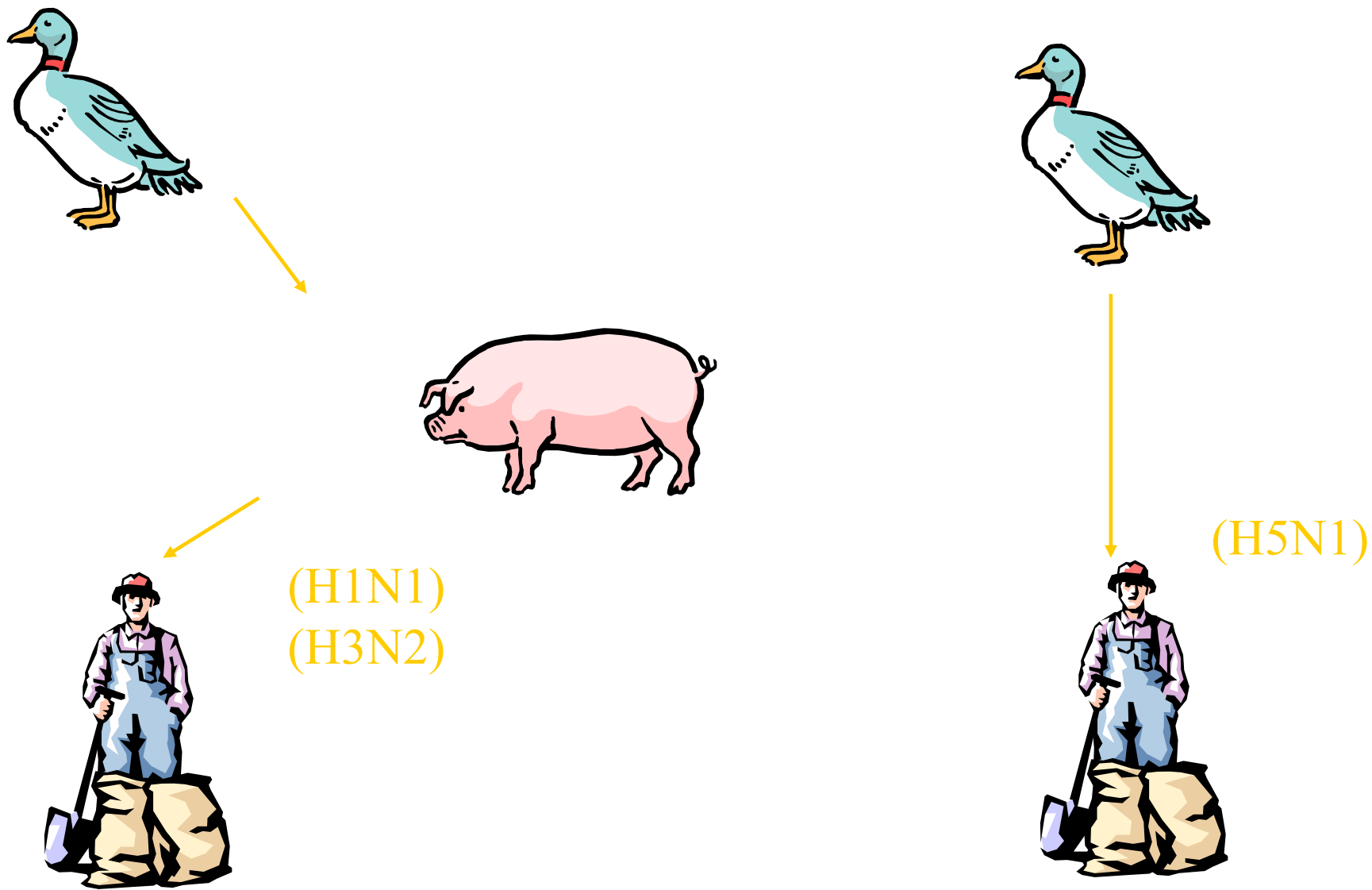
- **Hrabavá drůbež** (klasický mor drůbeže)

- Enterální a respirační onemocnění

Vysoce patogenní (HPAI) H5 a H7 (povinnost hlásit SVÚ)

- Nízce patogenní (LPAI)

Aviární influenza u člověka?



