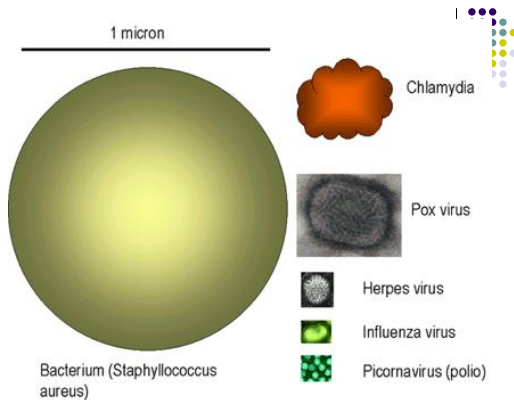


BIOLOGIA VIRUSURILOR. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL VIROZELOR.

• Particularitățile virusurilor

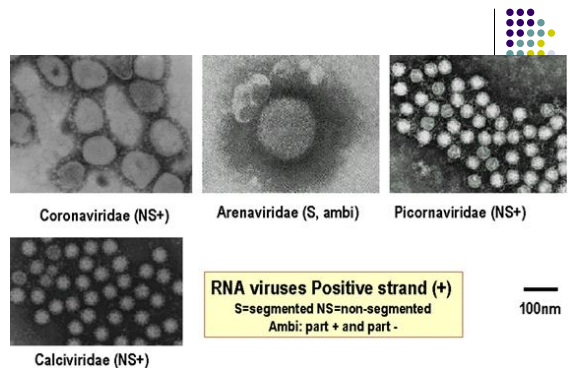
1. Reprezintă structuri acelulare cu potențial infecțios
2. Dimensiuni de rangul nm (20-400 nm)
3. Genomul viral este constituit dintr-un singur tip de AN (ADN sau ARN)
4. Sunt lipsite de metabolism propriu, fiind paraziți obligați intracelulari
5. Nu cresc și nu se divid, se reproduc în celule vii
6. Nu pot fi cultivate pe medii artificiale
7. Rezistență naturală la antibiotice

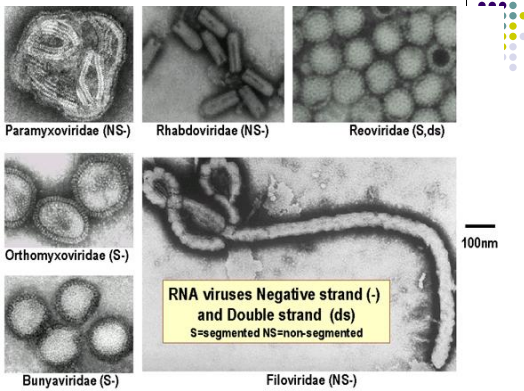


CLASIFICAREA VIRUSURILOR

- După tipul AN (cu genom ARN/ADN)
- După dimensiuni (mici – 20-50 nm, medii – 50-150 nm, mari – peste 150 nm)
- După tipul de simetrie a capsidel (helicoidală, cubică, mixtă)
- După compoziția chimică (simple, complexe)
- După gazdă (om, animal, insectă, bacterie)
- După sensibilitatea în mediul extern, substanțe chimice, etc

- **Ordin** (-vinales)
- **Familie** (-viridae)
- **Subfamilie** (-virinae)
- **Gen** (-virus)
- **Specie** (Virusul gripal, poliomieltic, al hepatitei B, etc)





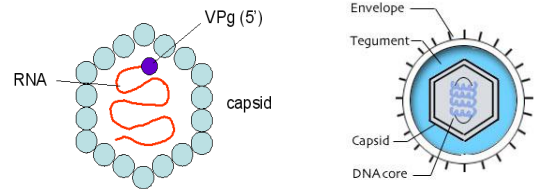
Virion – unitate structurală infecțioasă a virusului

Viroid – ARNm.c., circular, asociat cu boli la plante

Prion – proteină termostabilă infecțioasă, cauzează la om boala **Kuru**, **Creutzfeldt-Jacob**, sindromul **Gerstmann-Straussler**, **scraple** la oi

COMPOZIȚIA CHIMICĂ ȘI STRUCTURA VIRIONULUI

- **Virusurile simple** – acid nucleic (**AN**) și înveliș proteic – **capsida** (ansamblu numit **nucleocapsidă**)
- **Virusurile complexe** – **nucleocapsidă** și un înveliș extern, lipoglicoproteic (**supercapsidă**, **peplos**)



Acidul Nucleic – ADN sau ARN, mono- sau bicatenar, liniar, circular sau fragmentat.

ARN monocatenar : **ARN+** (catenă cu sens, funcție de ARNm) sau **ARN-** (catenă fără sens, este necesară prezența enzimei polimeraza)

Funcția AN – asigurarea replicării AN și expresia genomului pentru sinteza proteinelor virale

- **Virusuri ADNd.c.:** Hepadnaviridae, Adenoviridae, Herpesviridae, Poxviridae
- **Virusuri ADNm.c.+:** Parvoviridae
- **Virusuri ARNm.c.+:** Picornaviridae, Caliciviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Coronaviridae, Retroviridae
- **Virusuri ARNm.c.-:** Rhabdoviridae, Paramyxoviridae, Orthomyxoviridae, Bunyaviridae, Arenaviridae, Filoviridae
- **Virusuri ARNd.c. :** Reoviridae

