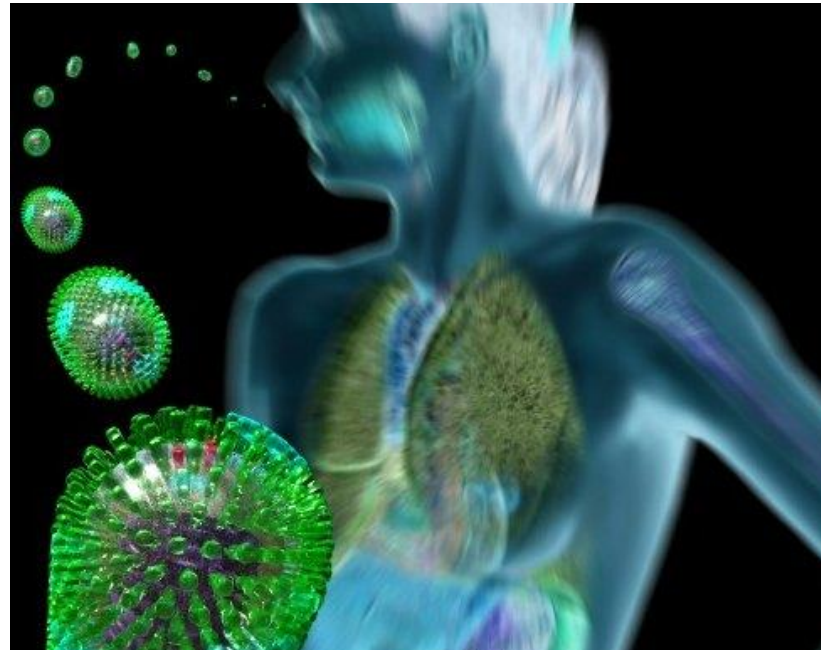


Patogeneze virových nákaz
přednáška 2

Vstup viru do hostitelského organismu, šíření viru a vylučování z organismu



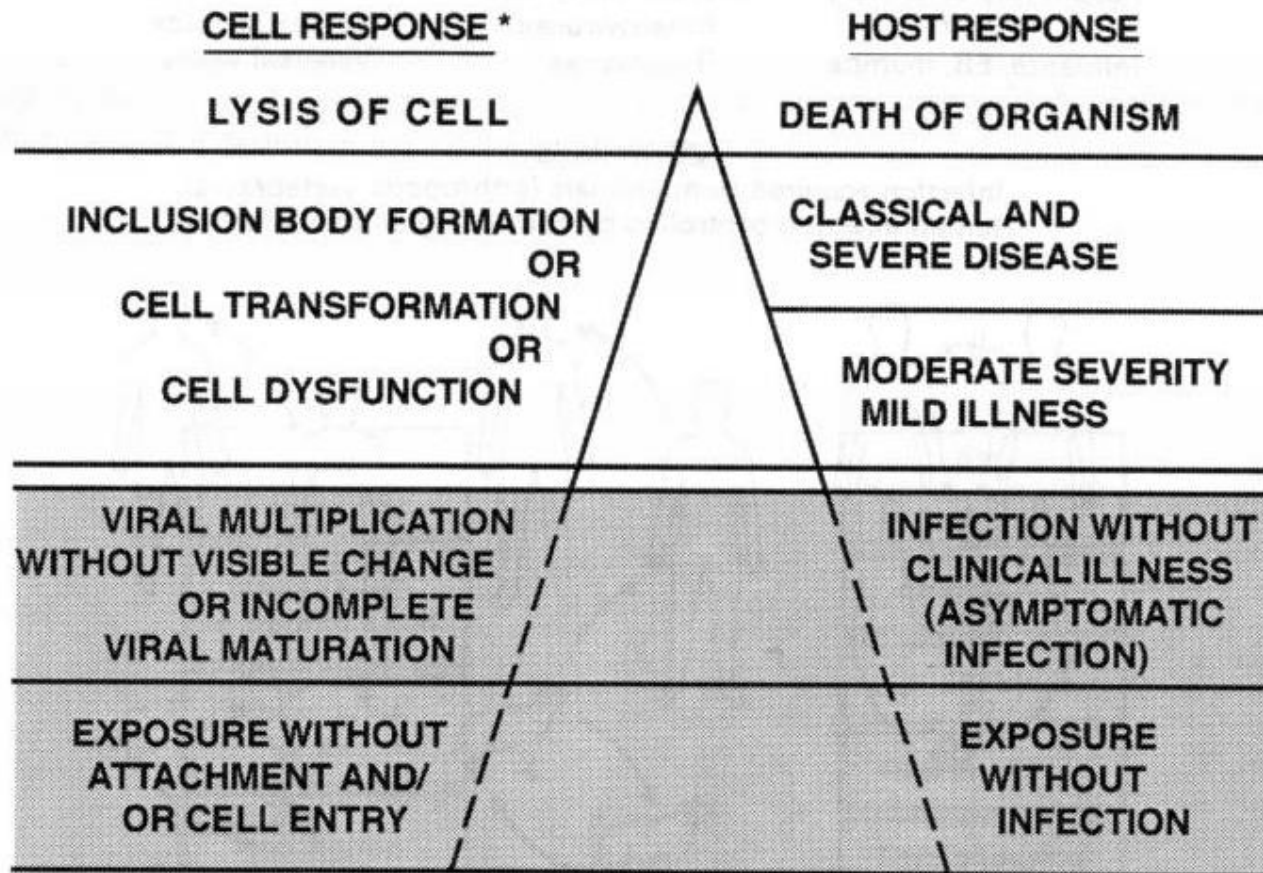
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



NÁRODNÍ
PLÁN OBNOVY

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

BELOW VISUAL CHANGE DISCERNABLE EFFECT



SUBCLINICAL DISEASE CLINICAL DISEASE

ICEBERG CONCEPT OF INFECTION

**Portal
of entry**

**Attachment
to sensitive cell**

**Penetration
of cell**

Replication

**Compromised
host
defenses**

**Skin
Mucous membrane
Gastric pH**

Interferons

Lymphokines

Macrophages

T-lymphocytes

**Cell-mediated
immunity**

Antibody

**Virus
Pathogenesis**

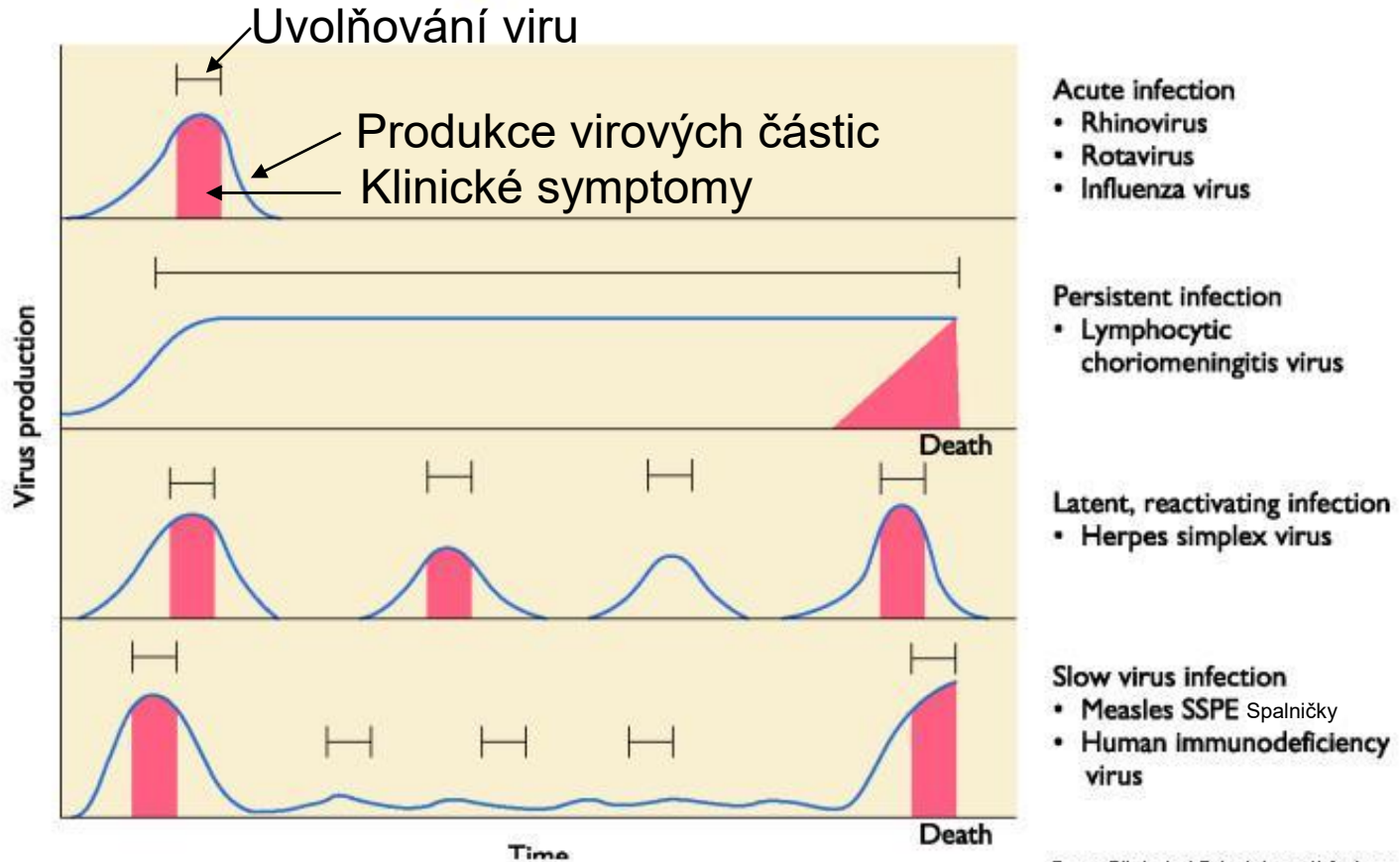
**Host
Defenses**



Průběh virové infekce

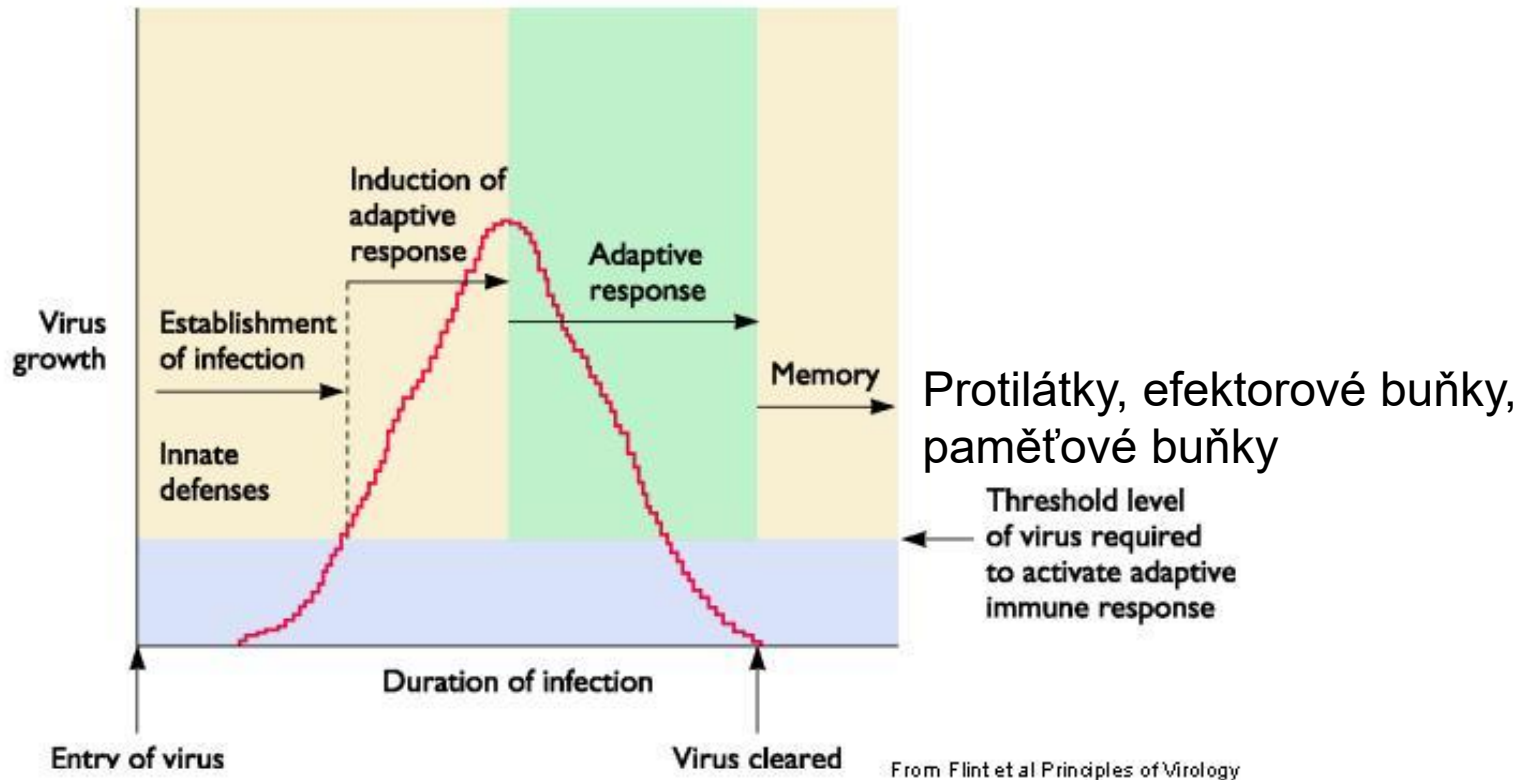
- subklinický
- onemocnění
 - Projevuje se díky: poškození buněk a tkání virem
ztráta funkce buněk/orgánů
zánětlivá odpověď
imunopatologie
 - následky: likvidace viru hostitelským organismem
perzistentní/latentní infekce
letální