Antigenní variabilita

Antigenní drift (posun)

- Bodové mutace hemagglutininu viru
- Částečně zkřížená imunita

Antigenní shift (zvrát)

- Výměna genových segmentů
- Kompletní změna antigenní výbavy

Čeď: *Rhabdoviridae*

- **Rod: *Lyssavirus* *Virus vztekliny***

- Virus vyvolává akutní onemocnění CNS u teplokrevných živočichů, vyskytuje se celkem ve čtyřech sérotypech.
-
- sérotyp 1 kmen CVS (challenge virus standard – odvozený z kmene izolovaného Pasteurem) a
- kmeny viru vztekliny izolované v Evropě a Americe
- sérotyp 2 kmen Lagos bat – Afrika (nepřenosný na člověka)
- sérotyp 3 kmen Mokola – Afrika (rejsci, kočky)
- sérotyp 4 kmen Duvenhage- Afrika (přenosný na člověka)
-
- Rod: *Vesiculovirus* Virus vesikulární stomatitidy prasat je klinicky nerozlišitelné od SLAK.

Rabies = vzteklna

- Kosmopolitní zoonóza
- Akutní virové onemocnění charakterizované neurologickými příznaky
- Replikace v nervových buňkách (intracytoplasmatická)
- Poruchy chování, hyperiritace, agrese, parézy, paralýzy, letální průběh.
- Vnímaví jsou všichni teplokrevní obratlovci
- Reservoárové zvíře: masožravci (psi, kočky, kuny...), netopýři a
- primáti (opice).

V každé geografické oblasti existuje jedno rezervoárové zvíře

(CR, EU- *liška obecná*)

Rabies virus - morfologie

Genom:

lineární nesegmentované vlákno *RNA*

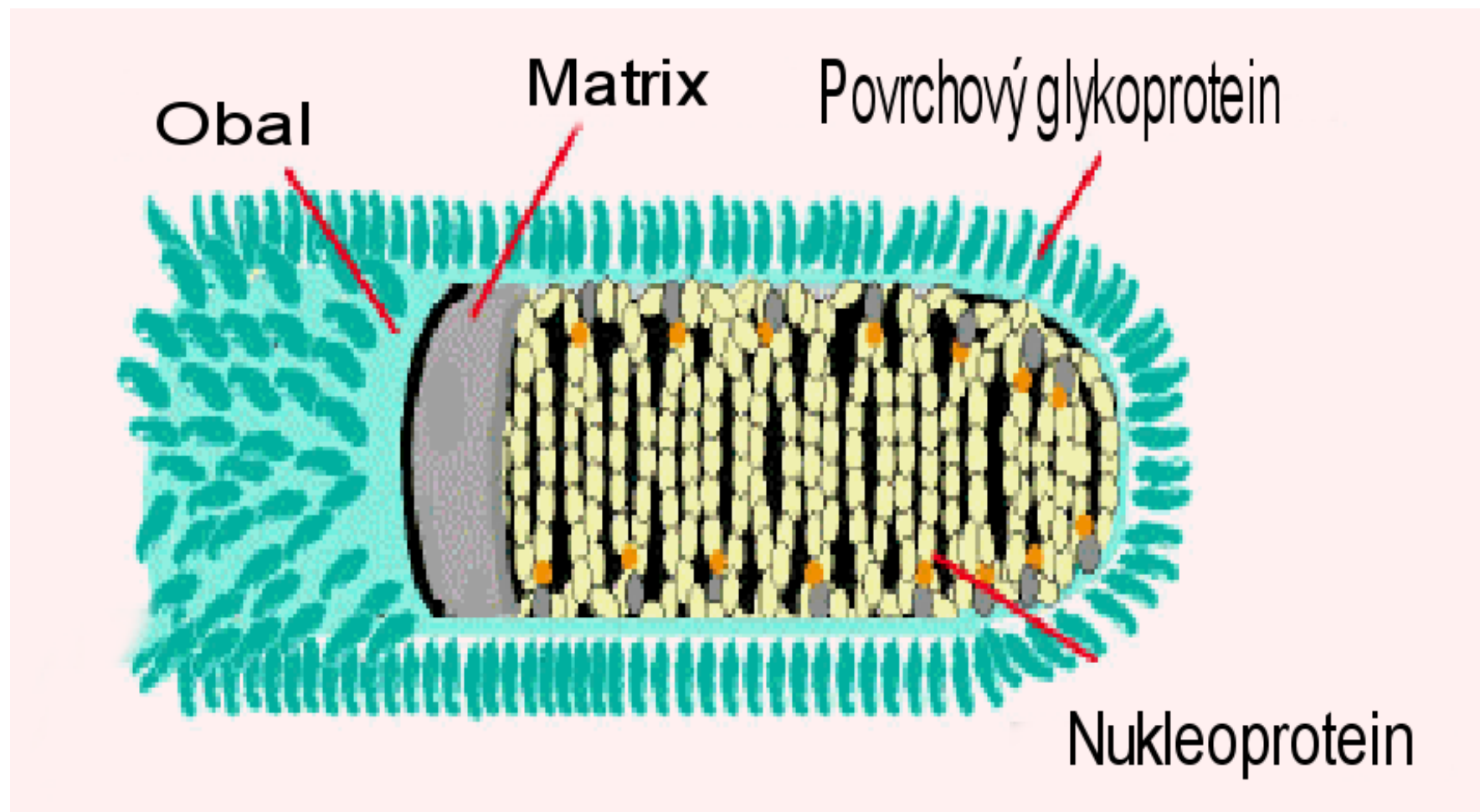
Negativní polarita

Obalený virus

velikost 130-240x 70-80nm

„ tvar projektilu“

Schema viru vztekliny



Replikace viru

- V cytoplasmě neuronů (neurotropní virus)
- Tvorba oválných eozinofilních inkluzí obsahující virový nukleoprotein (antigen)

Babes – Negriho tělíka

Patogeneze:

1. Virus napadá organismus kousnutím infikovaného zvířete hluboko pod kůži.
2. Primární replikace viru v buňkách svalů (myocyty)
3. Invaze periferních senzoryckých a motorických nervových vláken, váže se na receptory acetylcholinu (neurotransmitter) a postupuje do regionálních nervových ganglií
4. Infikovanými neurony a centripetálním pasivním pohybem mezi axony proniká do CNS
5. Výrazná replikace viru v oblasti CNS
6. Virus dosáhne limbického systému v mozku (chování) a výrazně se replikuje. Až replikace dosáhne k neokortexu, nastává paralýza a ochrnutí.
7. U rezervoárových zvířat virus penetruje do slinných žláz a do viscerálních orgánů (pancreas, nadledvinky)
8. Eliminace viru slinami, močí.

Klinika: Inkubační doba: 20-60 dní (rezervoárová zvířata delší).

Prodromální fáze: únava, anorexie, bolest hlavy, horečka, parestézie v okolí rány, deprese, podrážděnost, změna nálady.