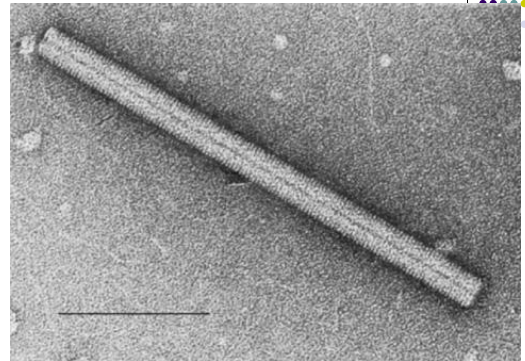
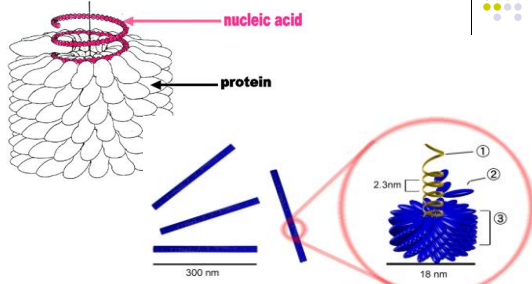
- I: Double-stranded DNA (e.g. [Adenoviruses](#), [Herpesviruses](#), [Poxviruses](#))
- II: Single-stranded (+) sense DNA (e.g. [Parvoviruses](#))
- III: Double-stranded RNA (e.g. [Reoviruses](#))
- IV: Single-stranded (+) sense RNA (e.g. [Picornaviruses](#), [Togaviruses](#))
- V: Single-stranded (-) sense RNA (e.g. [Orthomyxoviruses](#), [Rhabdoviruses](#))
- VI: Single-stranded (+) sense RNA with DNA intermediate in life-cycle (e.g. [Retroviruses](#))
- VII: Double-stranded DNA with RNA intermediate (e.g. [Hepadnaviruses](#))

Capsida – formată din unități proteice, **capsomere**, aranjate simetric.

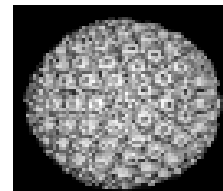
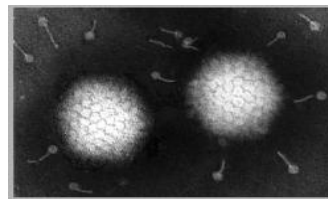
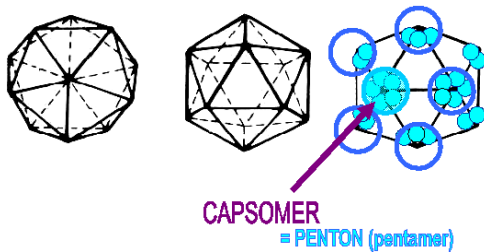
1. **Simetrie helicooidală** – capsomerele se fixează pe catena de AN, formă de bastonaș
2. **Simetrie cubică** (icosaedrică) – capsomerele se aranjează în jurul AN, formând un icosaedru (poliedru regulat cu 20 fețe triunghiulare și 12 vârfuri), $eikos=20$
3. **Simetrie mixtă** (bacteriofagii, poxvirusurile)

Funcția capsidei – protecția AN, rol antigenic, adeziune

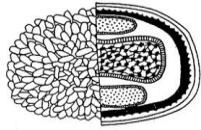
TOBACCO MOSAIC VIRUS



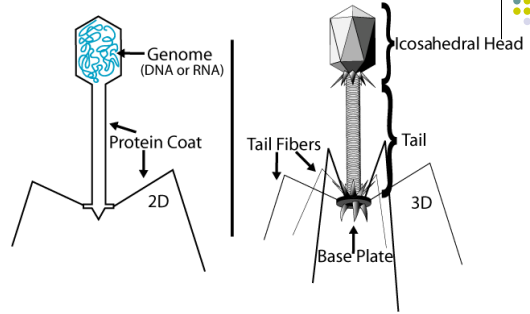
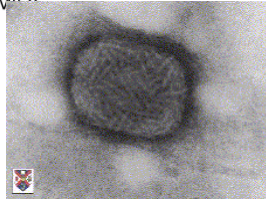
ICOSAHEDRAL SYMMETRY



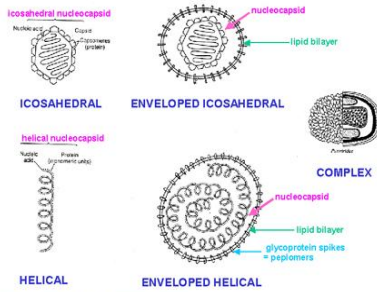
COMPLEX SYMMETRY



POXVIRUS FAMILY



5 BASIC TYPES OF VIRAL SYMMETRY



Adapted from Schaefer et al., Mechanisms of Microbial Disease

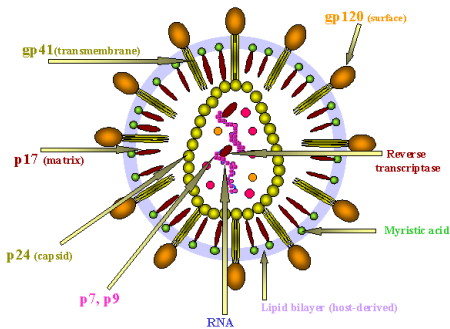
Supercapsida – structură glucido-lipido-proteică, derivată din membrana celulei gazdă. Lipidele provin din membrana celulară, iar glicoproteinele sunt de origine virală (ex.: hemaglutinina, neuraminidaza)

Funcție – protecție, antigene de suprafață, adeziune
Unele virusuri conțin **enzime** – polimeraze, transcriptaze, etc.

Acțiunea factorilor fizici, chimici

Virusurile sunt foarte sensibile la căldură, desiccare, raze UV. Detergenții și solvenții inactivează virusurile cu supercapsidă.