General patterns of infection



From Flint et al Principles of Virology

The course of a typical acute infection



Průnik viru do hostitelského organismu



Aerosolem



Pozřením



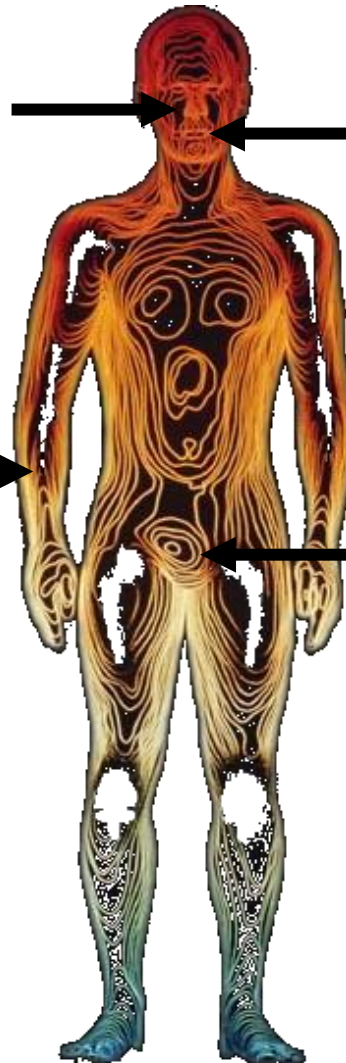
Pomocí
vektora

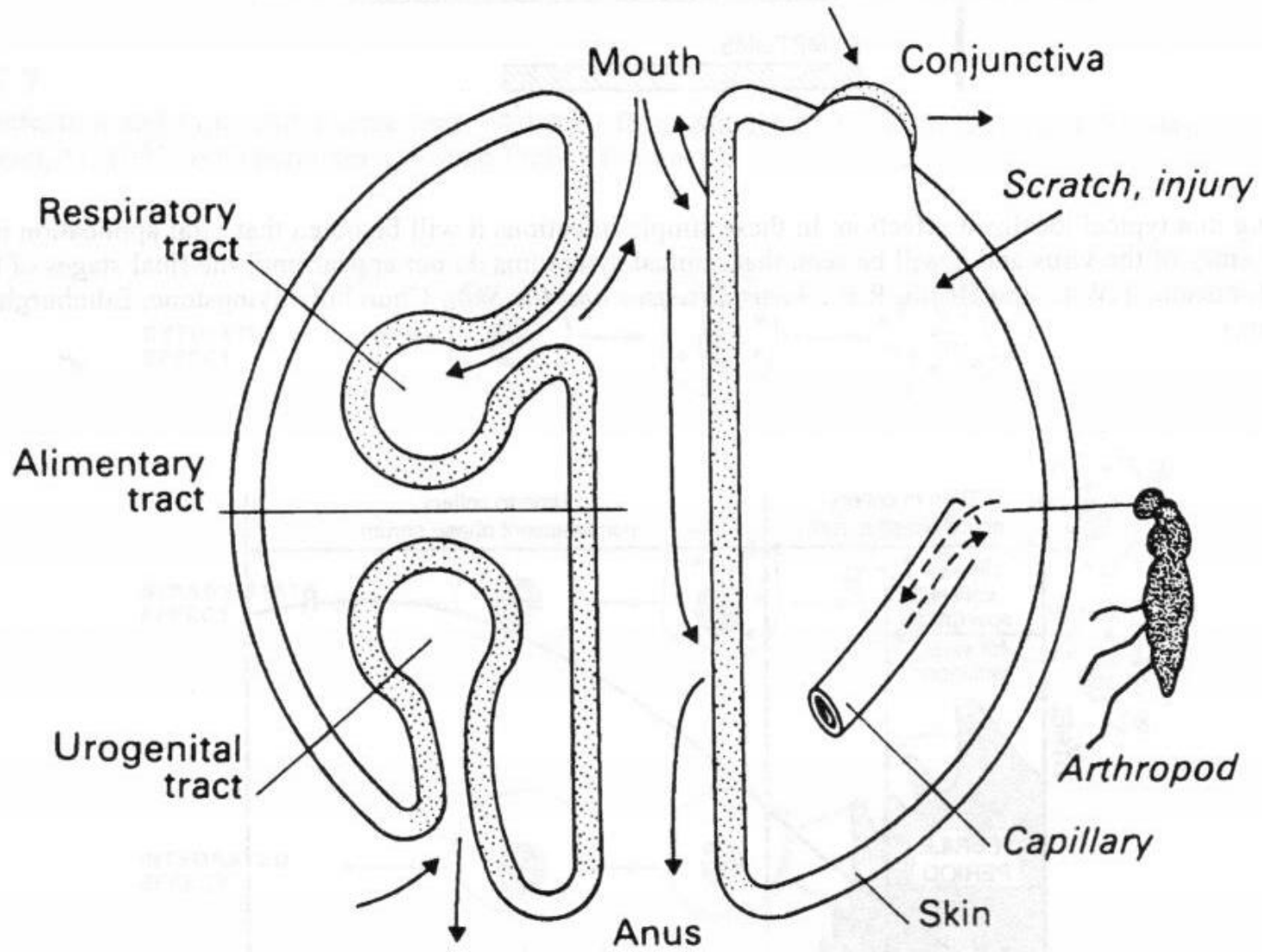


Poraněním



Sexuálním
kontaktem





HSV, adenovirus, vaccinia
Enterovirus 70 (conjunctivitis)
Measles virus
Rabies virus, agent of Creutzfeldt-Jacob disease (by corneal transplant)

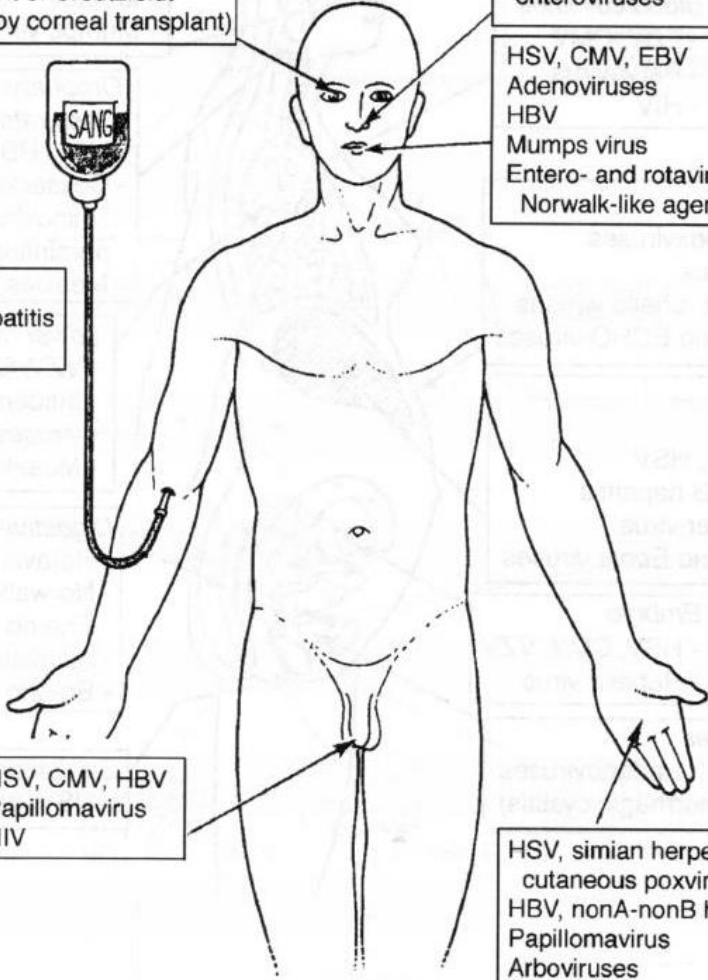
Varicella-zoster virus
Poxvirus, influenza virus
Parainfluenza viruses
Mumps virus
Measles virus
RS virus
Rubella virus
Corona-, arena-, rhino-, enteroviruses

HSV, CMV, EBV
Adenoviruses
HBV
Mumps virus
Entero- and rotaviruses,
Norwalk-like agents

HBV
nonA-nonB hepatitis
HIV

HSV, CMV, HBV
Papillomavirus
HIV

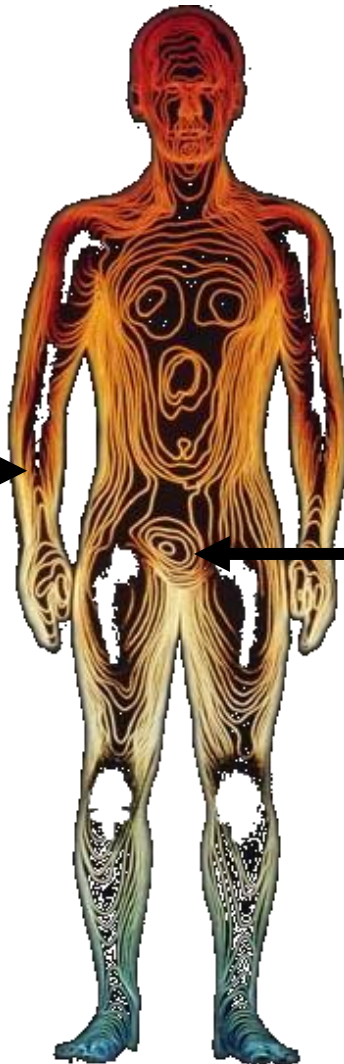
HSV, simian herpes virus,
cutaneous poxviruses
HBV, nonA-nonB hepatitis
Papillomavirus
Arboviruses
Rabies virus



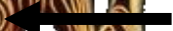
Průnik viru do hostitelského organismu



Pomocí
vektora



Poraněním



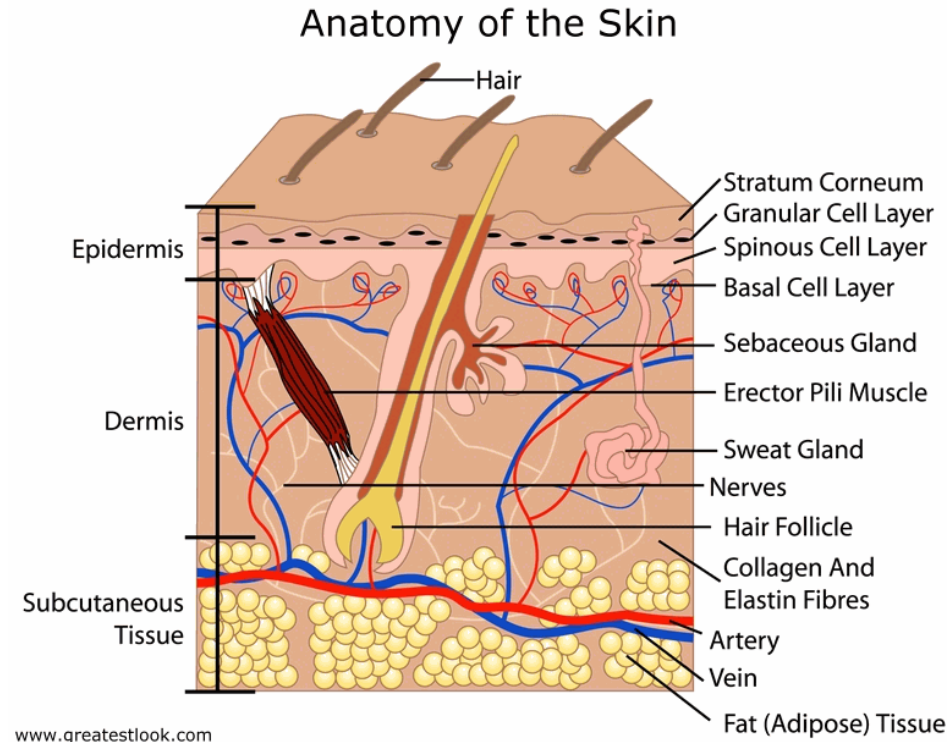
Sexuálním
kontaktem



Vstup do organismu

Pokožka a sliznice

- kůže sestává z **epidermis** a **dermis**
- epidermis: **stratum corneum** (vrstva odumírajících buněk s povrchovou vrstvou keratinu); **stratum granulosum**; **stratum spinosum**; **stratum germinativum** (zárodečná vrstva dělících se buněk)
- dermis – vrstva vysoce vaskularizovaných spojovacích tkání obsahujících fibroblasty a dendritické buňky (specializované makrofágy)



Příklady virů, které vstupují do organismu přes pokožku nebo slizniční membrány

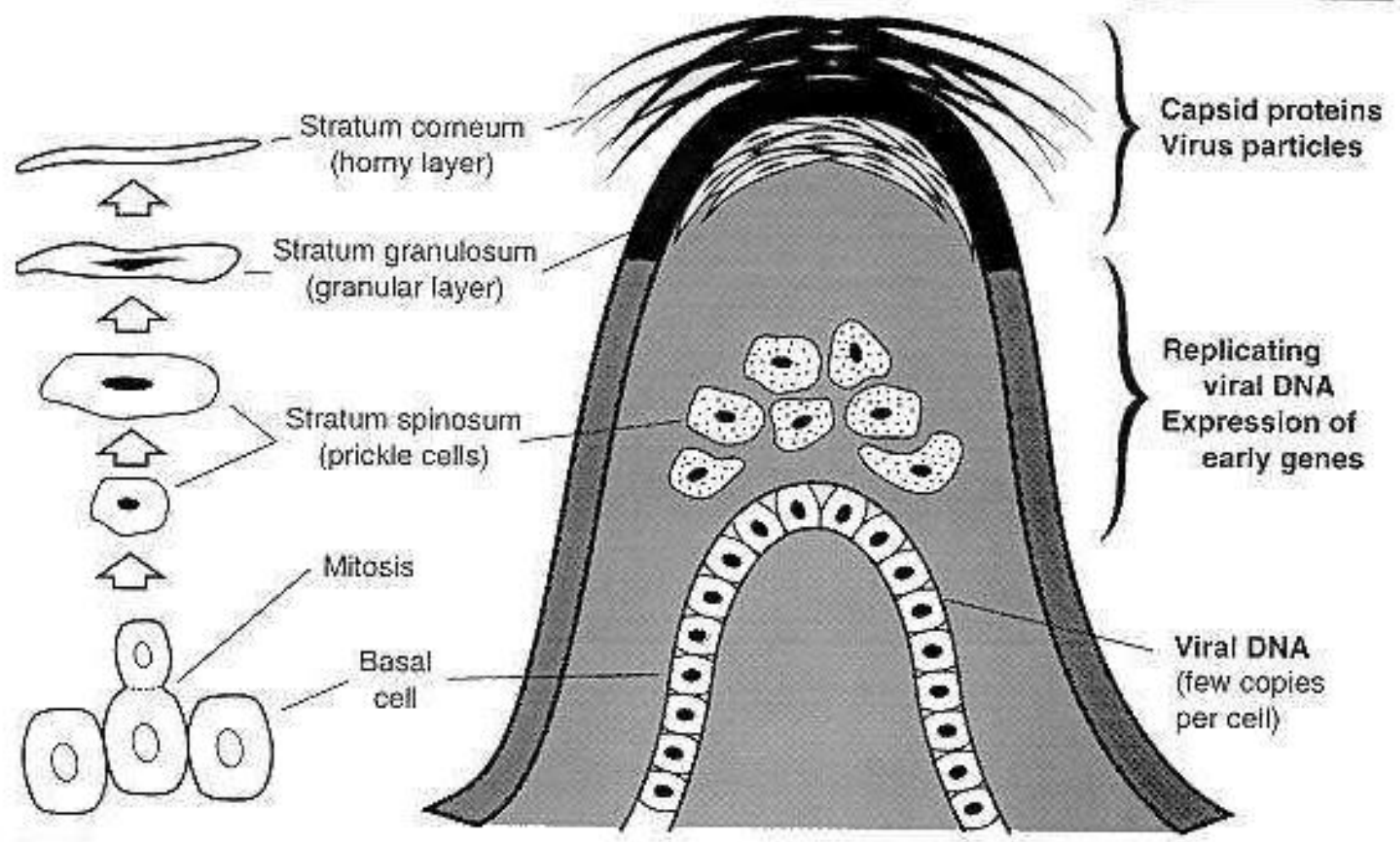
Site of entry	Route	Virus family	Representative example
Skin	Minor breaks	Papillomaviridae	Human papilloma virus
		Herpesviridae	Herpes simplex virus 1
		Poxviridae	Ectromelia virus
Conjunctiva	Contact	Picornaviridae	Enterovirus 70
		Adenoviridae	Adenoviruses
Oropharynx	Contact	Herpesviridae	Epstein-Barr virus
Genital tract	Contact	Retroviridae	HIV
		Papillomaviridae	Human papilloma virus
		Herpesviridae	Herpes simplex virus 2
Rectum	Contact	Retroviridae	HIV