Klinická fáze (furious): mozková dysfunkce, hyperaktivita, hypersalivace, zvýšená citlivost svalů, paréza, spasmus

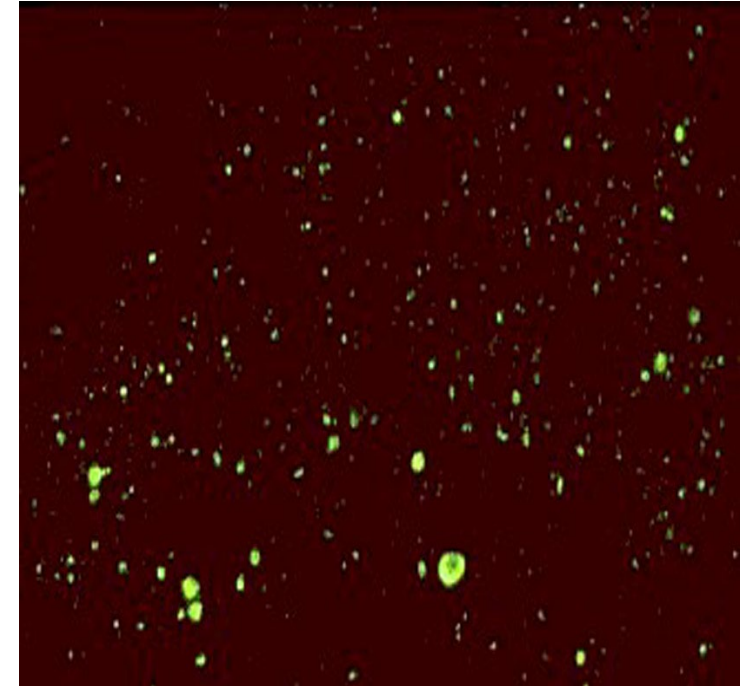
Terminální fáze: Paréza srdečního svalu, zástava dechu. Smrt.

Diagnostika:

Přímý průkaz

Vyšetřovaný materiál: tkáň mozku

1. Průkaz Babes Negri tělísek histologicky
2. Průkaz antigenu imunofluorescencí
3. Molekulární analýza- RT-PCR





**Financováno
Evropskou unií**
NextGenerationEU



**Národní
plán
obnovy**



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

Přednáška č. 3/Lobová Dana



Retrovirové infekce koček – přednáška č.3

Veterinární asistence/prosinec 2022, Mikrobiologie a parazitologie
zvířat

MVDr. Dana Lobová, Ph.D.



**Financováno
Evropskou unií**
NextGenerationEU



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



**Národní
plán
obnovy**

Většina druhů vyvolává nádorové onemocnění leukémie, lymfomy, a sarkomy u různých zvířecích druhů (savci, ptáci, plazi)

Většina virů obsahují onkogen (onc), který je kopírován do genomu hostitelských buněk

- Endogenní retroviry (kočky, drůbež, prasata) -většinou nepatogenní, vertikální šíření, silentní stav
- Exogenní - replikačně kompetentní jsou schopny samostatně se replikovat
 - ▶ Hostitelská specifita
 - ▶ Přenos: hematogenní, kontaktem, mlékem
 - ▶ Cílové buňky: LEUKOCYTY

Obecné vlastnosti RNA virů



Vysoká variabilita

Replikace v cytoplazmě buněk (kromě Bornavirů)

Genom je tvořený RNA

(+) ss RNA

Picoronaviridae, Arteriviridae,

Coronaviridae

➤ (+) ss RNA s reverzní transkripcí

Retroviridae

➤ (-) ss RNA

Paramyxoviridae, Rhabdoviridae,

Filoviridae,

➤ (-) ss RNA se segmentovaným genomem

Orthomyxoviridae

➤ ds RNA

Reoviridae



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Čeďed' *Retroviridae*: viry s reverzní transkripci



- obalené viry
- sférický tvar, velikost přibližně 100 nm
- ss RNA (pozitivní polarita) přibližně 10 000 nt.
- diploidní genom
- přítomnost reverzní transkriptázy
- pestrá škála interakcí s hostitelem
- exogenní i endogenní viry
- perzistentní, celoživotní infekce

Odolnost viru: Retroviry jsou inaktivovány detergenty, jsou mnohem více rezistentní k UV záření než viry ostatních čeledí



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Struktura viru - morfologie



Sférický tvar viru, obal, ikozahedrání kapsida

Velikost: 80-100 nm

Diploidní genom – dvě identické haploidní molekuly

Virion obsahuje **REVERZNÍ TRANSKRIPTÁZU** – RNA dependentní DNA polymeráza, která přepisuje virion RNA ve formě PROVIRU do buněčného chromozomu (genomu) hostitelské buňky – **latence**.