Pot fi conservate prin liofilizare sau la -80 C



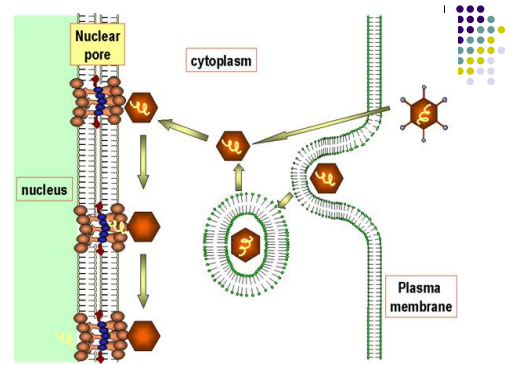
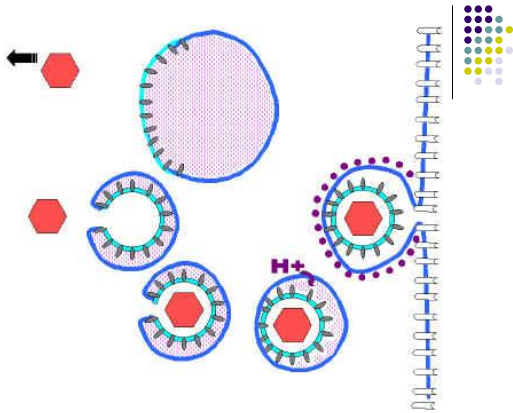
REPRODUCEREA VIRUSURILOR

I **ADSORBȚIA** virusului la celula-gazdă prin intermediul receptorilor specifici (tropism)

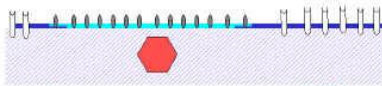
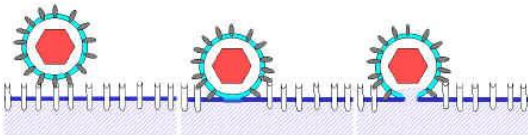
II **PENETRAREA** virusului în celulă

- a) Pinocitoză (viropexis)
- b) Fuziunea membranelor
- c) Translocare
- d) Injectarea AN în citoplasmă (bacteriofagii)

III **DECAPSIDAREA** (cu enzime celulare). Din acest moment urmează **faza de eclipsă**.



PENETRATION



herpesviruses, paramyxoviruses, HIV

IV BIOSINTEZA (sinteza proteinelor și replicarea AN)

Are loc în citoplasmă (virusuri cu ARN) sau în nucleul celulei (virusuri cu ADN)

Biosinteza virusurilor ADN

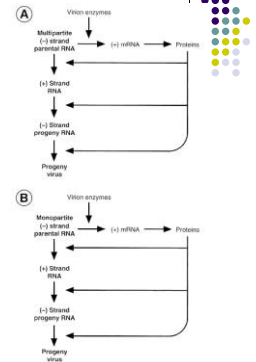
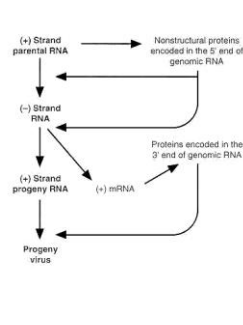
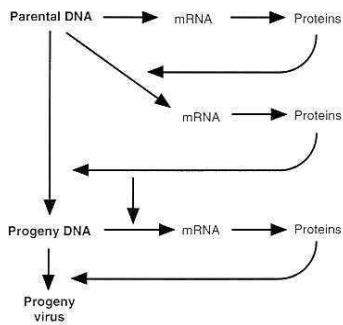
ADNdc → transcrierea ARNm → replicarea, translația (precoce, tardivă) → sinteza proteică

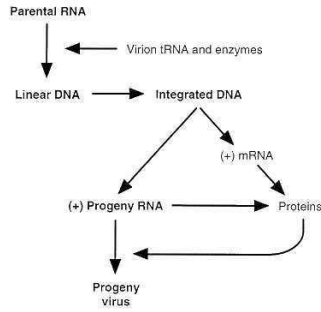
Biosinteza virusurilor ARN

ARN+ → replicare, translație → sinteza proteică

ARN- → transcriere → ARNm → replicare, translație → sinteza proteică

Retrovirusuri (ARN+) → transcriere → ADN- → ADNdc → sinteză pr. (sau integrare în cromosom)





RNA VIRUSES THAT DO NOT HAVE A DNA PHASE			
Genome	RNA-dependent RNA polymerase (=transcriptase) in virion	Infectivity of RNA	Initial event in cell
RNA +	No	Infectious	Translation
RNA -	Yes	Non-infectious	Transcription
RNAd.c.	Yes	Non-infectious	Transcription

RETROVIRUSES			
Genome	RNA-dependent RNA polymerase (=transcriptase) in virion	Infectivity of RNA	Initial event in cell
RNA +	Yes	Non-infectious	Reverse transcription

V. MORFOGENEZA (asamblarea) și maturizarea virionilor

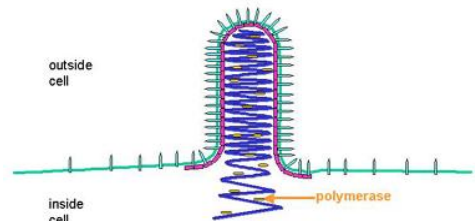
Proteinele capsidale participă la formarea nucleocapsidei (în nucleu sau citoplasmă) iar glicoproteinele sunt inserate în MCP, substituind proteinele celulare. În această fază apar incluziunile virale sau corpusculii elementari.

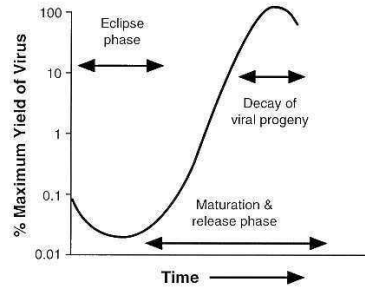
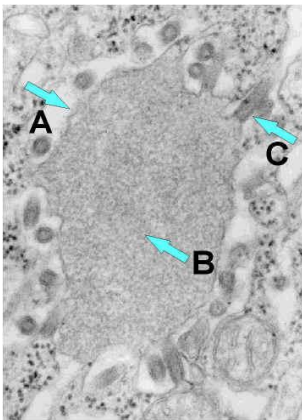
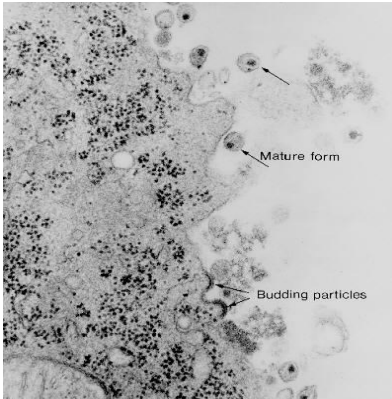
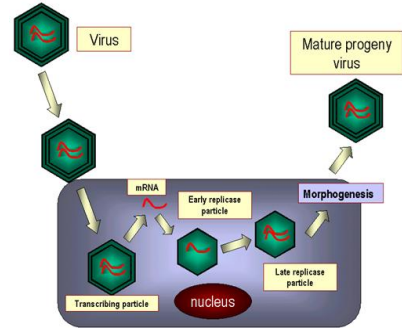
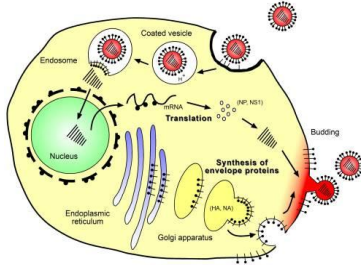
VI. ELIBERAREA virionilor (liza celulei, înmugurire, excitoză). Nr lor poate atinge 100.000 per/celă. Ciclul reproductiv viral are durata variabilă – de la câteva ore până la câteva zile (ex.: 8h – poliovirus, 72h – citomegalovirus).

Interferența virală – fenomen în care, consecutiv infecției unei celule cu 2 virusuri, multiplicarea unuia este inhibată (virus interferat / virus interferent)



ASSEMBLY





RELAȚII VIRUS-CELULA GAZDĂ

- **Infecție virală productivă, citocidă**

Virusul este infecțios iar celula permisivă (receptivă). La nivelul ma/o corespunde infecțiilor acute, aparente sau inaparente (gripă, rujeolă ...)

- **Infecții virale persistente**

Celulele infectate supraviețuiesc, cu producerea permanentă sau intermitentă a virusului.

1. **Infecții abortive** (cu virioni defectivi) – infecția nu se exprimă, are loc transformarea celulelor prin proteine virale. Ele devin țintă pentru efectorii imunității (macrofage, T-limfocite) în cursul unor infecții cronice (ex.: Panencefalita Sclerozantă Subacută (PESS) post-rujeolică)

2. **Infecții integrate** (virusuri ADN sau copii de ADN ale Retrovirusurilor). Consecințe:

- **Transformarea malignă** a celulei gazdă
- **Infecții lente** - manifestarea infecției după o perioadă de incubație îndelungată cu expresia integrală a genomului viral (ex.: HIV-SIDA)
- **Infecții latente** - reactivări ocazionale, repetate ale infecției cu exprimarea integrală a informației genetice virale (ex.: infecția herpetică)
- **Infecții cronice** – perioade de remisie și acutizare, virusul este prezent permanent, chiar în absența simptomelor (ex.: hepatita virală B)

CULTIVAREA VIRUSURILOR

Virusurile sunt cultivate pentru:

- Stabilirea diagnosticului etiologic
- Testarea infecțiozității virusurilor
- Testarea preparatelor antivirale
- Producerea vaccinurilor

SISTEME DE CULTIVARE

1. Culturi de celule
2. Ou embrionat de găină
3. Animale de laborator

Animalele de laborator se utilizează limitat (receptivitate selectivă, preexistența infecțiilor, cost avansat). Se recurge numai când nu există alte posibilități (VHB, HIV, Coxsackie, etc). Constituie modele de cercetare sau de control al vaccinurilor. Animale utilizate curent – șoricii albi născuți, dar pot fi utilizați șobolani, cobai, maimuțe, etc.

Regulile de lucru cu animalele de laborator (selectare, inoculare, examinare) sunt identice cu cele din infecțiile bacteriene.

Oul embrionat de găină (5-13 zile) reprezintă un mediu de celule nediferențiate, cu multiplicare activă, steril și lipsit de mijloace de apărare antiinfecțioasă. Se utilizează în prepararea unor vaccinuri virale (ex.: gripal)

- Inițial se verifică viabilitatea embrionului la oscop în camera obscură.
- Prelevatul se inoculează steril cu seringă în cavitatea amniotică sau alantoideană, sau pe membrana chorioalantoideană (utilizând metoda deschisă sau închisă).
- Orificiul se parafinează și se incubează la 35-37 C timp de 48-72 ore



Culturile de celule (1949 - Enders, Weller, Robbins).

Celule provenite din țesuturi adulte sau embrionare, normale sau tumorale. Plasate într-un mediu adecvat (nutrienți, pH, T) rămân viabile și se multiplică. Pentru cultivarea virusurilor se utilizează culturile în monostrat celular.

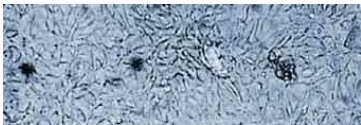
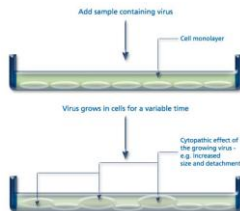
Tipurile de culturi de celule (CC):

- **Culturi primare** (primar tripsinizate). Sunt obținute din țesuturi adulte sau embrionare de origine animală sau umană. Suportă 4-6 pasaje (subcultivări)
- **Culturi diploide**. Obținute din țesut embrionar (MRS5, fibroblaste umane). Pot fi subcultivate 40-50 generații
- **Linii continui de celule**. Obținute din țesut tumoral. Pot fi subcultivate nelimitat.

HeLa – carcinom de col uterin

KB – tumoare a rinofaringelui

Hep-2 – tumoare canceroasă a laringelui

**Obținerea culturilor de celule primar tripsinizate:**

- Prelevarea țesutului (ex.: rinichi de maimuță)
- Fragmentarea și spălarea cu sol. fiziologică
- Dezagregarea tisulară cu enzime proteolitice (tripsina)
- Separarea celulelor prin centrifugare
- Dozarea suspensiei - 10^5 – 10^6 celule/ml
- Introducerea celulelor în mediu nutritiv și repartizarea în recipiente sterile
- Incubarea până la formarea monostratului celular (inhibiție de contact)
- Monostratul poate fi infectat cu virus sau servește drept sursă de celule pentru o nouă cultivare (pasaj)

Mediile de cultură pentru culturi de celule (**Eagle, Hanks, 199, hidrolizat de lactalbumină**, etc), conțin AA, Vit, factori de creștere, săruri minerale, roșu fenol pentru monitorizarea pH (virează în galben în mediu acid). Varietati:

1. **Mediile de creștere** (pentru cultivarea CC) sunt îmbogățite cu ser sangvin (uman, animal)
2. **Mediile de întreținere** se utilizează pentru menținerea monostratului în procesul reproducerii virale. Nu conțin ser.

CC reprezintă sistemul virus-gazădă predilect în virologia clinică și cercetare.

Inocularea CC

- Se aleg tuburi cu monostrat bine format
- Se înlătură mediul de creștere, se spală cu sol. Hanks
- Se inoculează 0,1 – 0,2 ml de prelevat
- Peste 30-60 min în tuburi se toarnă câte 1 ml mediu de întreținere
- Se introduc în termostat la temperatura adecvată 3 - 4 zile

DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL VIROZELOR**Indicații:**

- Boli cu măsuri terapeutice sau profilactice speciale (SIDA, hepatite, rubeola, etc)
- Elucidarea etiologiei virale a unor izbucniri epidemice (meningite, gastro-enterite, pneumonii, etc)
- Supravegherea epidemiologică

Prelevate: LCR, sânge, exsudate, secreții nazale, rinofaringiene, mase fecale, urină, conținutul veziculelor și ulcerățiilor cutaneo-mucoase, bioplate, etc.

Eficacitatea diagnosticului este condiționată de:

1. Examinarea precoce (la debutul bolii)
2. Alegerea corectă a prelevatelor, calitatea lor
3. Transportarea rapidă a probelor sau utilizarea mediului de transport
4. Respectarea regulilor de autoprotecție și de protecție a anturajului la recoltarea, transportarea și examinarea probelor



METODELE DE DIAGNOSTIC AL VIROZELOR

METODE DIRECTE

- **Examenul virusoscopic** (evidențierea directă a virionului sau a componentelor lui în prelevate)
- **Examenul virusologic** (izolarea și identificarea virusului)
- **Detectarea Ag virale în prelevat**
- **Identificarea genomului viral** (hibridizarea AN, amplificarea genică – PCR)

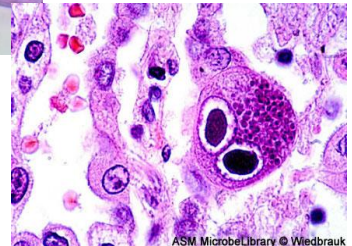
METODE INDIRECTE

- **Serodiagnosticul** (creșterea de cel puțin 4 ori a titrului Ac în dinamică)

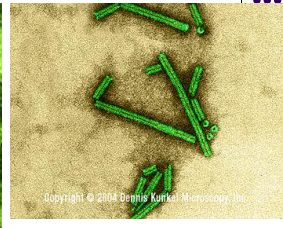
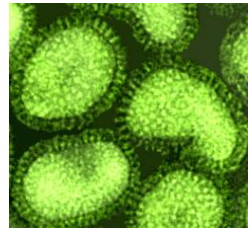
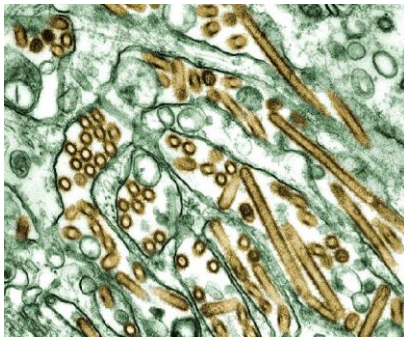


EXAMENUL VIRUSOSCOPIC

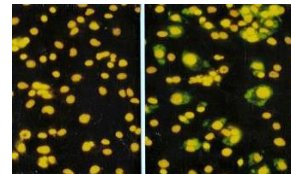
1. **Microscopia optică** – depistarea în prelevat a incluziunilor virale specifice (corpusele Guarnieri în variolă, Babeș-Negri în rabie) sau nespecifice, citoplasmatic sau nucleare. Se prepară frotiuri sau frotiuri-amprente colorate Romanovschi-Giemsa, cu hematoxilină-eozină sau cu fluorocrom
2. **Microscopia electronică**
3. **Imunoelectronmicroscopia** – mai sensibilă, mai specifică. Se examinează complexe imune virus – Ac
4. **Imunofluorescența** (directă și indirectă) – utilizată în diagnosticul rapid al virozelor



ASM, MicrobeLibrary © Wiedbrauk



Copyright © 2004 Dennis Kunkel Microscopy, Inc.



EXAMENUL VIRUSOLOGIC

Prelucrarea prealabilă a prelevatelor:

- Omogenizarea (după necesitate)
- Înlăturarea elementelor celulare, inclusiv bacteriene (centrifugare, ultrafiltrare)
- Tratarea cu antibiotice pentru prevenirea creșterii bacteriilor și fungilor contaminanți (penicilină - 500 UA/ml, streptomycină - 500 UA/ml, nistatină - 20 UA/ml)



ETAPELE DIAGNOSTICULUI VIRUSOLOGIC

1. Izolarea virusului
2. Evidențierea (indicarea) reproducerii virale
3. Identificarea virusului

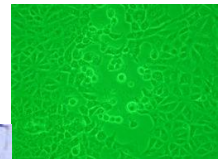
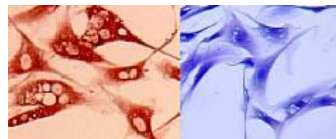
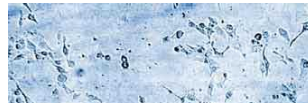
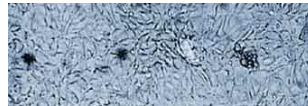
Izolarea virusului se realizează prin inocularea cu material de examinat a animalelor de laborator, embrionilor de găină sau a culturilor de celule. Alegerea sistemului de cultivare se efectuează în funcție de particularitățile biologice ale agentului etiologic probabil și posibilitățile laboratorului.



Indicarea virusului

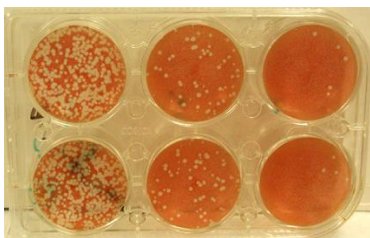
• În culturi de celule

1. **ECP (efect citopatic)**– modificări degenerative și distrugere celulară, rezultat al multiplicării virale (rotunjire sau retracție celulară, citoliză, apariția vacuolelor sau granulelor în citoplasmă, picnoza nucleului, fuziunea membranelor, etc). ECP poate fi studiat la microscopul optic pe celule necolorate sau colorate cu hematoxilină-eozină, Giemsa, fluorocrom.



2. Formarea plajelor

Reprezintă focare de celule alterate în monostratul celular acoperit cu agar. Numărarea plajelor permite cuantificarea virusului infectant.

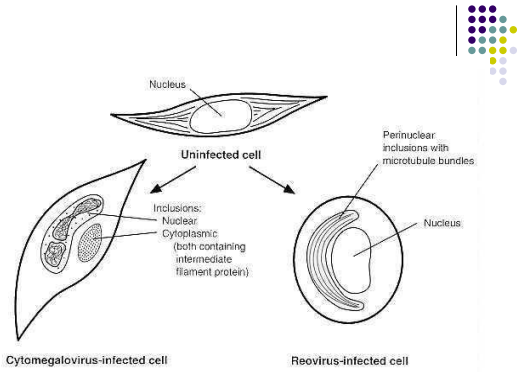


3. Incluziuni virale

Reprezintă acumulări paracristaline de virioni sau de componente virale în locul de replicare și asamblare a virusurilor (citoplasmă, nucleu). Colorația Giemsa, hem-eozină, fluorocrom.

Localizarea, forma și afinitatea tinctorială (bazofile, acidofile) sunt particularități diagnostice pentru unele viroze.





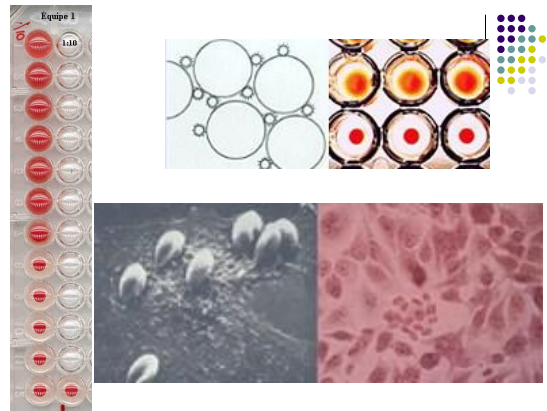
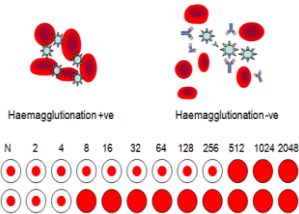
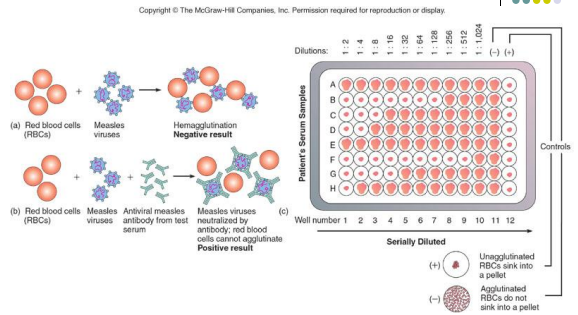
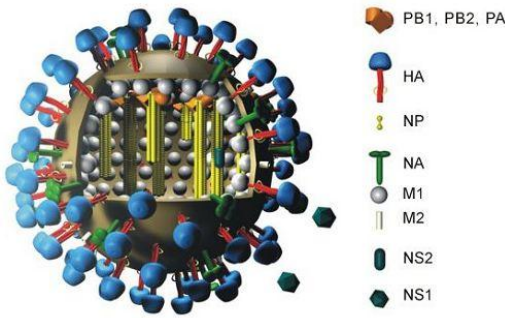
4. Hemaglutinarea (Reacția de HA)

Unele virusuri posedă în componența capsidei, în special a supercapsidei, glicoproteine care pot adera la suprafața hematiilor – hemaglutinine (HA).

RHA este caracteristică pentru virusurile cu HA acumulate în mediul de întreținere. În acest caz mediul de întreținere aglutinează eritrocitele unor specii de mamifere sau păsări.

5. Hemadsorbția (Reacția de HAd)

RHAd este caracteristică virusurilor cu HA care se află intracelular. În procesul asamblării acestor virusuri, HA lor se află deja înserate în MCP a celei-gazdă la nivelul viitorului mugure. Dacă la această etapă în recipientul cu monostat celular se adaugă suspensie de hematii și se menține 15-20 min la temperatura caracteristică fiecărui virus, la microscop pot fi urmărite hematiile fixate la suprafața celulelor infectate (RHAd).



6. Proba colorii

- Metabolismul celular neafectat – virajul colorii mediului din roșu în galben (pH acid)
- Metabolismul celular inhibat – culoarea mediului nu se modifică

7. Interferența

Ex.: V.rubeolic nu produce ECP, dar determină fenomenul de interferență. Pentru detectarea V.rubeolei se infectează CC cu virus citopatogen. Lipsa multiplicării acestui virus confirmă prezența V.rubeolic



Indicarea virusului în oul embrionat de găină

Ouăle se răcesc 18 ore la +4 grade C pentru vasoconstricție maximă, apoi aseptice se taie coaja, se recoltează lichidul alantoic sau amniotic, iar MCA și embrionul se introduc în cutii Petri sterile. Se observă:

1. Moartea embrionului
2. Apariția modificărilor (hemoragii, pustule) pe MCA
3. Acumularea de HA în lichide



Indicarea virusului pe animale de laborator

1. Boala manifestă a animalului, deces
2. Urmărirea virusului în organele-țintă:
 - Hemaglutinare
 - Infecțiozitatea omogenatelor
 - Examine histopatologice (leziuni inflamatorii, degenerare, incluzii virale specifice: corp. Babeș-Negri în neuroni infectați cu V.rabic, etc)



Identificarea virusurilor

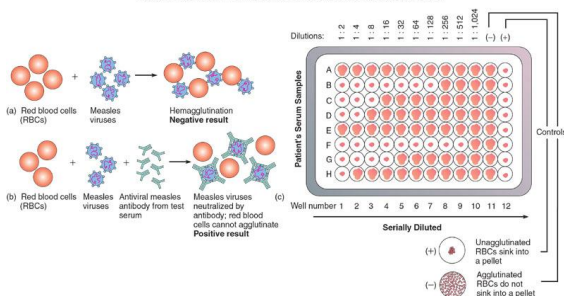
Determinarea genului, speciei și serotipului de virus prin stabilirea structurii antigenice.

Se efectuează cu ajutorul serurilor imune specifice antivirale în diferite reacții serologice:

- RN
- RLA
- RIHA/RIHAD
- RFC
- RIF
- RIE (ELISA)
- ARI, etc



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



DETECTAREA AG VIRALE ÎN PRELEVATE

Avantaje: simplitatea și rapiditatea examenului, nu necesită menținerea infecțiozității virusului

Dezavantaje: sensibilitate direct proporțională cu cantitatea virusului din prelevat

Se utilizează Ac policlonali de origine umană (seruri imune) sau Ac monoclonali (de origine murină)

Reacții: RHA, RLA, RIF, RIE (ELISA), Western-blot, ARI, etc.



IDENTIFICAREA GENOMULUI VIRAL

(punerea în evidență a AN virali din prelevate în cursul infecțiilor virale acute sau cronice și monitorizarea tratamentului).

Pot fi examinate toate țesuturile și lichidele biologice

- Hibridizarea acizilor nucleici fără amplificare
- Hibridizarea după amplificare (PCR și variantele ei)



DIAGNOSTICUL SEROLOGIC

Esența: depistarea Ac sintetizați de gazdă în răspuns la o infecție virală.

După o **primo-infecție** are loc inducerea formării Ac, iar după o **reinfectie** sau reactivare titrul Ac crește în dinamică.

În serodiagnosticul virozelor este obligator de a examina **2 probe de ser** de la bolnav (seruri-perechi): prima prelevată la debutul bolii, a doua prelevată peste 15 zile.



Ac sunt depistați în ser, uneori în LCR, exsudate, lichid articular, etc.

Pentru depistarea Ac se utilizează Ag virale de referință (suspensie virală inactivată, proteine virale native sau recombinante, oligopeptide sintetice).

Tehnici utilizate: **RFC, RIHA, RHA, RN, RIFI, ARI, AIE (ELISA)**, etc.

Semnificație diagnostică prezintă **trecerea titrului de Ac de la 0 la pozitiv** (seroconversie, primo-infecție) sau **creșterea titrului Ac de cel puțin 4 ori** în cursul infecției. Ambele seruri vor fi testate în aceeași zi, prin tehnici identice și în același laborator.



TERAPIA ANTIVIRALĂ

Dificultăți:

- Toxicitate (imposibil de a distruge virusul fără afectarea celulei!)
- Apariția mutantelor rezistente
- Activitate asupra virusului în fază de multiplicare
- Costul avansat al tratamentului

Primele preparate antivirale – anticancerose.

Preparatele antivirale contemporane:

- Nu manifestă activitate virucidă, doar inhibă reproducerea virală
- Sunt dirijate contra etapelor reproducerii virale



• Aderiunea virusului la celulă

Mecanismul – blocarea receptorilor celulari (HIV-oligopeptidul T, care reproduce *gp120*; *CD4* solubili)

Dificultăți: afinitate redusă, degradare rapidă

• Fuziunea, penetrarea

Reprezintă peptide sintetice (*pentafuzida-T20*, *T1249*) blochează fuziunea virusului HIV cu membrana celulară (dificultate – injecții s/c zilnice)

• Decapsidarea

Amantadina, *rimantadina* inhibă decapsidarea virusului gripal A

Utilizare limitată – dezvoltarea rezistenței



• Replicarea

Mecanismul – blochează activitatea enzimelor virale de reproducere (transcriptaze, polimeraze, replicaze)

Avantaj – nu influențează componentele celulei-gazdă

1. Analogii nucleozidici

Se disting de nucleozidele naturale prin modificarea componentului glucidic sau a bazei purinice sau pirimidinice. Blochează elongarea catenei de ADN în curs de formare.

- Antiherpetice (*aciclovir*, *ganciclovir*, *penciclovir*, *idoxuridin*)
- Anti-HIV (*zidovudin*, *didanosin*, *zalcitabin*, *stavudin*, *lamivudin*, etc)
- Anti-HBV (*entecavir*, *LdT*, *LdC* – fază de cercetare)



2. Analogi nucleotidici

- *Cidofovir* - CMV, HSV
- *Adefovir* - HIV, HBV, HSV, CMV
- *Tenofovir* – HIV, HBV

3. Analog al pirofosfatului

- *Foscarnet* – HSV, CMV (HIV, HBV -?)

4. Inhibitori nenucleozidici ai RT HIV (*nevirapin, delavirin, efavirenz*)

Blocarea activității polimerazelor virale se realizează prin:

1. Competiție cu substratul natural al enzimei
2. Îngrămădirea sterică a centrului activ al enzimei
3. Incorporarea în catena de ADN în curs de sinteză
4. Blocarea procesului de elongare a catenei de ADN prin incapacitatea de a fixa un alt nucleozid pe analogul său artificial

Asamblarea, eliberarea

- **Inhibitori ai proteazei HIV** (*saquinavir, ritonavir, indinavir, amprenavir, lopinavir, nelfinavir, etc*) – toxicitate, rezistență
- **Inhibitori ai neuraminidazei** virusurilor gripale (*zanamivir, oseltamivir*). Activă contra gripei A și B (efect preventiv, curativ, rezistență rară)

INTERFERONII (IFN)

- IFN – ansamblu de proteine capabile să confere celulelor o stare de rezistență la o infecție virală.

IFN tip 1 (clasic, **antiviral**):

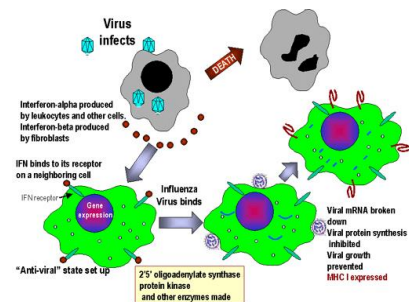
1. IFN-alfa (leucocitar)
2. IFN-beta (fibroblastic)

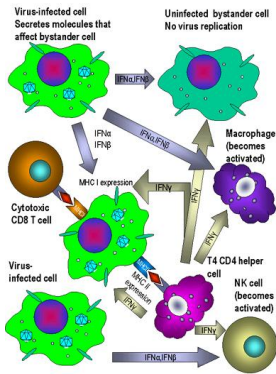
Inductori ai IFN 1: virusuri, LPS, ARN bicatenar

IFN-gamma, tip 2, Imun, produs de LT activate, NK. Manifestă activitate imunomodulatoare

- IFN acționează asupra ciclului de replicare virală prin intermediul celulei: interacțiunea IFN-alfa cu receptorul său induce sau stimulează expresia unor gene celulare, rezultând o activitate antivirală (blocarea translației ARNm viral, degradarea ARNm viral). Este posibilă și blocarea asamblării și înmuguririi virusului (HIV)
- IFN măresc expresia moleculelor clasa I a CMH, iar IFN-gamma și a celor de clasa II
- IFN măresc activitatea macrofagelor și manifestă activitate antiproliferativă
- IFN-gamma activează celulele NK

Utilizarea terapeutică a IFN- hepatite B și C cronice, infecții herpetice, sarcomul Kaposi, limfome, leucemii
Alte citokine (TNF- α , IL-2, IL-4, IL-10, IL-12) sunt la etapa de testare in vitro.



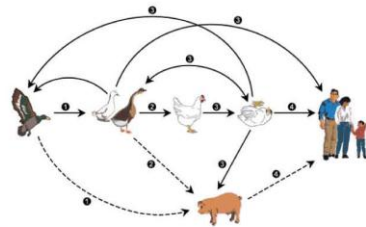


● **TERAPIA CELULARĂ (CMV, EBV)**

Fondată pe administrarea CTL (limfocite Tc) autologe.

- Prelevarea sângelui de la bolnav
- Izolarea CTL specifice
- Clonarea și proliferarea CTL in vitro
- Reinjectarea la pacient

VIITOR: fototerapia, imunizarea intracelulară (introducerea unei gene ce codifică un anticorp antiviral)



[Back to article](#)

Figure 1. Emergence of H5N1 influenza virus and control options. A nonpathogenic H5 influenza virus is believed to have spread to domestic ducks and geese, then to domestic chickens. In chickens, the H5 virus became highly pathogenic before it was transferred back to domestic ducks and geese. The highly pathogenic H5 virus reassorted its genome with those of other influenza viruses in aquatic birds, and the resulting viruses spread to domestic poultry farms, humans, and occasionally to pigs. These viruses acquired mutations in their PR2, HA, NA, and NS genes that made them lethal to domestic and wild waterfowl and humans. Solid lines, transmission demonstrated; dotted lines, transmission postulated but not demonstrated. Multiple opportunities exist for control of highly pathogenic avian influenza: 1) prevent contact between wild and domestic poultry by use of screened poultry houses and treated water; 2) prevent contact between domestic waterfowl and gallinaceous poultry by use of screened houses and treated water and by exclusion of waterfowl from "wet markets"; 3) eradicate H5/H7 influenza viruses from gallinaceous poultry by culling or the use of vaccines that prevent disease and transmission; 4) prevent contact between poultry, pigs, and humans and make vaccines and antiviral drugs available.