- je nepravděpodobné, že by virus vstoupil do organismu přes neporušenou pokožku, protože na povrchu **nejsou žádné živé buňky**; vnější vrstva pokožky představuje dosti **nehostinné prostředí** – sucho, kyselé prostředí, bakteriální flóra
- viry překonávají pokožku přes **místa poškození bariéry**, které umožní viru se dostat do kontaktu s živými buňkami
- viry se obvykle množí **v konkrétních buňkách** kůže (např. HSV a poxviry v zárodečných buňkách epidermis a v makrofázích a fibroblastech dermis; papilomaviry infikují zárodečné buňky epidermis, ale maturují v stratum granulosum

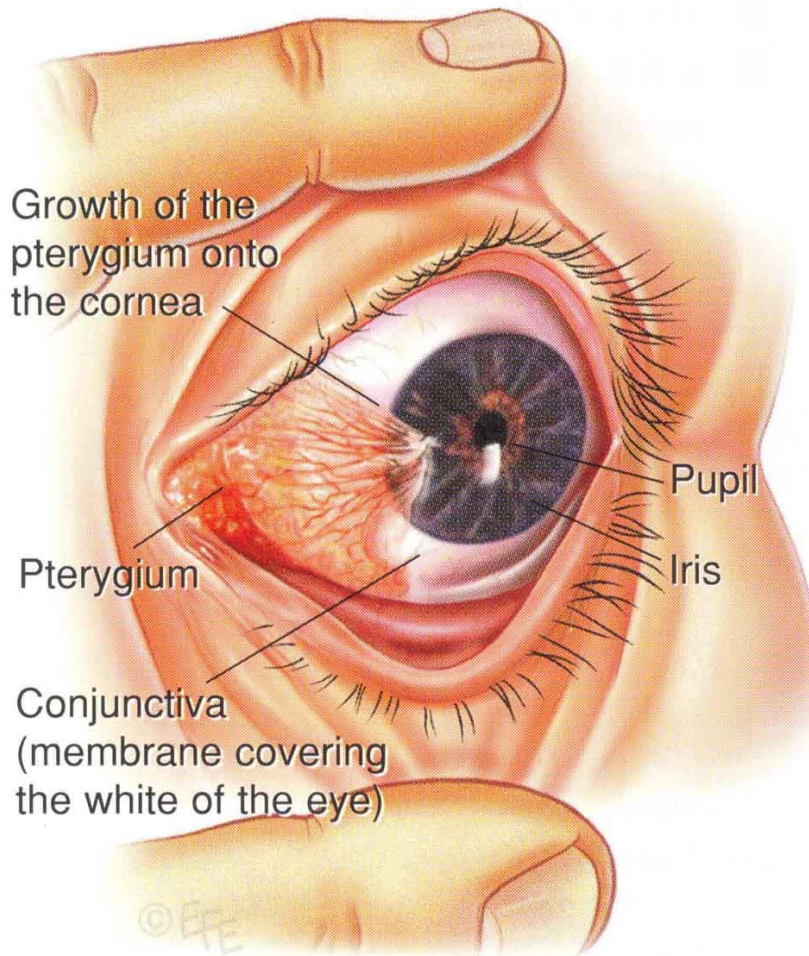
Epidermal Cell Differentiation Pathway

Papilloma

Virus Life Cycle



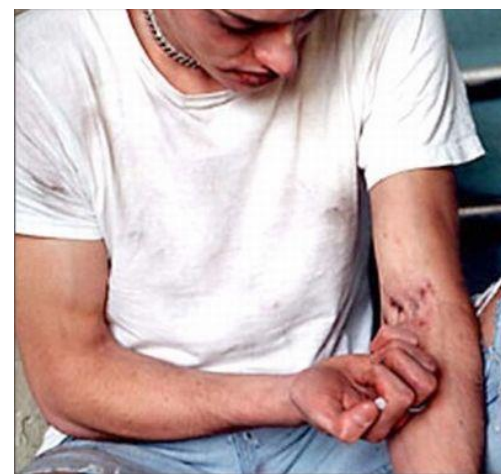
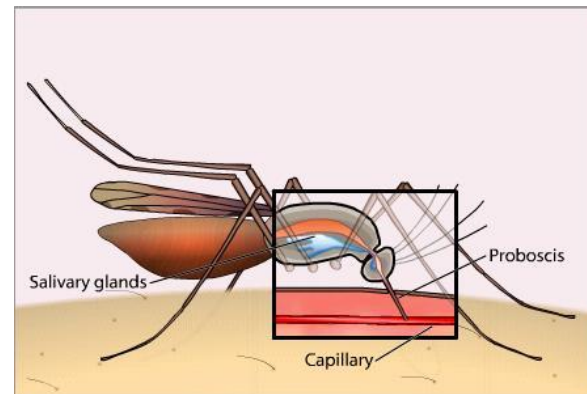
- infekce epiteliálních buněk na povrchu sliznic
 - nutno penetrovat vrstvu slizničního hlenu (může obsahovat IgA a jiné virucidní proteiny)



Konjunktiva oka (specializovaná sliznice) může být bránou vstupu několika virů (některé adenoviry a enteroviry – coxsackievirus A24, enterovirus 70)

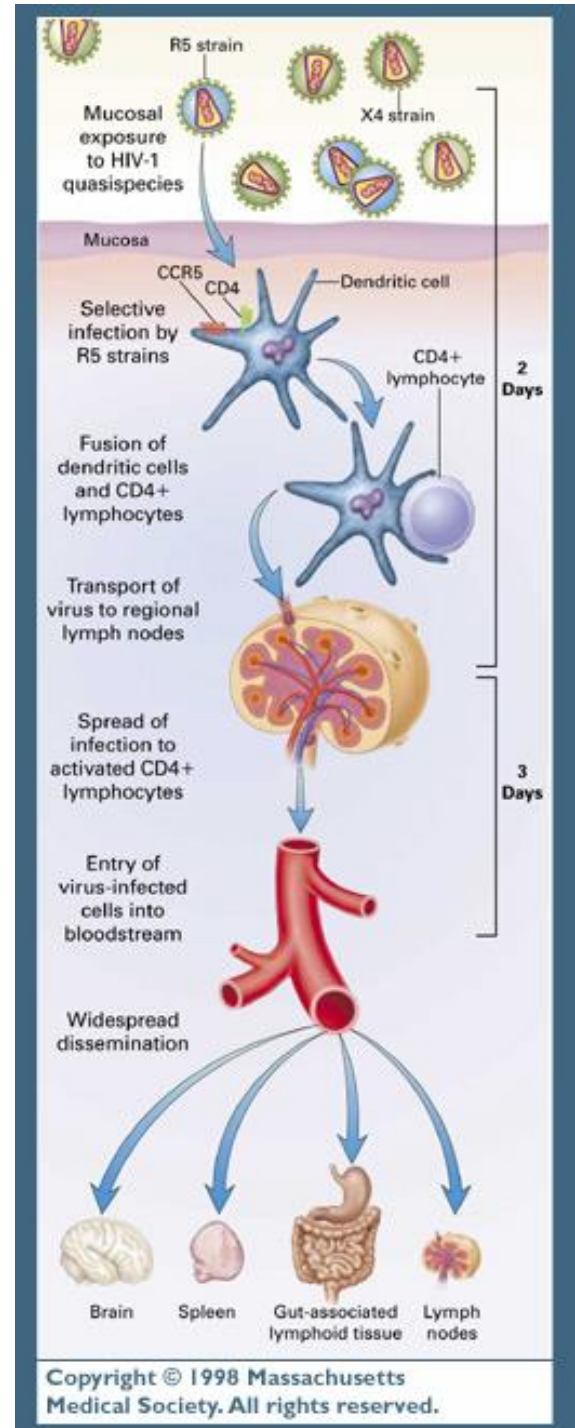
Transkutánní injekce/poranění

- **arboviry** (během sání komára je do rány vpraveno cca 10^{-4} ul slin, které mohou obsahovat asi 100 PFU viru (pokud 10^9 PFU/ml))
- **virus vztekliny nebo B virus** – pokousání – intramuskulární inokulace slin obsahujících virus
- **HBV, HCV, HIV** – krví, krevními produkty, kontaminovanými stříkačkami



Urogenitální trakt

- týká se sexuálně přenosných virů
 - buď **množení ve sliznici genitálního traktu** (HSV2 nebo papilomaviry)
 - nebo přes **drobná poranění** při pohlavním aktu (HBV, HIV)
 - HBV vstoupí přímo do cirkulace přes slizniční kapiláry
 - HIV infikuje CD4 lymfocyty, makrofágy a dendritické buňky v kůži a submukóze a poté je přenášen do spádové lymfatické uzliny



Průnik viru do hostitelského organismu



Pozření

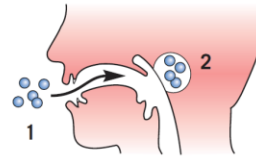


Orofarynx a gastrointestinální trakt

- brána vstupu pro mnoho virů; různá místa vstupu od krčních mandlí po tlusté střevo

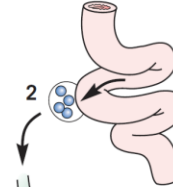
Localization of disease	Replicate in the pharynx and/or gastroenteric tract	Virus family	Representative example
Gastroenteritis	Yes	Astroviridae	Astroviruses
	Yes	Caliciviridae	Norwalk virus
	Yes	Coronaviridae	Transmissible gastroenteritis virus of swine
	Yes	Rotaviridae	Rotaviruses
	Yes	Parvoviridae	Canine parvoviruses
	Yes	Adenoviridae	Adenoviruses 40, 41
No enteric illness (±systemic illness)	Yes		
	Yes	Picornaviridae	Poliovirus
	Yes	Picornaviridae	Coxsackieviruses
	Yes	Picornaviridae	Enteroviruses
	No	Picornaviridae	Hepatitis A virus
	Yes	Adenoviridae	Adenoviruses

- pro některé je střevo cílovým orgánem, jiné vstupují do krve a vyvolají systémové onemocnění



1. Virus ingested

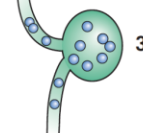
Day 0



2. GUT ASSOCIATED LYMPHOID TISSUE

Day 0–3

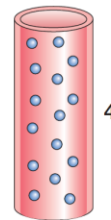
- tonsils, Peyer's patches
- virus invades (via M cells?)
- replicates in monocytes



3. REGIONAL LYMPH NODES

Day 3–5

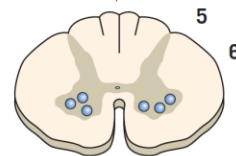
- replicates in monocytes



4. BLOOD

Day 5–15

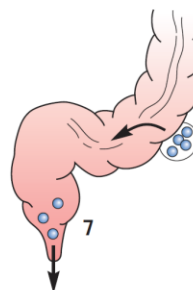
- plasma viremia



5. BLOOD BRAIN BARRIER

Day 8–12

- virus crosses endothelium



6. SPINAL CORD

Day 10–30

- virus replicates in anterior horn cells
- cell destruction
- paralysis

Day 12–30

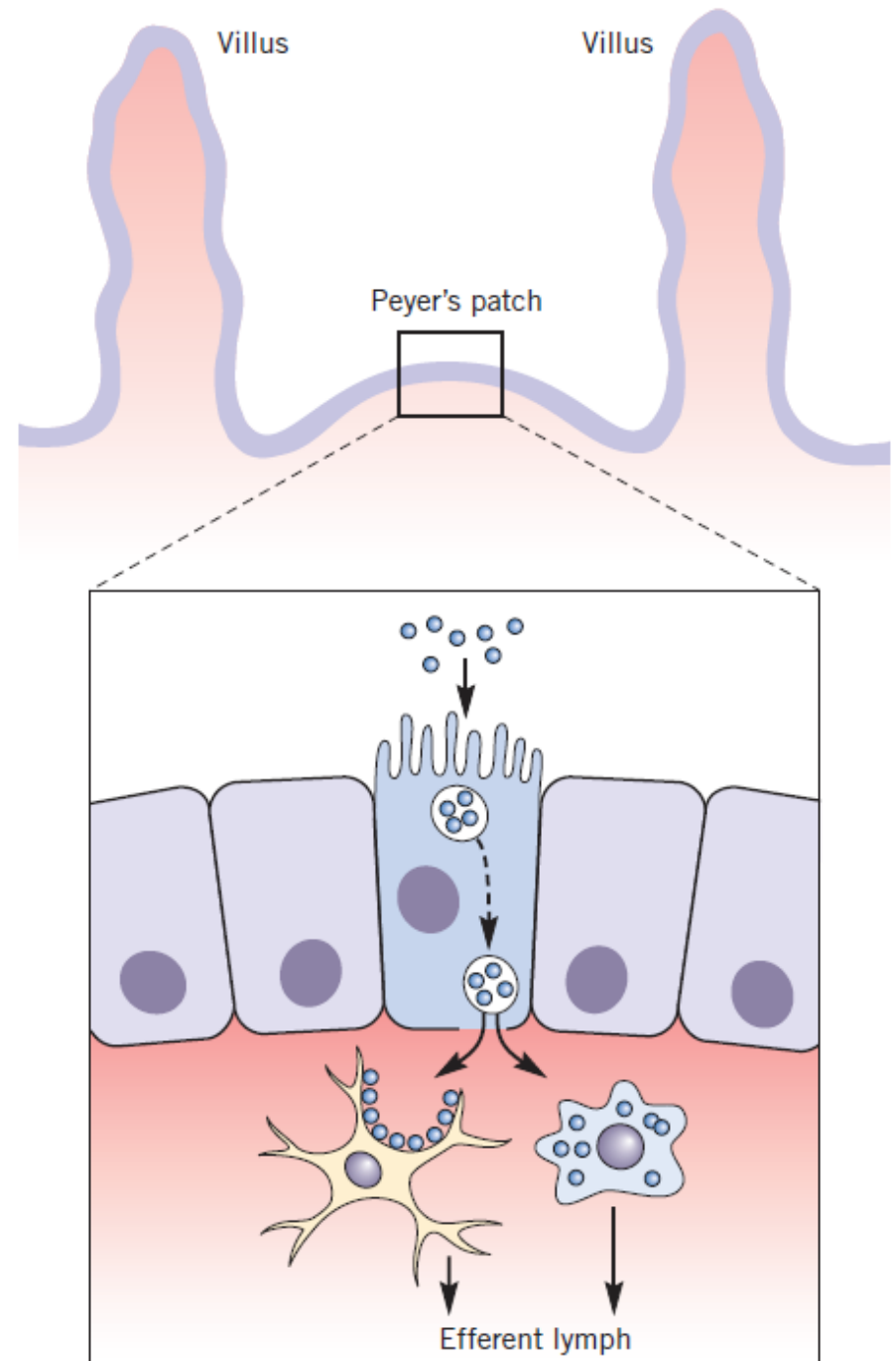
7. GUT

Day 5–45

- virus excreted in feces

Příklad: reoviry – v alkalickém prostředí tenkého střeva se viry do infekčních subvirionových partikulí, které se přichytí k M buňkám (tvoří specializované epitelium, které spočívá na Peyerových plátech) – viry jsou endocytovány M buňkami – transportovány ve váčcích – exocytóza na bazální membráně

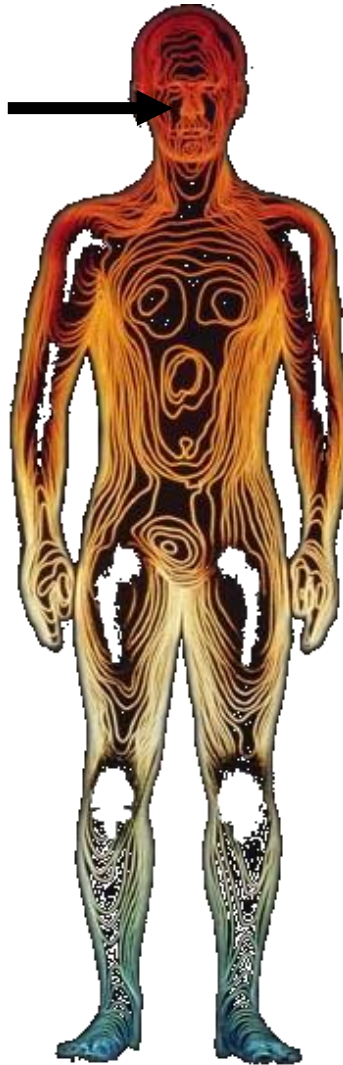
bariéry: kyselé prostředí žaludku
alkalické prostředí střeva
proteolytické enzymy
sekretované pankreatem
lipolytická aktivita žluči
sekretované IgA
střevní makrofágy
(některé viry, pokud se dostanou do organismu s mlékem nebo potravou, jsou rezistentní k nepřátelskému prostředí GIT)



Průnik viru do hostitelského organismu

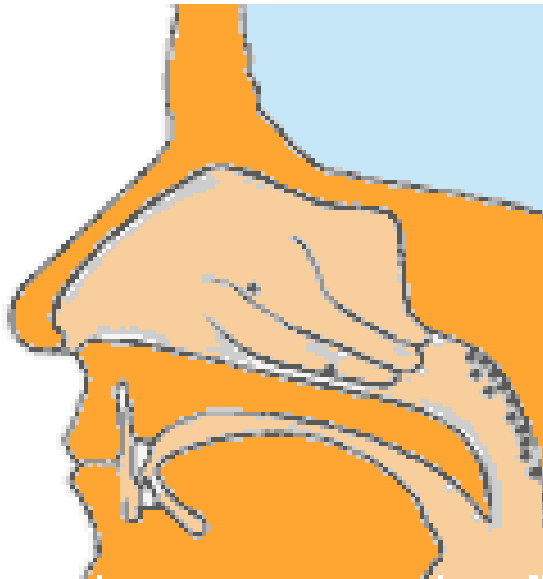


Aerosolem



Respirační trakt

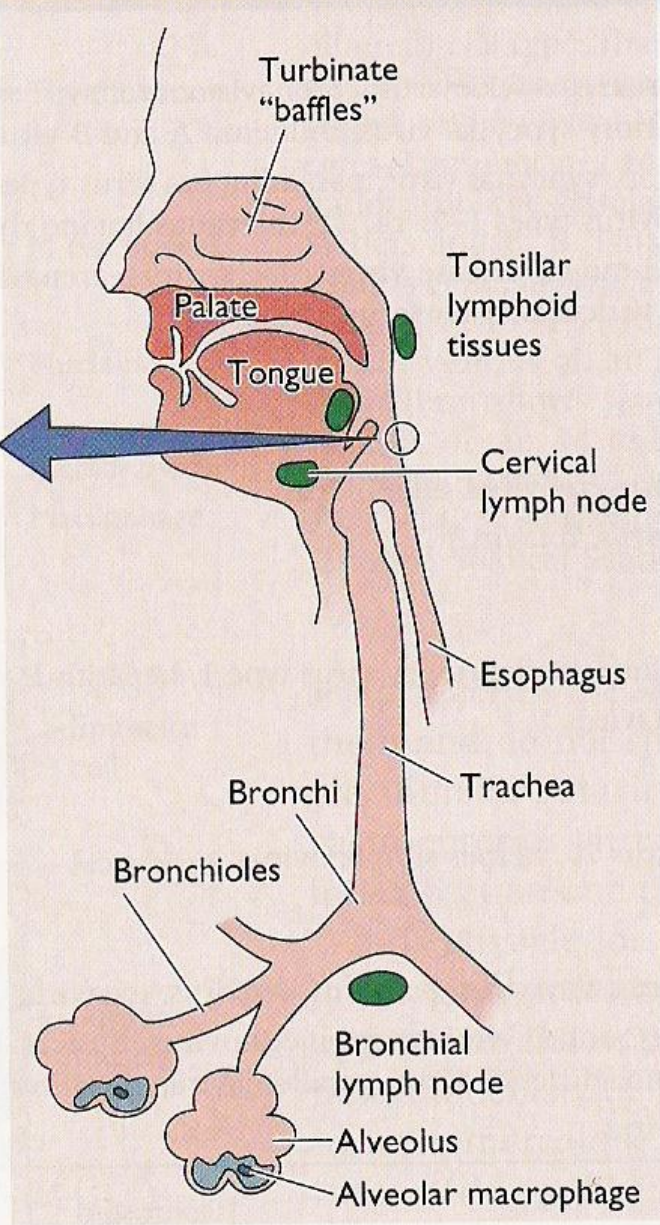
- vdechnutí aerosolu nebo mechanický přenos infikovaných nasofaryngeálních sekretů



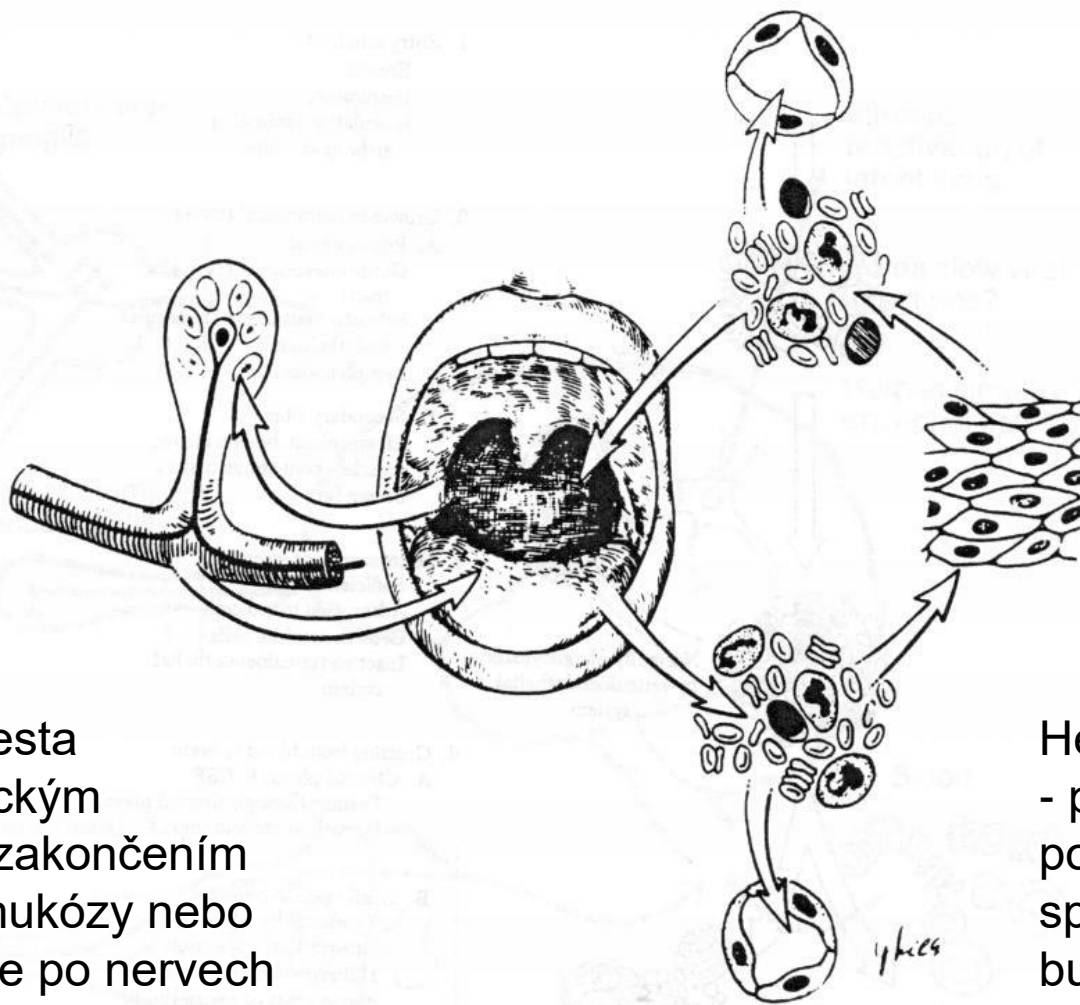
Záleží i na velikosti kapének – velikost určuje, jak hluboko viry do respiračního traktu proniknou – zda se bude jednat o infekci horních nebo dolních dýchacích cest. Analogicky je tomu i při infekci prachem:

- Velké částice jsou filtrovány řasinkami
- Částice o velikosti 10 μm zachyceny na mukózní nasální sliznici
- Částice menší než 5 μm pronikají do dolních cest dýchacích

Bariéry: vrstva hlenu, činnost řasinek, IgA, makrofágy, gradient teploty (33°C nasální sliznice – 37°C alveoly – lokalizace infekce)

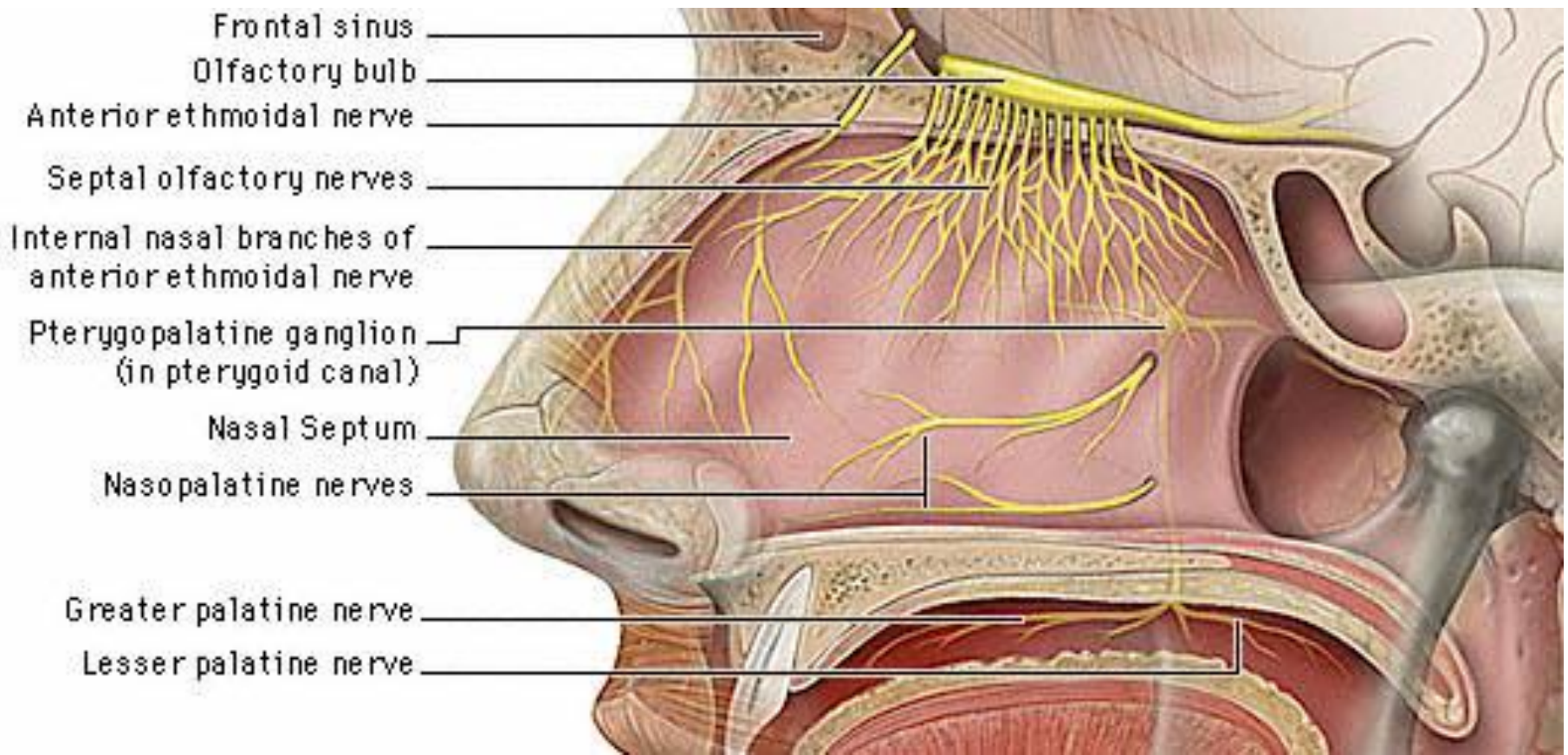
Site of replication	Clinical manifestation	Virus
 <p>Turbinate "baffles"</p> <p>Palate</p> <p>Tongue</p> <p>Tonsillar lymphoid tissues</p> <p>Cervical lymph node</p> <p>Esophagus</p> <p>Trachea</p> <p>Bronchi</p> <p>Bronchioles</p> <p>Bronchial lymph node</p> <p>Alveolus</p> <p>Alveolar macrophage</p>	<p>Rhinitis (common cold)</p> <p>Pharyngitis</p> <p>Laryngitis</p>	<p>Rhinovirus</p> <p>Coronavirus</p> <p>Parainfluenza virus</p> <p>Respiratory syncytial virus</p> <p>Influenza virus</p> <p>Adenovirus</p> <p>Herpes simplex virus</p> <p>Epstein-Barr virus</p>
	<p>Tracheitis</p> <p>Bronchitis</p> <p>Bronchiolitis</p> <p>Bronchopneumonia</p>	<p>Parainfluenza virus</p> <p>Respiratory syncytial virus</p> <p>Influenza virus</p> <p>Adenovirus</p>

Localization of disease	Virus family	Representative example
Upper respiratory	Picornaviridae	Rhinoviruses
	Adenoviridae	Adenoviruses
Lower respiratory	Coronaviridae	Bovine coronaviruses
	Orthomyxoviridae	Influenza viruses
	Paramyxoviridae	Respiratory syncytial virus
	Bunyaviridae	Sin Nombre virus
No respiratory illness (±systemic illness)	Togaviridae	Rubella virus
	Paramyxoviridae	Mumps virus
	Bunyaviridae	Hantaan virus
	Arenaviridae	Lassa fever virus
	Reoviridae	Reovirus
	Papovaviridae	Murine polyomavirus
	Herpesviridae	Varicella zoster virus
	Poxviridae	Variola virus



Neurální cesta
 - k senzoričným
 nervovým zakončením
 rtů, ústní mukózy nebo
 tonzil a dále po nervech
 do senzoričným ganglií

Hematogenní cesta
 - primární
 pomnožení ve
 specifických
 buňkách orofarynxu



Základní znaky patogenetického procesu

- Množení viru v místě vstupu do hostitelského organismu
- Vlastní proces šíření viru
- Usídlení viru v cílovém orgánu
 - Poškození cílového orgánu vyvolává vlastní klinické příznaky onemocnění



Lokální vs. systémová infekce

- Lokální infekce :

Virus se množí pouze v místě vstupu.

Krátká inkubační doba.

příklady: rhinoviry, chřipka

- Disseminované infekce:

Virová infekce se šíří do různých částí těla.

Obvykle delší inkubační doba.

příklady: spalničky, vzteklna

Šíření viru v těle

- Neurální cesta

Vstup viru na nervových zakončeních

šíří se od periferních nervů do CNS a naopak

- Hematogenní cesta

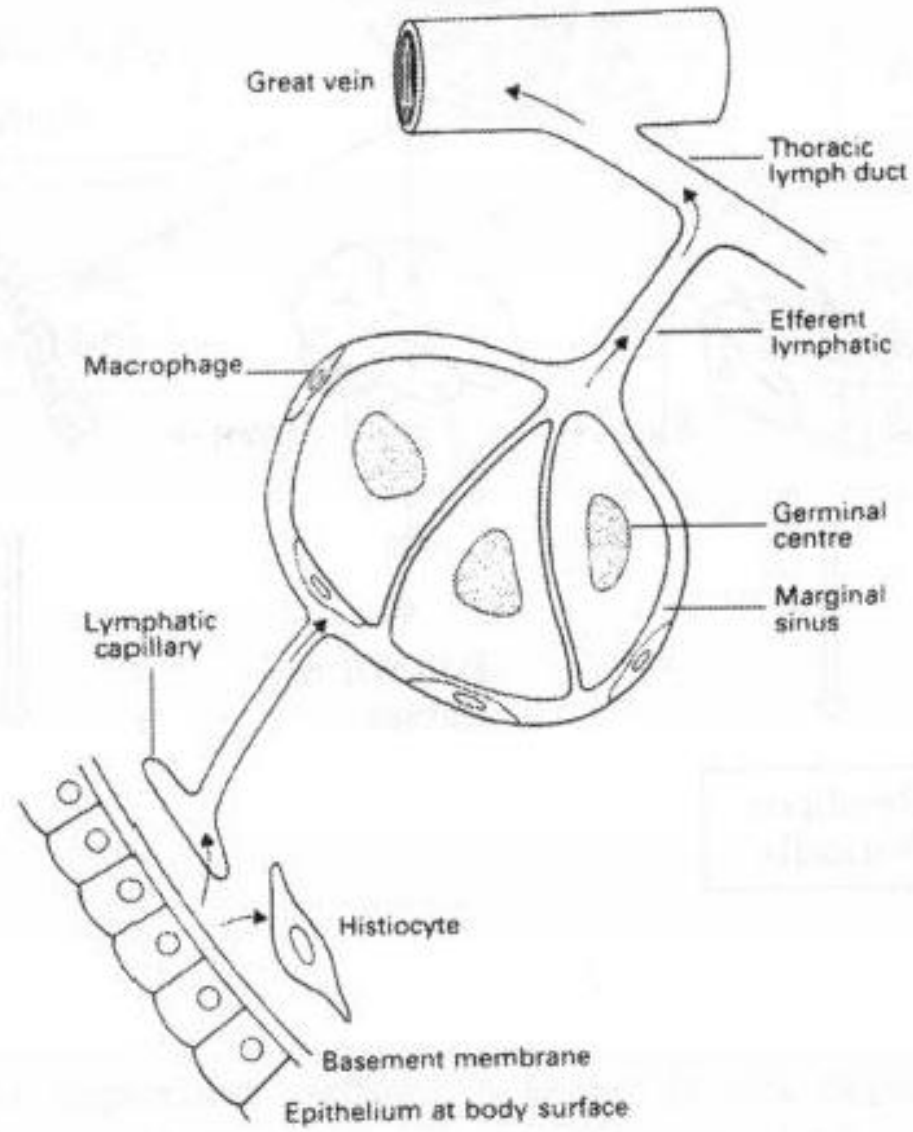
virémie šíření viru na sekundární místa replikace

viru buď jako volné částice nebo jako buněčně asociované

- Lymfatická cesta

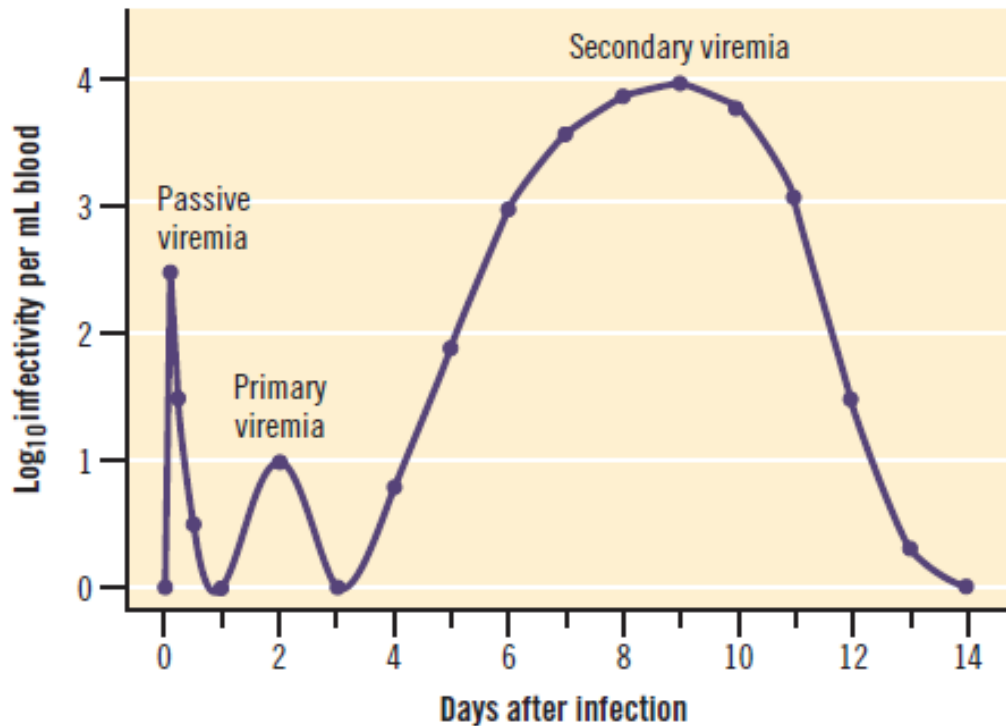
Vstup do lymfatických kapilár, následně do lymfatických uzlin a lymfou do krve.

Lymfatická cesta



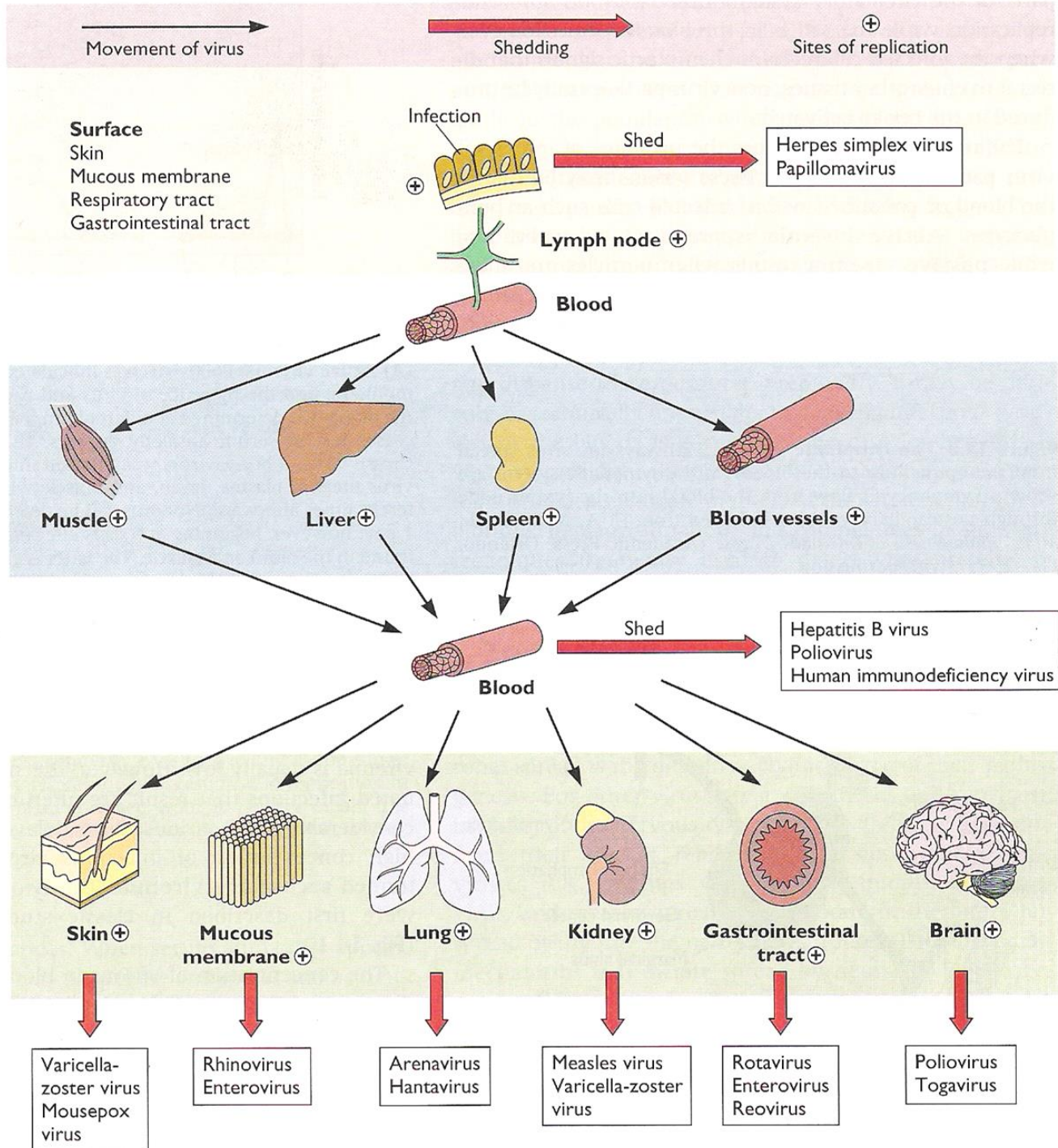
Hematogenní šíření - virémie

- nejdůležitější způsob šíření viru v organismu
- většinou krátkodobé, ne delší než 1 až 2 týdny (ale některé viry dokáží zdolat imunitní odezvu a persistovat v krvi měsíce až roky)



Fáze:

- krátkodobá pasivní virémie (max. několik hodin)
- primární virémie jako výsledek lokálního množení viru
- sekundární virémie jako výsledek systémového množení viru



Plazmatická virémie

- u akutních nález se objevuje cca za týden po infekci a trvá 1-2 týdny; virémii ukončuje objevení se specifických protilátek

- dynamický proces – nové částice uvolňovány do krve a současně „vychytávány“ zejména makrofágy jater, sleziny a plic
- t_m = střední čas „přežití“ virové částice v krvi – u většiny virů je to 10 až 30 minut

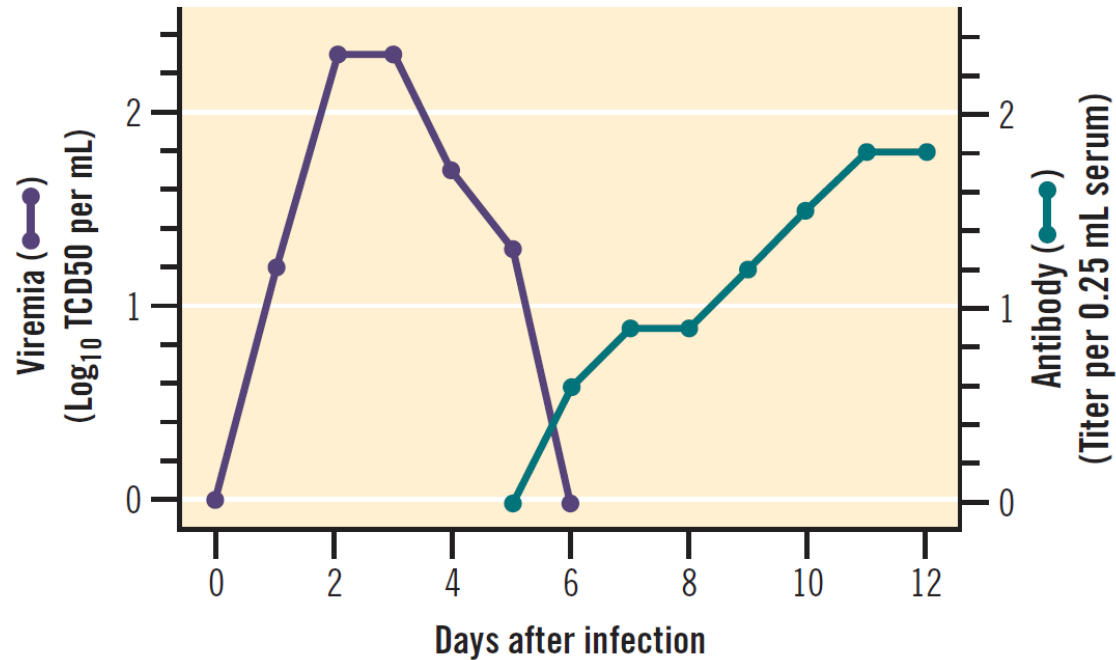


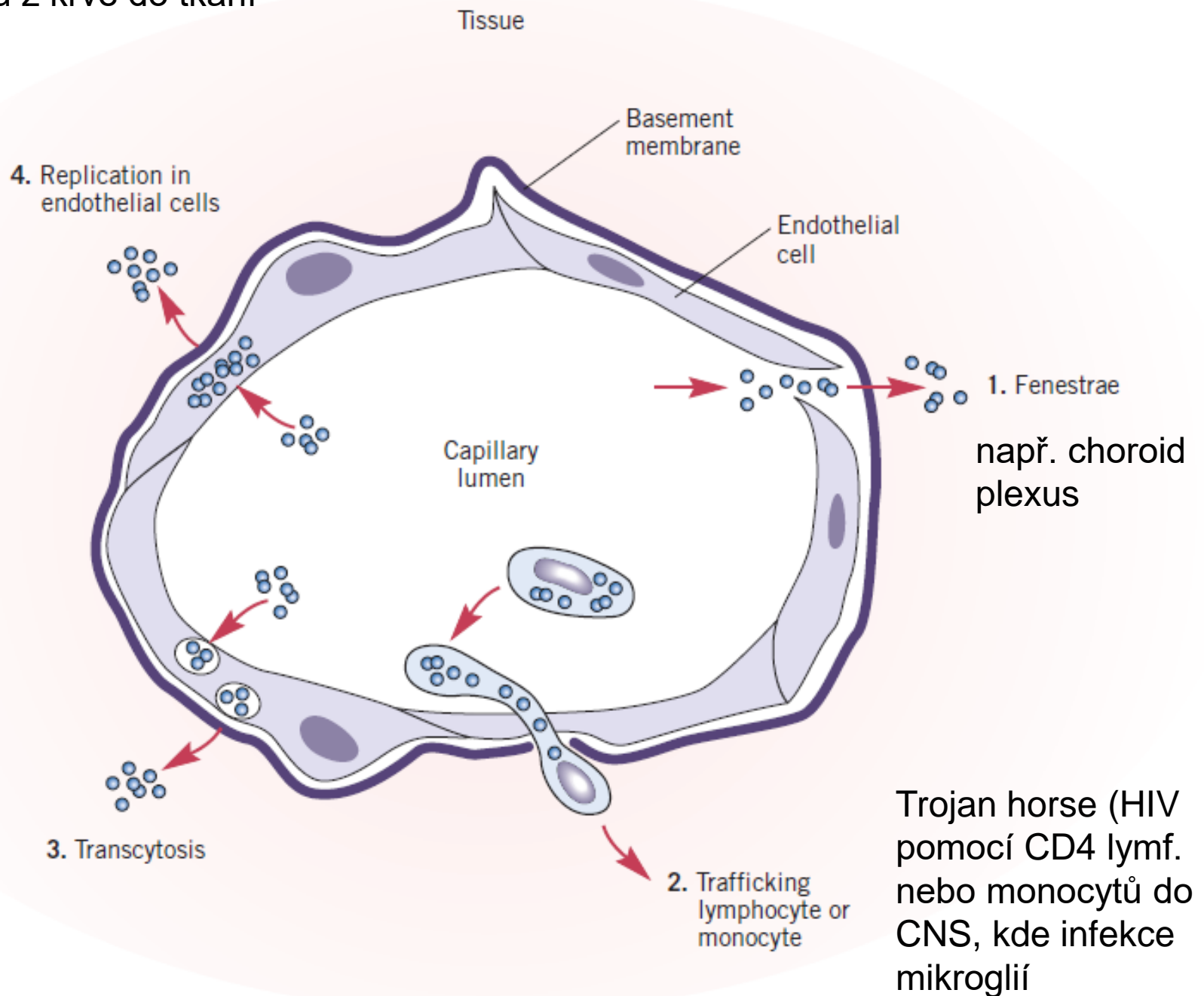
FIGURE 2.5 The course of viremia in monkeys injected by the intramuscular route with wildtype poliovirus. After Nathanson N, Bodian D. Experimental poliomyelitis following intramuscular virus injection. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital* 1961, 108: 320–333, with permission.

Cell-associated viremia

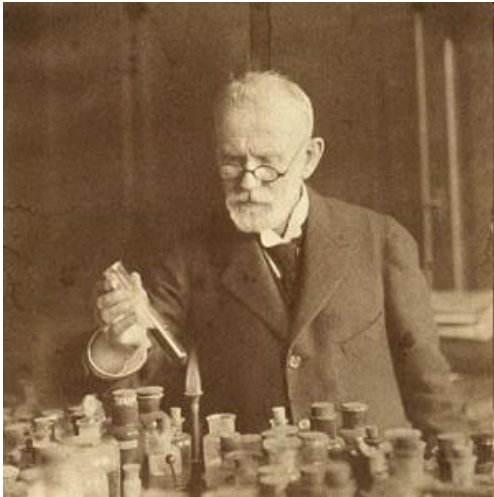
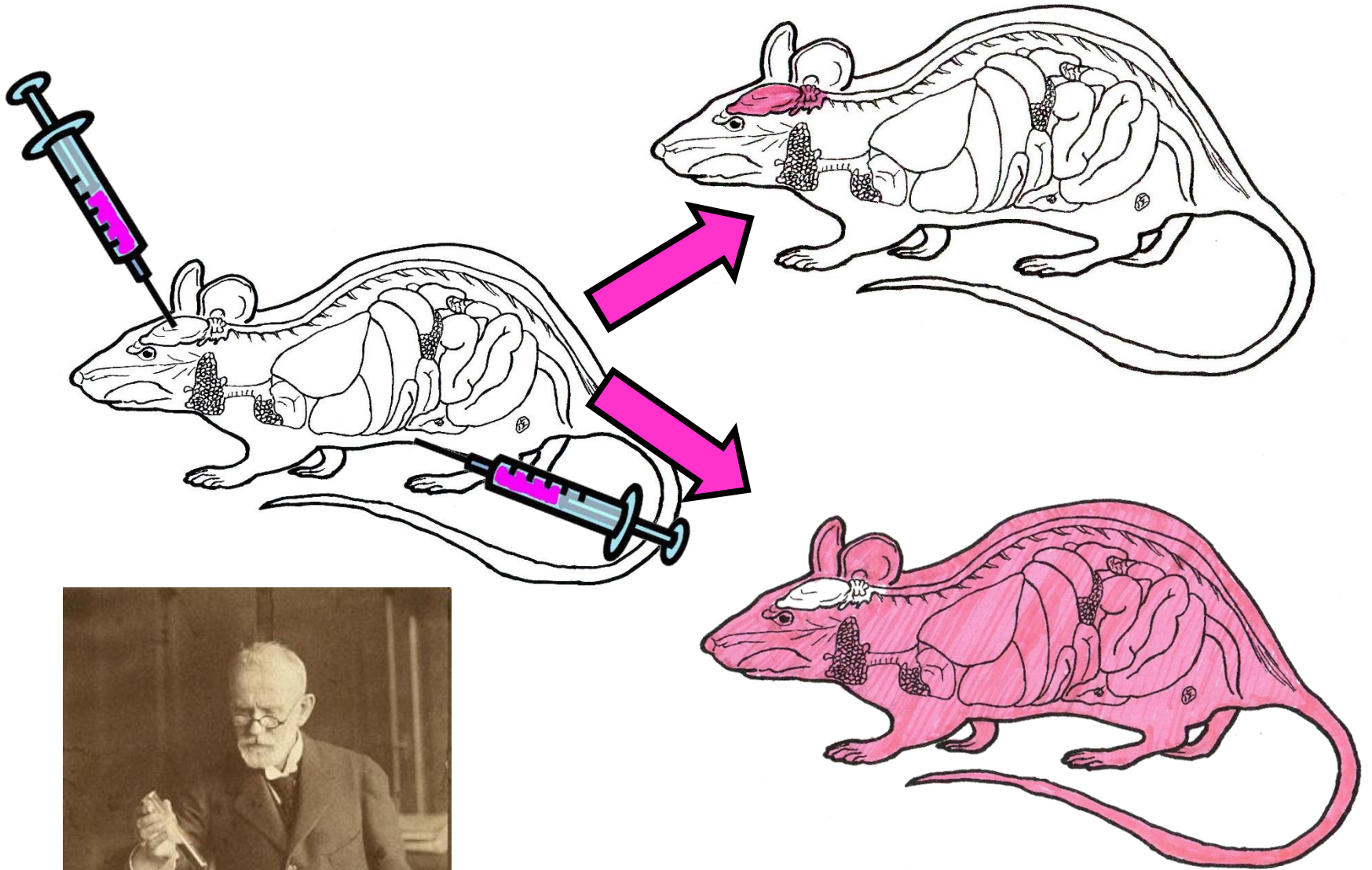
- některé viry se množí v buňkách v cirkulaci, zejména B a T lymfocytech, monocytech, případně vzácně v erythrocytech
- „cell-associated viremia“ persistuje měsíce až roky, i když titr viru bývá nízký
- u „cell-associated viremia“ většinou nebývá plasmatická virémie; výjimka HIV, kdy přítomny oba typy virémie

Cell type	Virus family	Representative example	Duration of viremia
Monocytes	Flaviviridae	Dengue viruses	Acute
	Togaviridae	Rubella virus	Acute
	Coronaviridae	Mouse hepatitis virus	Acute
	Orthomyxoviridae	Influenza viruses	Acute
	Paramyxoviridae	Measles virus	Acute
	Arenaviridae	LCMV	Persistent
	Retroviridae	HIV	Persistent
	Herpesviridae	Cytomegalovirus	Persistent
	Poxviridae	Ectromelia virus	Acute
B lymphocytes	Retroviridae	Murine leukemia virus	Persistent
	Herpesviridae	Epstein-Barr virus	Persistent
T lymphocytes	Retroviridae	HIV	Persistent
		HTLV-I	Persistent
	Herpesviridae	Human herpes viruses 6, 7	Acute
Erythroblasts	Reoviridae	Colorado tick fever virus	Acute

Šíření viru z krve do tkání



Hematoencefalická bariéra



Paul Ehrlich

Hematoencefalická bariéra

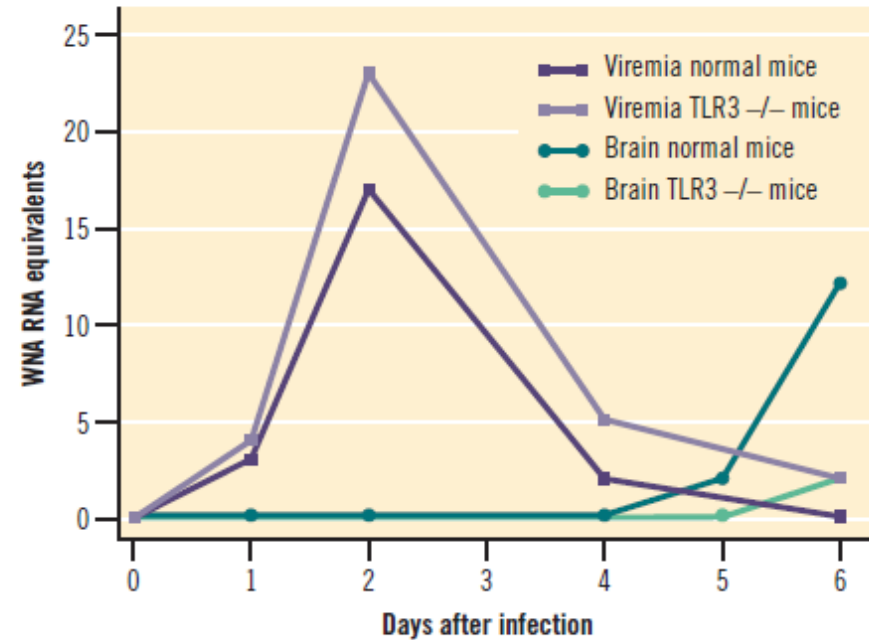
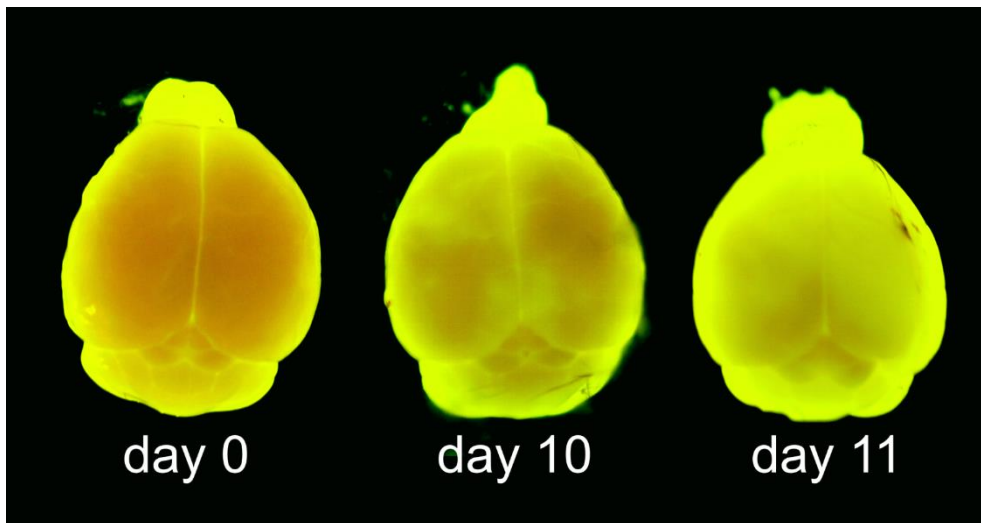
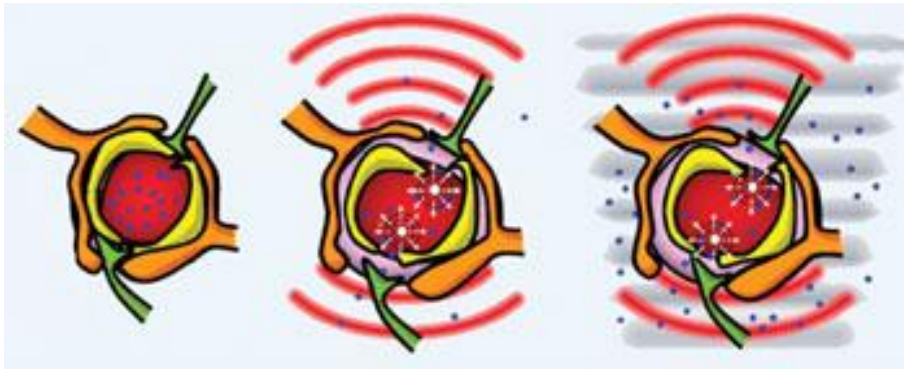


FIGURE 2.7 Pro-inflammatory cytokines can facilitate transmission of viruses from the circulation into the central nervous system. West Nile virus infection is compared in normal mice and mice with a knockout of toll-like receptor 3 (TLR3^{-/-}). TLR3^{-/-} mice exhibit a paradoxical lower mortality (40% survival) apparently because TLR3 pro-inflammatory responses increase permeability of the blood–brain barrier. Virus titers determined by polymerase chain reaction for the envelope gene quantitated against an internal control for a tissue gene. After Wang T, Town T, Alexopoulou *et al.* Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis. *Nature Medicine* 2004, 10: 1366–1373.

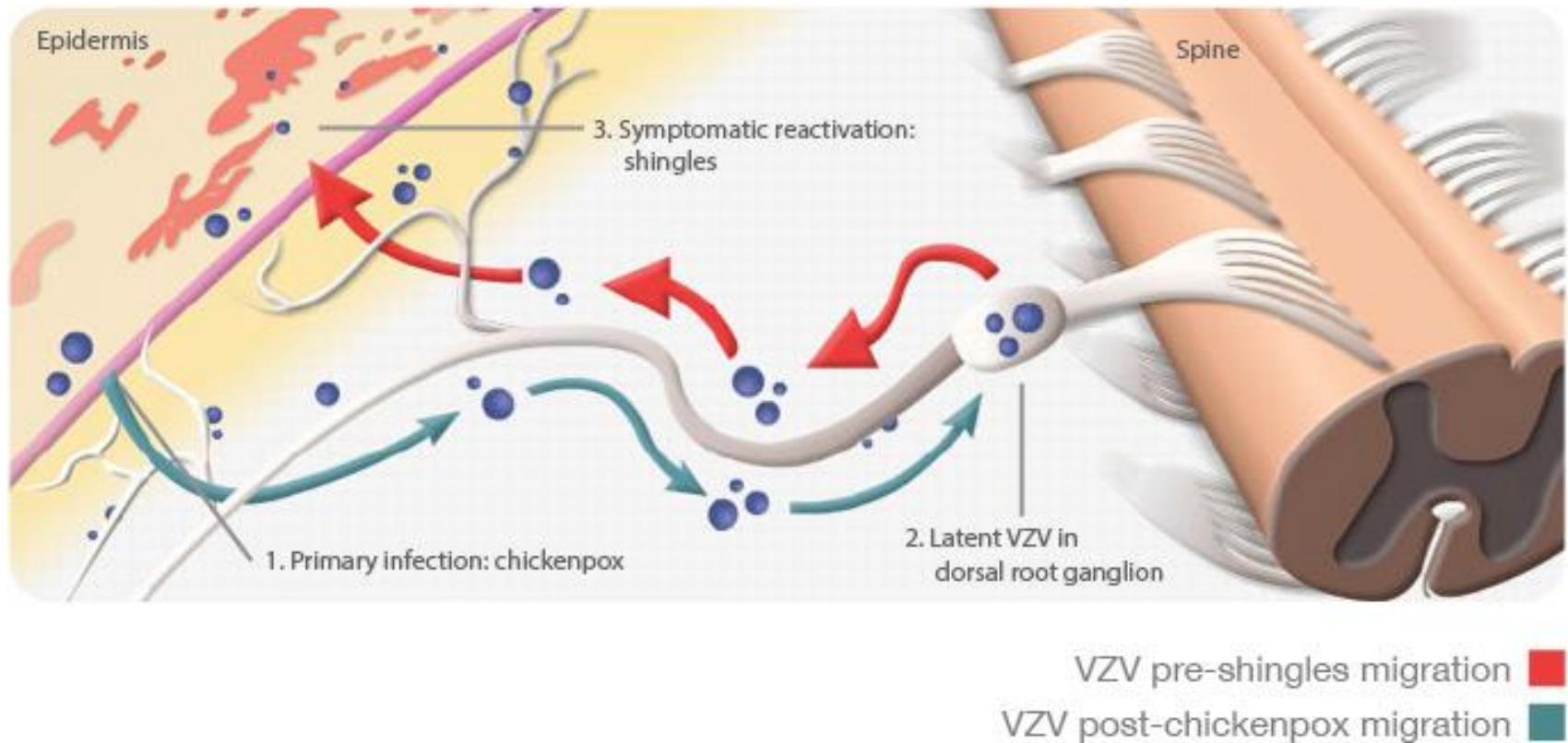
Neurální cesta

- přenos uvnitř **axoplazmy** (cytoplasma axonu neuronu) periferních nervových vláken
- typický příklad: vzteklna (obligatorně neurotropní, nedělá virémii)
 - HSV, VZV, pseudorabies a jiné – neurotropní u dospělých, viremogenní u novorozených zvířat nebo člověka
 - možnost neuroadaptovat viremogenní virus

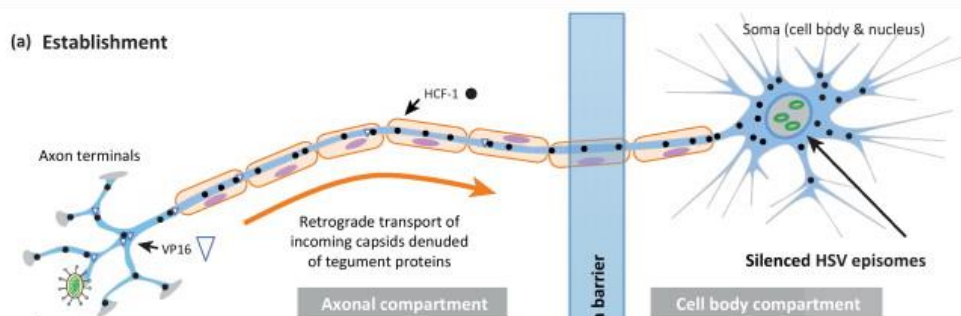
		Neuroadapted MV strain		Viremogenic Mahoney strain	
		Control	Nerve block	Control	Nerve block
Paralysis		25/26	0/11	19/19	18/20
Site of initial paralysis	Injected leg	24	–	3	5
	Other	1	–	16	13
Incubation to paralysis		5 days	–	7 days	7.5 days

TABLE 2.5 Different tropism of two strains of poliovirus, the neurotropic MV (mixed virus) and the viremogenic Mahoney virus. After injection into the gastrocnemius muscle, the MV strain spreads only by the neural route, causes initial paralysis in the injected limb and is impeded by a neural block, while the viremogenic Mahoney strain spreads by viremia, does not cause localized initial paralysis and is not impeded by nerve block. Neural block was done just prior to virus injection by freezing the innervating sciatic nerve with dry ice proximal to the site of virus injection

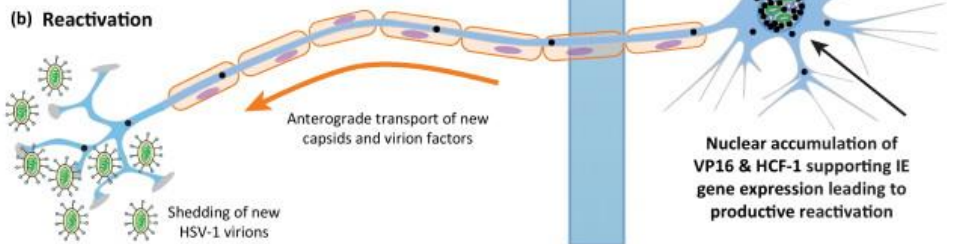
- některé viry využívají neurální a viremické šíření v těle – např. VZV vyvolá virémii, infikuje nervová zakončení v periférii, po nervových zakončeních cestuje k dorzálnímu gangliu, kde pak setrvává v latentní formě a může být reaktivován



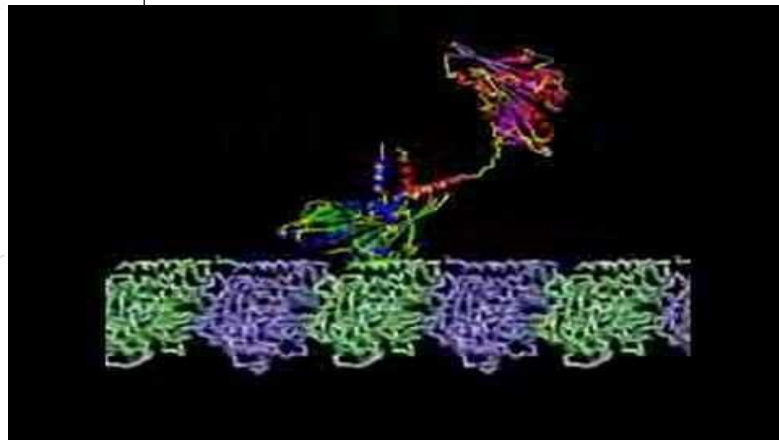
(a) Establishment



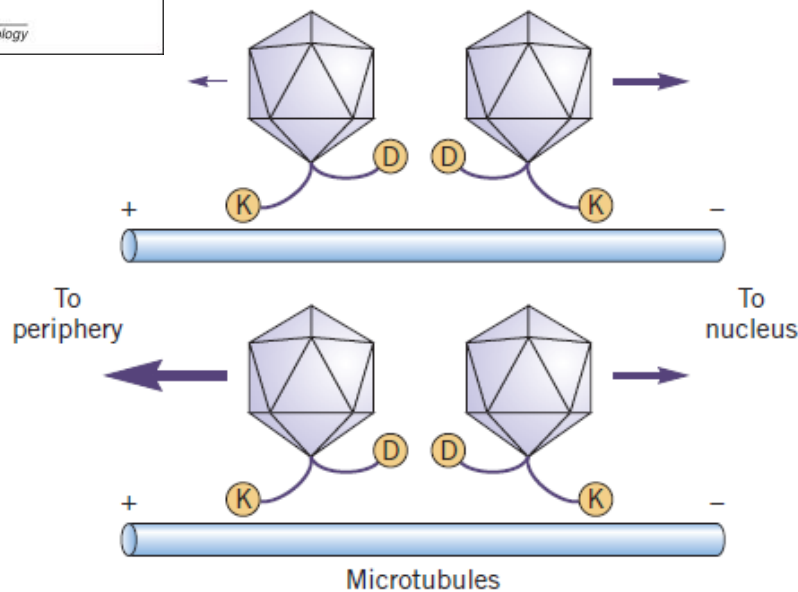
(b) Reactivation



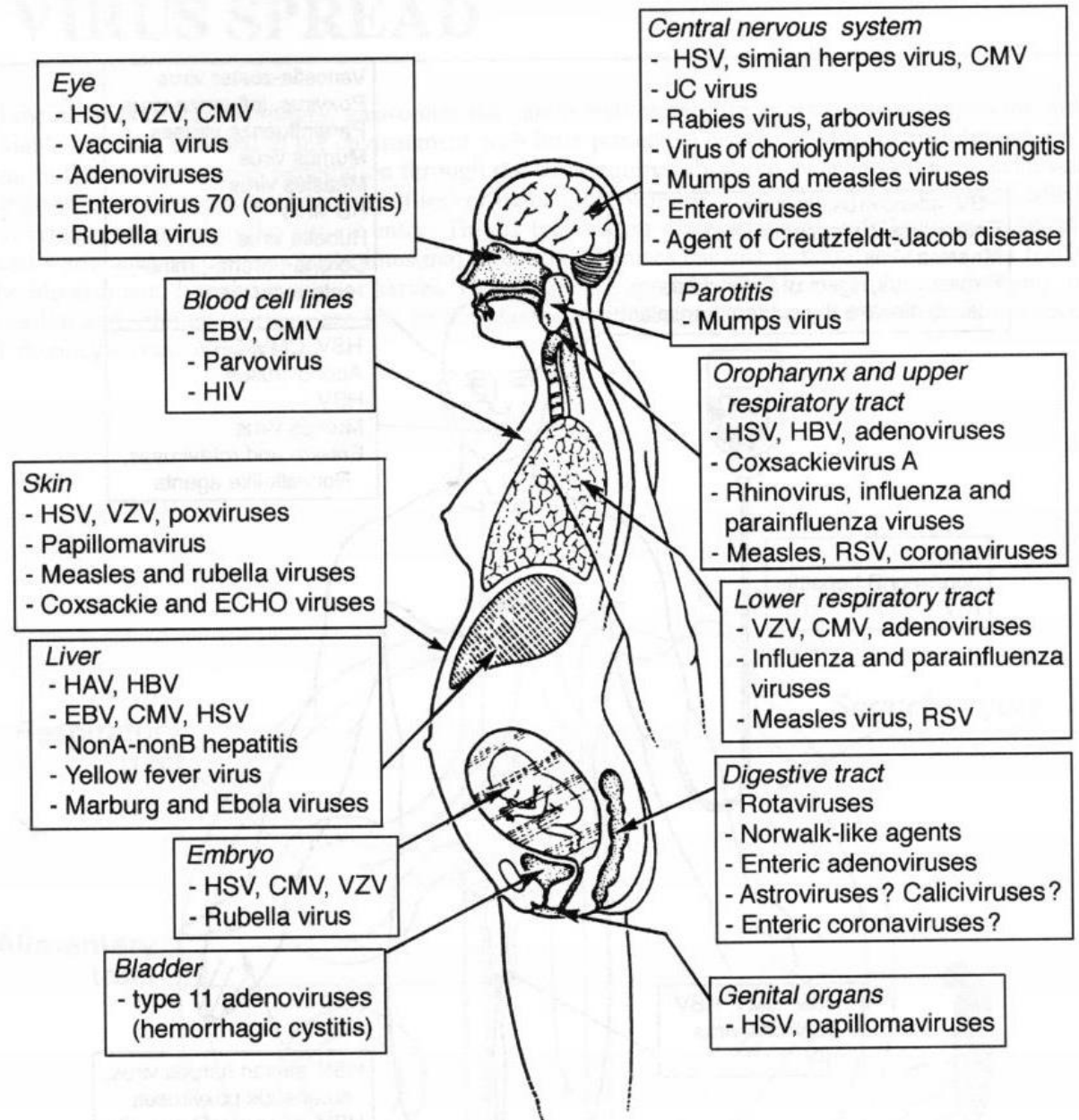
TRENDS in Microbiology



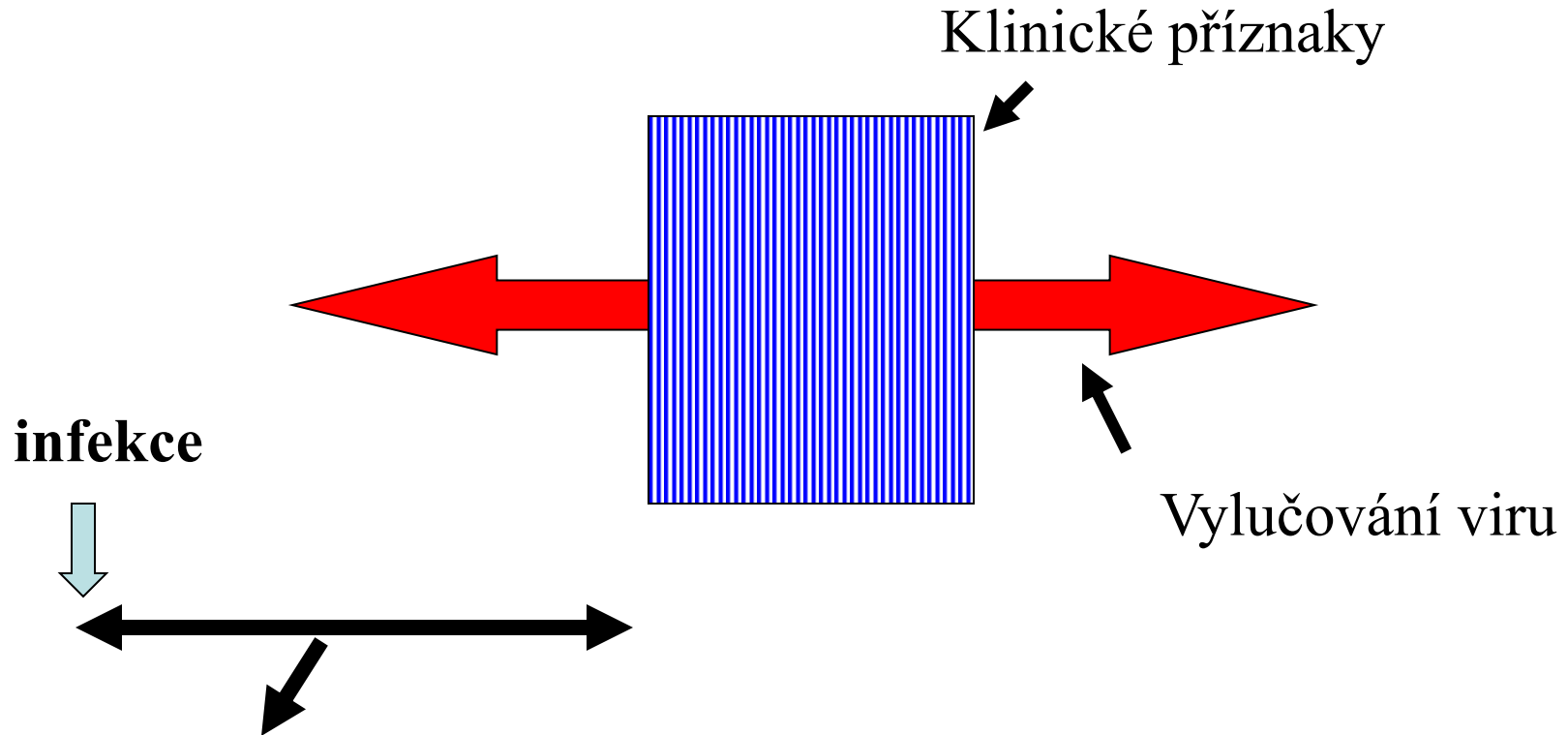
U alfa-herpesvirů jsou virové částice při transportu v neuronu vázány na molekulární motory (dynein a kinesin), které umožňují rychlý axonální transport po mikrotubulech. Dynein zprostředkovává retrográdní transport a kinesin anterográdní.



Cílové orgány virů



Inkubační doba



Inkubační doba – doba mezi infekcí a objevením se prvních klinických příznaků

Inkubační doba u běžných virových infekcí

Chřipka	1-2 dny
Nachlazení – viróza	1-3 dny
Akutní respiróza	5-7 dní
Dengue	5-8 dní
Herpes simplex	5-8 dní
Plané neštovice	13-17 dní
Inf.mononukleóza	30-50 dní
Hepatitida A	15-40 dní
Hepatitida B a C	50-150 dní
Vzteklina	30-100 dnů
Papilloma (bradavice)	50-150 dní
AIDS	1-10 let

Vylučování viru

-Exkrece virů je **jedním ze základních článků infekčního procesu**

-Někdy vylučování **přímo v místě primárního pomnožení** nebo v případě generalizovaných infekcí **tělními tekutinami**

-Snadné a rychlé vylučování: především **z místních kožních lézí**, zvláště když jsou doprovázeny kožní nekrózou (př. neštovice), stejně tak při nekróze sliznic (př. chřipka)

-v případě generalizované infekce je vylučování viru **závislé na tělních orgánech**, kde dochází k **sekundárnímu množení**, tedy je značně pomalejší

Vylučování viru

- Pokožka (přenos přímým kontaktem díky drobným poraněním na pokožce)
- Respirační trakt
- Výkaly (adenoviry, enteroviry)
- Moč (CMV)
- Mléko (CMV, klíšťaty přenášené flaviviry)
- Sperma (př. HIV)
- Krev a vnitřní orgány

Vylučování viru

Orofarynx a gastrointestinální trakt

- např. enteroviry mohou být vylučovány v faryngeální tekutině nebo výkalech – virus se v takovém případě množí v lymfoidní tkáni uzlin a Peyeroých plátech
- jiné viry mohou být vylučovány výkaly po pomnožení v epiteliálních buňkách střeva (reoviry, rotaviry) nebo jater přes žlučové cesty (virus hepatitidy A)

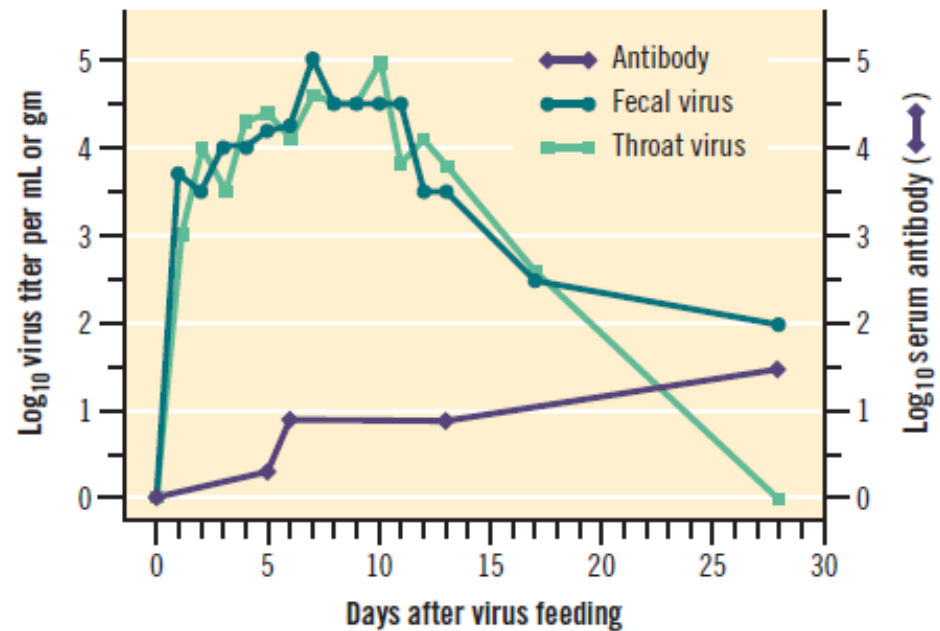


FIGURE 2.9 Course of wildtype poliovirus excretion in the pharyngeal fluids and feces of chimpanzees after virus feeding. After Bodian D, Nathanson N.

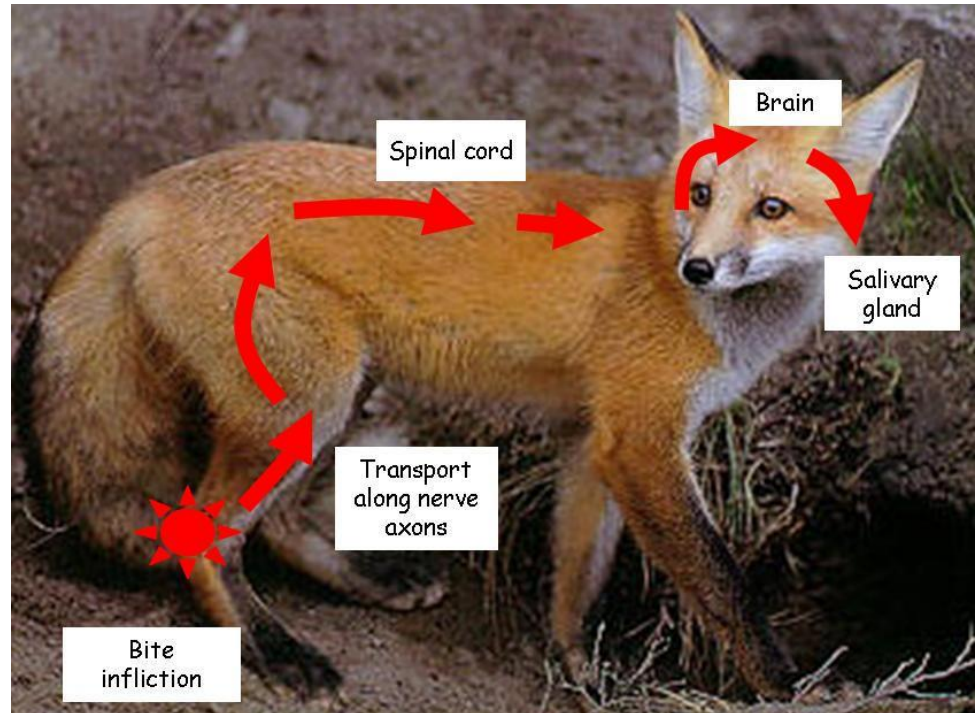
Pokožka

- poměrně málo virů je vylučováno pokožkou
 - papilomaviry a některé poxviry způsobují **bradavice** nebo **povrchové nádory**, které mohou být přenositelné **mechanickým** kontaktem
 - variola nebo VZV způsobují kožní léze, které mohou být **aerosolizovány** přenášeny respirační cestou (viz rozdávání přikrývek kontaminovaných virem varioly španělskými dobyvateli)



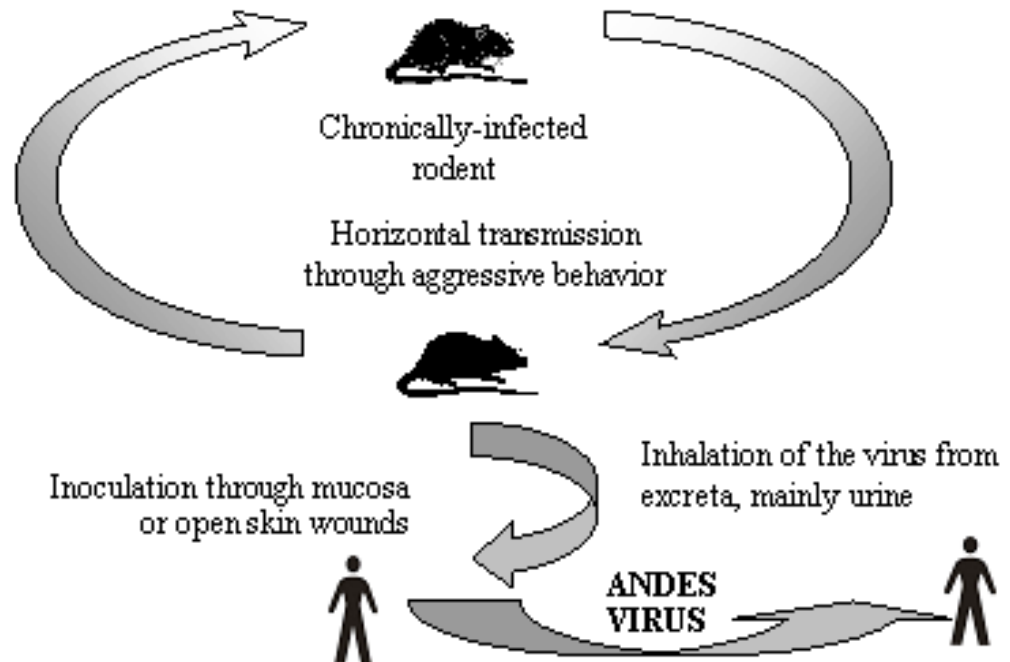
Tekutiny z mukózních membrán, úst a genitálií

- viry, které se množí na sliznicích a vytvářejí **léze v ústní dutině nebo genitáliích**, jsou často šířeny v faryngeálních nebo genitálních tekutinách (př. HSV1 v ústní dutině, HSV2 na genitáliích)
- některé viry vylučovány ve slinách (EBV, virus příušnic, virus vztekliny)
- HBV či HIV přítomno ve **spermatu** (uvádí se, že průměrný ejakulát obsahuje 10^6 mononukleárů, z nichž 10^2 až 10^4 (0,01-1%) nese virový genom)



Krev, moč, mléko

- krev – přenos viru při transfúzi, krevními produkty, kontaminovanou jehlou – typické zejména pro viry, které způsobují persistentní virémii (HBV, HCV, HIV) a CMV
- poměrně hodně virů je vylučováno v moči, ale nepředstavuje to významný způsob přenosu (ale některé hantaviry a arenaviry přenosné na člověka se zaschlou hlodavčí močí)
- viry vylučované do mléka a přenosné z matky na potomka: zejména HIV



Přežívání virů v prostředí

- viry se liší ve schopnosti přežít v aerosolu po vyschnutí (např. poliovirus je citlivý k nízké vlhkosti – snížení intenzity přenosu v zimním období)
- GIT představuje velmi nehostinné prostředí, které inaktivuje většinu virů
- viry přenášené fekálně-orální cestou odolné vůči působení vnějších podmínek i prostředí GIT

Šíření virů mezi hostiteli

248

9. Epidemiology and Control of Viral Infections

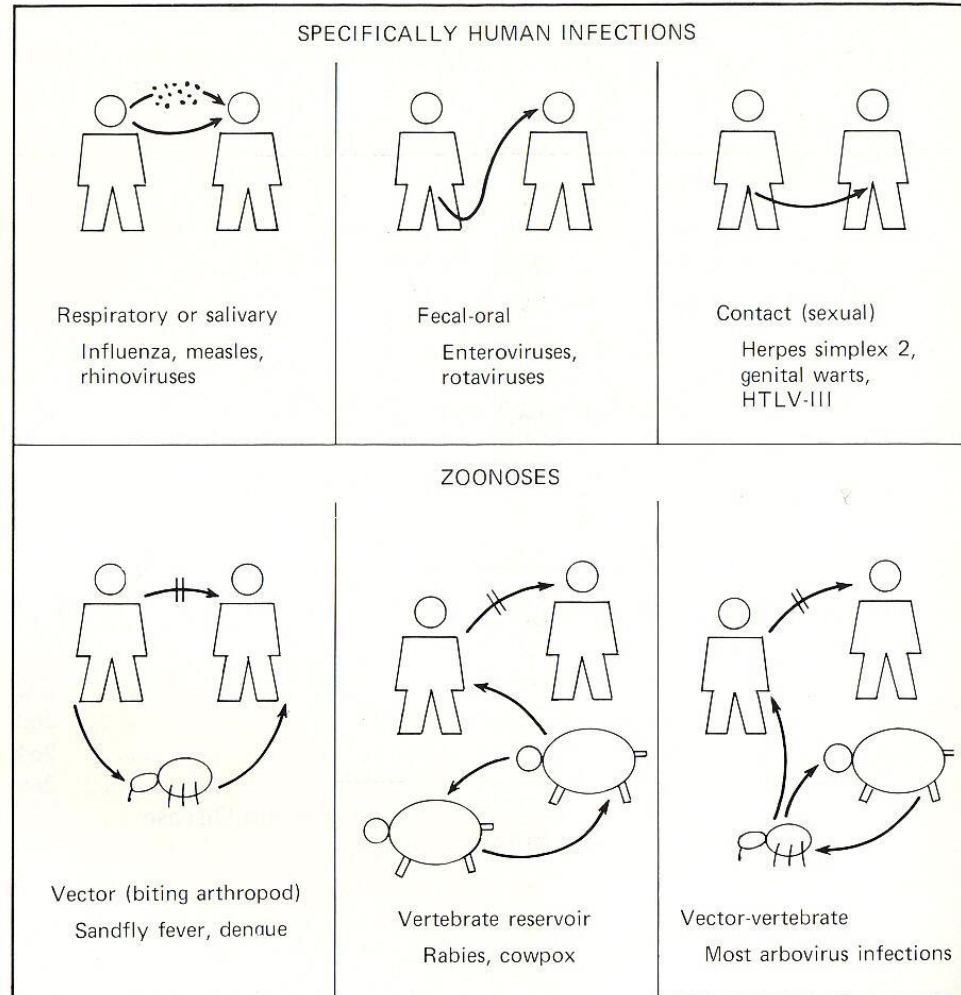


FIG. 9-1. Types of transmission of human viral diseases. Respiratory and contact