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Retroviry- rody



Alpharetroviruses	Avian leukosis virus , Avian sarcoma, Rous sarcoma virus	Drůbež, bažanti	Leukémie, lymfom, sarkom
Betaretrovirus	Pulmonary adenomatosis	Ovce	Pulmonární adenomatóza
Gammaretrovirus	FeLV and sarcoma	Kočka	FeLV, felinní sarkom
Deltaretrovirus	Bovine leukemia virus	Skot	Bovinní leukémie
Lentivirus	Maedi/Visna virus Caprine arthritis- encephalomyelitis virus Equine infectious anemia HIV FIV SIV – Simian immunodef. Virus	Ovce Koza Kůň Člověk Kočka Opice	Maedi/Visna Arthritis Infekční anémie koní AIDS Felinní imunodeficiencie Imunodeficiencie opic



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Rod: Gamaretrovirus - Virus felinní leukózy (FeLV)



Typy infekce:

Většina nakažených koček zůstává trvale infikována virem, projevy infekce se liší v závislosti na imunitním systému hostitele.

1. Progresivní: stále pozitivní v testech průkazu viru z krve, vysoké riziko rozvoje klinických projevů FeLV, virus šíří do chovů a mohou nakazit další kočky (sliny, krev)
2. Regresivní: dočasná pozitivita z krve, imunitní systém dokáže eliminovat virus z krve, nemusí dojít k rozvoji infekce, ale je zde riziko reinfekce (reaktivace viru), kočka není infekční
3. Abortivní: negativní test na antigen i když je kočka prokazatelně nakažena virem



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Patogeneze – replikace probíhá v T a B lymfocytech a v myeloidních buňkách

FeLV se vyskytuje v populaci koček asi v 8%, přenos kontaktem, hematogenně, vertikálně

Anémie

Immunosuprese

Enteritidy

Reprodukční poruchy

Celosvětové rozšíření

Hostitel–domácí a divoké kočky

Inkubační doba 4-6 týdnů-akutní stádium

3 roky-latentní forma

Diagnostika:

SNAP test- primární metoda detekce antigenu

RT nested PCR

Průkaz antigenu p27 (ELISA)

Rod: Lentivirus – Virus felinní imunodeficiency



Dlouhá inkubační doba

Tropismus k mononukleárním buňkám

Replikace v terminálně diferencovaných buňkách

Celoživotní perzistence

Antigenní variabilita

Vysoká druhová specifita

Klinické příznaky podle druhu cílových buněk



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

FIV - Virus felinní imunodeficiency



hostitel – kočka

hlavní cesta přenosu – kousnutí

cílové buňky

- monocyty / makrofágy

- lymfocyty T , B

- astrocyty

perzistentní, celoživotní infekce

- integrace proviru v hostitelských buňkách

- restrikce exprese virových proteinů

- antigenní drift

Protilátky se objevují za 2-4 týdny od počátku infekce perzistují do konce života.



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

FIV – Klinické příznaky, diagnostika viru



- Akutní fáze (několik týdnů)
generalizovaná lymfadenopatie, horečka, neutropénie
 - Asymptomatická fáze (3 - 5 let)
ARC (AIDS related complex)
chronické sekundární infekce ústní dutiny a horních cest dýchacích
 - FAIDS-felinní AIDS (5 - 10% infikovaných zvířat)
nádory
postižení CNS
- Diagnostika:** RT nested PCR,
Rychlý chromatografický test (průkaz protilátek ze séra)



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy