



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



NÁRODNÍ
PLÁN OBNOVY

MSMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

**MASARYKOVA
UNIVERZITA**

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Základy virologie 2 část

Prof. RNDr. Daniel Růžek, Ph.D.

Obsah

Infekce horního respiračního traktu a oka (adenoviry, koronaviry a rinoviry).....	4
Adenoviry.....	4
Koronaviry	6
SARS-CoV	7
Rinoviry	8
Chřipka.....	10
Dětské infekce způsobené paramyxoviry	16
Spalničky.....	17
Respiratorní syncytiální virus (RSV)	19
Příušnice (angl. mumps)	20
Viry parainfluenzy 1-4	21
Virové gastroenteritidy	22
Rotaviry.....	22
Adenoviry.....	23
Kaliciviry (Caliciviridae)	24
Astroviry	24
Virové hepatitidy.....	25
Virus hepatitidy A (HAV).....	25
Virus hepatitidy B (HBV).....	28
Virus hepatitidy C (HCV)	33
Virus hepatitidy D – delta agens (HDV).....	35
Virus hepatitidy E (HEV)	36
Virus hepatitidy G (HGV).....	37
Herpesviry	38
Virus herpes simplex.....	41
Virus varicella-zoster	46
Virus Epstein a Barrové (EBV).....	49
Cytomegalovirus	51
Lidský herpesvirus 6 (HHV-6)	53
Lidský herpesvirus 7 (HHV-7)	54
Lidský herpesvirus 8 (virus spojený s Kaposiho sarkomem)	54
Herpesvirus B (herpesvirus simiae)	54
Papovaviry	54
Polyomaviry	56
Papillomaviry.....	58
Vysoce nebezpečné exotické infekce: filoviry, arenaviry a hantaviry.....	62
Filoviry.....	62
Arenaviry	65
Hantaviry.....	67
Arboviry	69

Bunyaviry.....	69
Reoviry.....	69
Žlutá zimnice.....	70
Dengue	71
Virus západního Nilu	71
Vzteklina	73
Viry a nádory	78

Infekce horního respiračního traktu a oka (adenoviry, koronaviry a rinoviry)

Adenoviry

Tyto viry byly nejprve izolovány z nosohltanových mandlí (adenoidní vegetace), na základě čehož byly pojmenovány. Adenoviry způsobují infekce horního respiračního traktu i oka a jsou zodpovědné za asi 5-10% všech respiračních infekcí.

Adenoviry jsou ikosahedrální neobalené DNA-viry o velikosti asi 80 nm. Adenoviry vynikají svou geometrickou krásou. Kapsida sestává z 252 kapsomer, které jsou spořádány do dokonalého ikosahedru s dvaceti stěnami a 12 hranami. Unikátním morfologickým znakem jsou dlouhé peplomery vyčnívající z kapsidy, dávající adenoviru vzhled družice. Čeleď *Adenoviridae* dělíme na dva rody, *Mastadenovirus* a *Aviadenovirus*, z nichž každý se vyznačuje jinými antigenními vlastnostmi a hostitelským okruhem (mastadenoviry infikují savce, aviadenoviry ptáky). Na základě křížově-neutralizačních testů bylo identifikováno 47 sérotypů lidských adenovirů, toto číslo je ale zřejmě ve skutečnosti vyšší.

Ptačí adenoviry mohou být přítomny ve vejcích, které se použijí pro produkci vakcín. CELO virus (chick embryo lethal orphan virus) řadíme mezi onkogenní viry, neboť je schopen vyvolat nádorovou transformaci buňky. Žádné adenoviry, které by způsobovaly nádory u člověka, však nejsou známy.

Genom viru je tvořen dvouřetězcovou DNA (36-38 kpb) s invertovanými terminálními repetitivy a proteinovým primerem na každém 5' konci.

Virus váže svou peplomerou ke specifickému receptoru na povrchu buňky a proniká do buňky procesem endocytózy. Po rozložení kapsidy je virové jádro obsahující virový genom a asociované histony transportováno do jádra, kde dojde k replikaci a transkripci DNA. Transkripce probíhá z obou vláken DNA pomocí buněčné RNA-polymerázy II za vzniku raných a pozdních RNA kódujících rané a pozdní virové proteiny. Pozdními proteiny jsou virové strukturní proteiny. Nové virové částice jsou kompletovány v jádře, často v takovém množství, že se tam tvoří z nových virionů krystalové agregáty.

Klinické a patologické aspekty

Endemické respirační infekce dětí

Většina dětí je infikována adenoviry již velmi záhy, ale asi jen polovina infekcí vyústí v klinicky manifestní onemocnění. Frekvence asymptomatických infekcí závisí zejména na typu viru; adenovirus 2 například způsobuje velmi lehkou infekci. U mladších dětí se objevují symptomy jako kašel nebo ucpaný nos, u starších se může projevit jako faryngitida. V některých chladných oblastech světa (Kanada, Čína) adenoviry 3 a 7 způsobují pneumonie u dětí mladších než 2 roky. Šíření těchto infekcí je způsobeno přenosem pomocí aerosolu, ale také cestou fekálně-orální na nádobí apod. Tento způsob přenosu je netypický pro respirační viry.

Epidemie u vojenských branců

Adenoviry velmi často způsobují infekce horního a dolního respiračního traktu u vojenských branců. Je to dáno zřejmě koncentrací více osob na jednom místě a stresem. Onemocnění většinou odezní po 10 dnech a komplikace v podobě pneumonitidy jsou vzácné.

Imunosuprimovaní pacienti

Těžké infekce, včetně pneumónií mohou nastat u pacientů, kteří jsou podrobeni transplantaci orgánů nebo pacientů s AIDS.

Faryngokonjunktivita

Tento syndrom je charakterizován faryngitidou a konjunktivitidou zejména u dětí a dospívajících. Řada epidemických vzplanutí tohoto onemocnění měla souvislost s plaveckými bazény. Adenovirová infekce by měla být vždy zvažována pokud se u pacienta rozvine konjunktivita asi týden po návštěvě plovárny.

Gastrointestinální infekce

Symptomatické adenovirové infekce střeva se objevují zejména u novorozenců a jsou způsobeny typy 40 a 41. Tyto viry nelze pěstovat v buněčných kulturách.

Patogeneze

Infekce u lidí jsou vzácně smrtelné. O patogenезi adenovirových infekcí se toho moc neví, protože tato záležitost je obtížně studovatelná. Na základě experimentů s laboratorními zvířaty se zdá, že adenovirové infekce jsou více výsledkem imunopatologie, nežli přímého poškození tkáně adenovirovou replikací, ale tato teorie nebyla ještě potvrzena.

Epidemiologie

Všech 47 serotypů se vyskytuje běžně v populaci a mohou vyvolat explozivní epidemie, většinou respiračních infekcí, ale také infekcí oka. Charakteristickým rysem epidemiologie adenovirů je určitá sezónnost – například adenovirová faryngokonjunktivitida s horečkou se objevuje u školní mládeže zejména v létě, zřejmě následkem zvýšené frekvence návštěv plováren. Epidemie adenovirového respiračního onemocnění u vojenských branců se objevují většinou v zimě. Infekce serotypy 2, 3, 5 a 7 jsou celkově nejčastější. Typy 1 a 2 se objevují u malých dětí, zatímco typy 3 a 5 u starších jedinců. Infekce se šíří kapénkovou, ale i fekálněorální cestou, zejména tam, kde jsou slabší hygienické podmínky.

Laboratorní diagnostika

Laboratorní diagnostika je založena buď na rychlém průkazu viru pomocí imunofluorescence nebo na základě kultivačního vyšetření. Izolace viru z výkalů, výtěrů z hrdla, stěrů ze spojivky nebo z moči je velmi zdoluhavá. Trvá přinejmenším jeden týden, u některých serotypů až měsíc. Při izolaci viru se užívají linie HeLa nebo Hep-2, které po infekci vykazují charakteristický cytopatický efekt. pH v kultuře v případě pozitivního nálezu velmi rychle klesne a buňky jsou zvětšené, zakulacené, tvoří hroznovité shluky.

Po izolaci viru je možno provést aglutinační test s potkaními nebo opičími (makak rhesus) erytrocyty nebo HI test s specifickým antisérem.

Profylaxe

Z důvodů velkých epidemií adenovirových infekcí ve vojenských táborech, již v 60. letech minulého století americká armáda zahájila vývoj vakcíny. Živá vakcína sestává z typů 4 a 7 v želatinových kapslích, které se polykají a viry jsou uvolněny ve střevě, kde se množí a indukují imunitní odpověď, aniž by vyvolaly onemocnění. Širší využití této vakcíny se ale neuvažovalo, zejména s ohledem na variabilitu sérotypů adenovirů způsobujících respirační infekce u běžné populace. Dalším problémem je to, že některé adenoviry jsou onkogenní u zvířat; u lidí se podobný onkogenní účinek adenovirů však ještě nepotvrdil.

Adenoviry jsou dnes hojně využívány v molekulární biologii jako vektory genetické informace, nejenom pro vakcinaci, ale třeba i pro genovou terapii.

Koronaviry

Koronaviry (z latiny corona = koruna) infikují člověka, ptáky a další živočichy. Jsou popsány čtyři koronaviry způsobující infekce u člověka – první dva infikují respirační trakt, kde napadají řasinkové epitelium trachei, nasální mukózu a alveolární buňky plic. Třetí a čtvrtý (SARS-CoV) koronavirus byly objeveny v nedávné době.

Čeď *Coronaviridae* dělíme na dva rody *Coronavirus* a *Torovirus*. V nedávné době byl objeven zcela nový koronavirus (SARS-CoV). Prvně se objevil v jihovýchodní Asii a způsobil epidemii těžkého akutního respiračního syndromu v 32 zemích světa.

Koronaviry jsou pleomorfní, o velikosti od 60 do 220 nm. Z virové částice vyčnívají peplomery o velikosti až 20 nm. Tyto velmi velké, silně glykosylované peplomery dávají viru jeho charakteristický vzhled koruny, odtud název celé čeledi.

Koronaviry obsahují tři obalové proteiny. Prvním je matrix protein, který je transmembránovým glykoproteinem, druhý je protein S, který vytváří povrch peplomer a je zodpovědný za tvorbu neutralizačních protilátek, vazbu na receptor hostitelské buňky a hemaglutinační aktivitu viru. Posledním strukturním proteinem je protein HE, který má hemaglutinační funkci a funkci esterázy a slouží pravděpodobně při uvolňování nových virových částic z infikované buňky (podobně jako NA u chřipky). Ribonukleoprotein virové částice má helikální strukturu organizovanou do nepravidelného klubíčka.

Genom tvoří nejdelší RNA z všech lidských RNA-virů. Je pozitivní polarity o velikosti až 30 kb, má 5' čepičku a poly(A) na 3' konci a je sama o sobě infekční.

Viriony se nejprve přichycují k povrchu vnímavé buňky. Průnik do buňky proběhne rychle, ale je závislý na teplotě. Průnik pravděpodobně probíhá způsobem endocytózy, kdy pak dojde ke splynutí virového obalu s membránou endozómu. Virová RNA je přímo translatována na dva polypeptidy, které jsou štěpeny za vzniku mj. virové RNA-polymerázy. RNA-polymeráza následně přepisuje celogenomovou RNA negativní polarity, která je templátem pro nově vznikající vlákna virového genomu. Vznikají také menší subgenomické RNA, z nichž každé je translatován jeden protein.

Sestavení virionu probíhá v cytoplasmě, pučí do ER, čímž získávají svůj obal a následně jsou transportovány přes GA ven z buňky.

Klinické a patologické aspekty koronavirových infekcí s výjimkou SARS

Odhaduje se, že 2-10% běžných nachlazení je způsobeno koronaviry OC43 a 229E. V typickém případě je inkubační doba 3 dny, následovaná nepříjemnou rýmou trvající asi týden. Během tohoto období je virus vylučován. Zvýšená teplota nebývá, nebo jenom lehce. Kašel a bolest v krku nejsou běžné.

Replikace viru probíhá v epitelu horních cest dýchacích. Následkem destrukce epitelálních buněk dochází k zánětu, edému a zvýšené tvorbě hlenu.

Epidemiologie

Koronavirové infekce probíhají v hladných měsících zimy a časného jara. Větší epidemie se objevují pravidelně s odstupem 2-4 let. Imunitní odezva na infekci je slabá, proto může dojít k reinfekci následující sezónu. Kromě toho dochází k rychlé antigenní proměně viru..

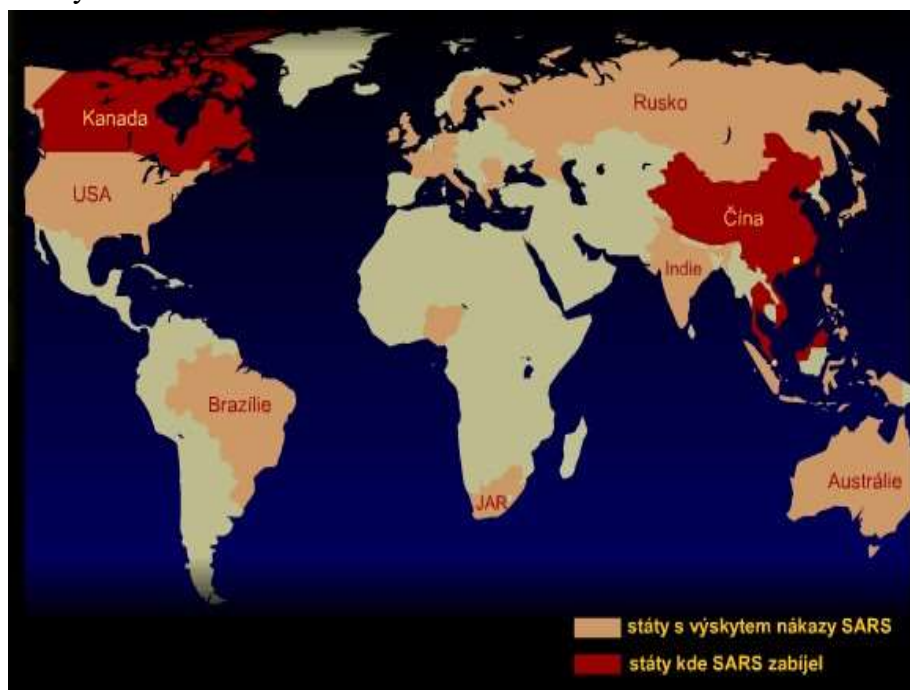
Diagnostika

Izolaci koronavirových provádí jen nemnoho klinických laboratoří. Koronaviry se v buněčných kulturách replikují jen málo. Lepší výsledky poskytují orgánové kultury lidské embryonální trachey nebo nosního epitelia.

Pro epidemiologické účely se vyšetřují párová séra metodou HI.

SARS-CoV

První případy se objevily v listopadu 2002 v provincii Guangdong v Číně. Do dubna 2003 se virus rozšířil celosvětově, přičemž nakazil 3500 lidí a způsobil 182 úmrtí. Virus byl identifikován jako neznámý koronavirus, který se vyskytoval v nějakém savčím rezervoáru, zřejmě v cibetkách, které jsou v Číně využívány jako exotická pochoutka, nebo v potkanech, kterými se cibetky živí.



Genom je podobný ostatním koronavirům a sestává z 11 ORF kódujících 23 proteinů. SARSCoV ale oproti ostatním koronavirům nekóduje žádný protein s hemaglutinačními vlastnostmi. SARS-CoV je není rekombinant z různých koronavirů, ale spíše zcela nový virus.

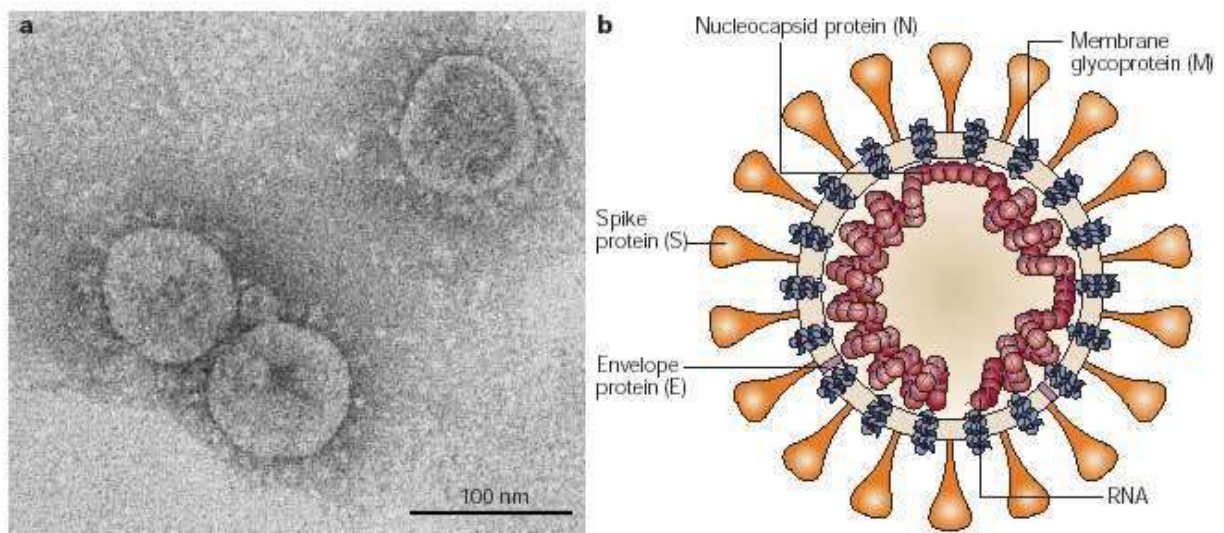


Figure 1 | **Morphology of the SARS coronavirus.** a | Electron micrograph of the virus that was cultivated in Vero cells (Image courtesy of Dr L. Kolesnikova, Institute of Virology, Marburg, Germany). Large, club-shaped protrusions consisting of spike protein form a crown-like corona that gives the virus its name. b | Schematic representation of the virus. A lipid bilayer comprising the spike protein, the membrane glycoprotein and the envelope protein cloaks the helical nucleocapsid, which consists of the nucleocapsid protein that is associated with the viral RNA. In the case of coronaviruses, the lipid envelope is derived from intracellular membranes.

Klinické a patologické znaky

Klinické znaky zahrnují vysokou teplotu (nad 38°C), suchý kašel, bolesti svalů a dýchavičnost. Inkubační doba trvá až deset dní. Vylučování viru začíná spolu s prvními klinickými symptomy a dosahuje vrcholu za dalších 7-8 dní. Přenos viru z člověka na člověka byl poměrně slabý a vyžadoval velmi těsný kontakt s infikovanou osobou (přenos kapénkami, kontaminovanými rukama nebo nádobím). Dobré standardy hygieny dokáží šíření epidemie zastavit. Rizikové skupiny představují zdravotničtí pracovníci.

Proti SARS-CoV byly vyvinuty kandidátní vakcíny a byly objeveny i účinné antivirové látky. Nicméně v tuto chvíli je nejdůležitější důkladná surveillance, která může včas podchytit nové vzplanutí epidemie a následně jejím šíření včas zabránit.

Rhinoviry

Rhinoviry (z řečtiny rhinos=nos) představují samostatný rod v rámci čeledi Picornaviridae. Jsou to malé viry (18-30 nm v průměru) o ikosahedrální symetrii. Na základě neutralizačních testů rozeznáváme více jak 150 sérotypů, RNA-RNA hybridizace ale definuje méně než 100 různých rhinovirů. Oproti ostatním pikornavirům se rhinoviry liší jejich citlivostí k kyselému pH a nižší optimální teplotou k replikaci (33°C). Tato nižší optimální teplota je zřejmě výsledkem evoluční adaptace k chladnějším prostředí nosního epitelu.

Genom tvoří lineární jednořetězcová RNA o pozitivní polaritě a velikosti 7-8 kb.

Replikace viru začíná jeho vazbou na intracelulární adhesní molekulu (ICAM-1). Následně virová částice penetruje přes buněčnou membránu. Virová RNA slouží rovnou jako mRNA a je

translatována na jeden velký polyprotein, který je štěpen na intermediáty (P1 a P2), které se samy štěpí na strukturní a nestrukturní proteiny. RNA je replikována přes dvouřetězcový RNA intermediát. Během virové replikace je zastavena replikace buněčné RNA. Nové viriony se uvolňují z buňky tím, že dojde k její lýze.

Klinické a epidemiologické aspekty

Replikace je omezena na buňky horního respiračního traktu. Infekce se šíří aerosolem, úzkým osobním kontaktem (podání rukou), a nádobím. Inkubační doba je 2-3 dny. Zánět a hojný exsudát horního respiračního traktu trvá po několik dní. Mezi symptomy patří ucpaný nos, kýchání, bolavé hrdlo, a často bolesti hlavy a kašel. Horečka se objevuje jen vzácně.

Rhinovirové nachlazení se objevuje během celého roku ve všech částech světa. Jedinec může prodělat dvě až tři infekce ročně díky cirkulaci různých kmenů/serotypů. Děti jsou k infekci citlivější než starší osoby.

Ačkoliv koronavirové a rhinovirové infekce jsou poměrně triviální, jejich ekonomicky dopad na společnost jako výsledek pracovní absence je enormní.

Chemoterapie či vakcíny proti běžnému nachlazení

Potenciální antivirový efekt IFN byl testován na dobrovolnících infikovaných rhinovirem v roce 1973 s uspokojivým účinkem. Tehdy byly v experimentu použity prakticky celé světové zásoby IFN. Nicméně podání IFN vede k řadě vedlejších účinků. Jedním z nich je ucpaný nos po intranasálním podání IFN, což použití této látky při léčbě nachlazení vylučuje. Jiné látky jako enviroxim nebo dichloroflavan mají dobrý antivirový účinek proti rhinovirům in vitro, ale pokusy na dobrovolnících ukázaly jejich nízkou účinnost in vivo.

Vakcinace proti rhinovirům je vzhledem k jejich antigenní diversitě tvrdým oříškem. V současné době se hledají epitopy, které by byly společné většině nebo všem rhinovirům a mohly být použity jako proteinová vakcína.

Shrnutí:

- adenoviry mají lineární dsDNA genom, ikosahedrální strukturu s dlouhými peplomery.
- Některé adenoviry způsobují epidemie respiračních infekcí v zimě, jiné gastrointestinální problémy. Sérotyp 8 způsobuje epidemickou keratokonjunktivitidu.
- koronaviry jsou viry s pozitivní ssRNA o velikosti 30 kb. Jsou známy tři sérotypy. Způsobují infekce horního respiračního traktu. Tyto viry se obtížně kultivují v laboratoři, ale snadno se šíří. Způsobují asi 10% běžných nachlazení. Nový koronavirus (SARS-CoV) se objevil v jihovýchodní Asii a způsobuje pneumonii. Šíření tohoto viru je však značně pomalejší v porovnání s dalšími koronaviry.
- Rhinoviry způsobují běžné nachlazení. Jsou to picornaviry s pozitivní ssRNA o velikosti 7-8 kb. Je známo více jak 100 sérotypů, což vysvětluje, proč dochází k častým reinfekcím těmito viry. Rhinoviry infikují buňky horního respiračního traktu. K infekcím dochází v průběhu celého roku a ve všech částech světa.
- Není znám žádný univerzální lék či vakcína na nachlazení způsobené těmito třemi skupinami virů. Vakcína proti adenovirům je ve stadiu testování.

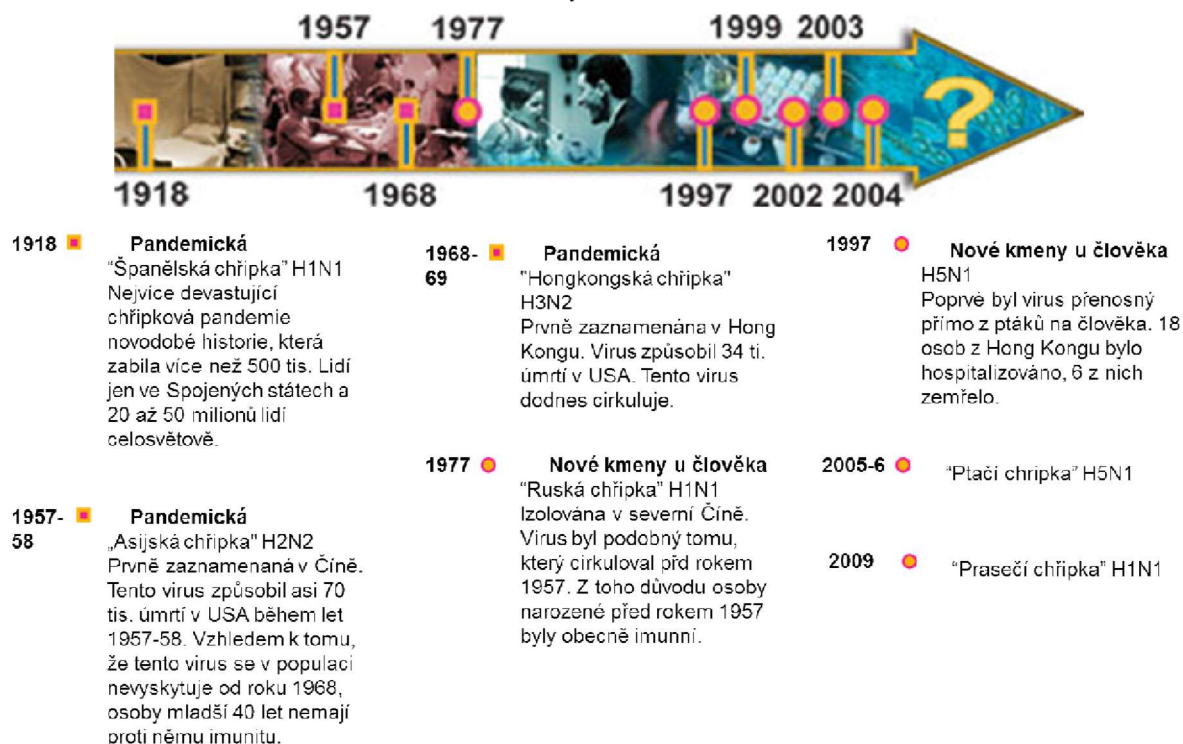
Chřipka

Virus chřipky patří mezi RNA viry a to do skupiny orthomyxovirů, jejichž je také jediným zástupcem. Podle antigenní specifity majoritních vnitřních proteinů rozdělujeme chřipkové viry na tři podtypy: A, B a C. Přírodním hostitelem viru typu A je nejenom člověk, ale mezi hostitele řadíme i některá divoce žijící zvířata (mořští rackové), ale i zvířata člověkem domestikovaná (kachny, kur, krocani, prasata, koně). Typy B a C se však podle stavu současného poznání vyskytují pouze u lidí.

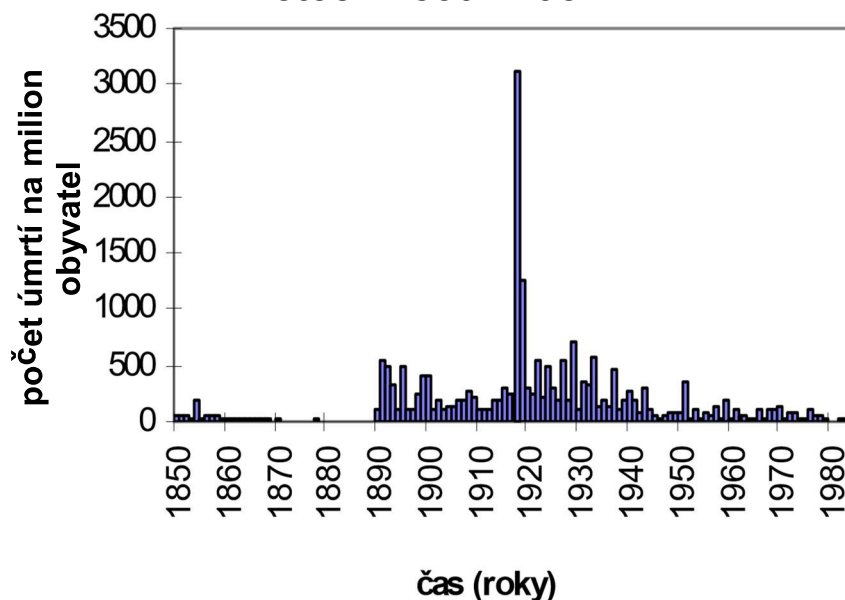
Z lékařského hlediska je více nebezpečný typ A, jež často způsobuje velké celosvětové epidemie a pandemie. Typ B způsobuje pouze lokální epidemie, zatímco virus typu C vyvolává pouze lehčí onemocnění. Je však pozoruhodné, že lidské chřipkové viry typu A mohou přecházet i na zvířata a zvířecí chřipkové viry zase naopak na člověka. Schopnost viru vyvolat u cizorodého hostitele infekci je ale omezená.

Virus chřipky vyvolává u člověka vysoce infekční respirační onemocnění. K pomnožování viru dochází v epitelu horních dýchacích cest. Epidemickému průběhu onemocnění napomáhá zejména to, že se šíří kapénkovou infekcí. Ve středověku byly chřipkové epidemie přičítány planetárním vlivům. Největší epidemií nové doby byla epidemie španělské chřipky v letech 1918-1919. Epidemii podlehl nejméně 20 milionů lidí. Na onemocnění umírali především mladí lidé, přičemž úmrtnost byla také neobyčejně vysoká (0,1 - 5 %) a lidé často umírali již za pouhých 24 hodin po objevení se prvních příznaků. Při této epidemii virus totiž sestupoval až do plicních sklípků, kde způsoboval krvácení a vážné otoky. V tehdejší době se nepodařilo virus úspěšně izolovat, ale podle specifity protilátek se zjistilo, že virový glykoprotein hemagglutinin byl antigenně velmi podobný hemagglutininu prasečího chřipkového viru. Následující velká epidemie proběhla v roce 1957. Ta se rozšířila z Asie a byla proto nazvána tzv. asijskou chřipkou. Roku 1977 se vyskytla další epidemie způsobená obdobným typem viru jako u španělské chřipky. Tentokrát se ale epidemie šířila z čínsko-ruského pohraničí – a byla nazvána ruskou chřipkou. Ta zasáhla především mladší ročníky, které nebyly proti viru imunní na rozdíl od starších lidí, kteří byli zasaženi španělskou chřipkou v letech 1918 - 19.

Chřipka



Úmrtnost na chřipku v Anglii a Walesu v letech 1850 - 1984

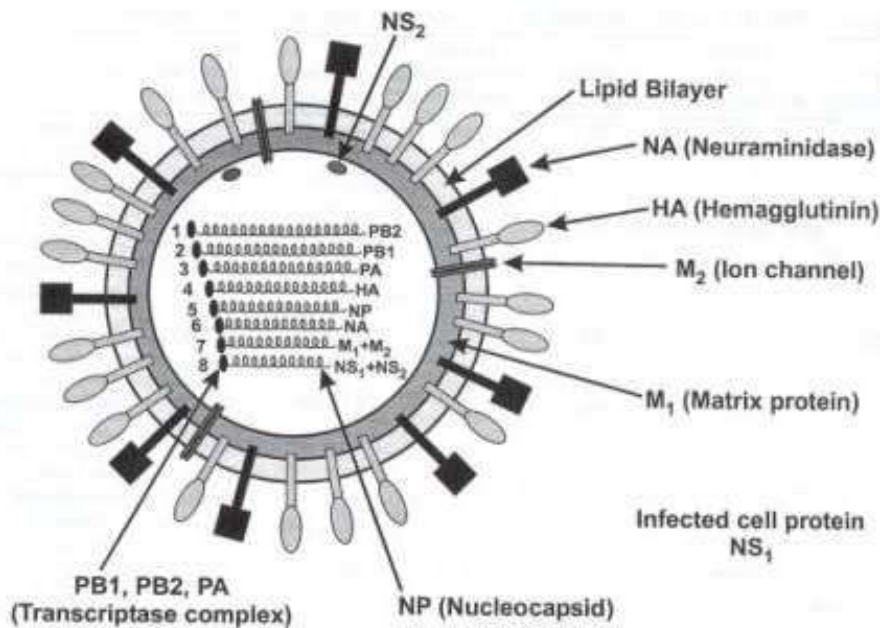


Hlavní příčinou velkých epidemií v moderní lidské populaci je rychlý antigenní vývoj chřipkového viru. Jeho proměnlivost zapříčiňují dva jevy - rekombinace a mutace. Rekombinace se projevuje zejména změnami virového glykoproteinu hemagglutininu (viz dále). Během 20. století se objevily viry typu A s několika odlišnými hemagglutininu, jež se označují

H1, H2 s H3 atd. Nástup každého odlišného podtypu byl spojen s pandemií. Při druhé pandemii v roce 1957 se objevil nejen nový typ hemagglutininu (H2), ale i nový typ druhého významného virového proteinu neuraminidázy (N2). V současné době cirkulují v lidské populaci viry různých podtypů a také jejich vzájemné rekombinanty.

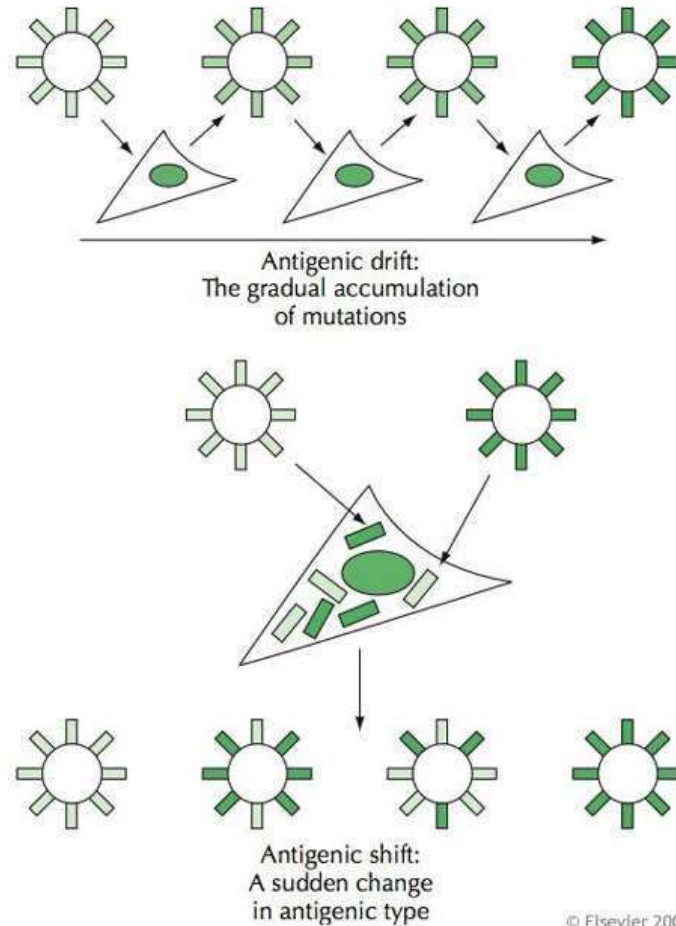
Zdrojem nových podtypů byly pravděpodobně zvířecí chřipkové viry typu A, s nimiž lidský virus rekombinoval. Ze zvířat se v tomto uplatňují nejspíše ptáci, u kterých se podařilo nalézt hemagglutininu třinácti typů a devět typů neuraminidáz v nejrůznějších kombinacích. Z ptáků jmenujme především kachny a ptáky žijící v koloniích na mořském pobřeží. U kachen probíhá chřipková virová infekce bez příznaků, virus se množí ve střevě a z těla se dostává spolu s fekáliemi, jež znečišťují vodu, odkud se virus může dostat na savce - např. na tuleně. Přenosu z domácích kachen jsou zase nejvíce vystavena prasata. Ta mohou virus přenést na člověka. Tak k tomu došlo jak u asijské či ruské chřipky, tak i u chřipky Hong Kong (1968) - všechny tyto pandemie se rozšířily v podstatě z Číny, kde venkovské obyvatelstvo žije v těsném kontaktu s domácími zvířaty.

Virus chřipky má segmentovaný genom. Ten tvoří 8 molekul jednořetězcové RNA negativní polarity, které kódují 10 bílkovin. Mimo jiné kódují také glykoproteiny hemagglutinin a neuraminidáza. Hemagglutinin je hlavním proteinem virového obalu - několik set hemagglutininových trimerů vyčnívá z povrchu každé partikule. Neuraminidáza je ve virovém obalu přítomna ve formě tetramerů. Funkce neuraminidázy není jasná, nicméně uvažuje se o úloze při průniku viru k citlivým buňkám přes vrstvu hlenu a při pučení virové částice z buňky. Co se týče jeho replikačního cyklu, je velmi úzce vázán na jádro hostitelské buňky. Podle virové RNA je kopírována mRNA a několik dalších (+)RNA, jež poté slouží jako předlohy pro syntézu virových (-)RNA. Ty jsou poté ještě přepisovány a postupně „baleny“ do bílkovinných obalů pučících z plazmatické membrány. Mechanismus distribuce virových RNA do infekčních partikulí dosud není znám. Problém je totiž v tom, jak se určuje, aby každá partikule dostala vždy oněch 8 segmentů a aby každý segment byl jiný. Jak výzkumy ukazují, téměř každá partikule je infekční a tedy i kompletní.



Viry typu A prodělávají v lidské populaci rychlý vývoj mutací, které se projevují především změnou antigenních vlastností viru. Lidská populace se ale brání vzrůstem imunity zaměřené právě na virový hemagglutinin. To dává příležitost k uplatnění se nových virových mutantů a rekombinantů. Z toho důvodu se chřipkové epidemie šíří pravidelně v určitých časových intervalech a virové izoláty zachycené v dané době a v různých oblastech světa jsou téměř shodné. U izolátů se zjistilo, že kromě nových mutačních změn obsahují ostatní vlastnosti totožné s jejich předky. Z toho důvodu lze předpokládat, že virus se tedy šíří dynasticky (po jedné linii).

Relativní snadnosti šíření chřipkových virů navíc napomáhá život v moderní lidské společnosti - cestování po celém světě, přelidněná velkoměsta apod.



Pro diagnostické účely lze virus pomnožit v alantoické dutině kuřecích embryí nebo je možno použít i buněčných kultur. K první úspěšné izolaci chřipkového viru došlo v roce 1931 u prasat. Zanedlouho se však takováto izolace stala rutinní záležitostí.

Při laboratorní diagnostice chřipkového viru se také často využívá jeho hemaglutinačních schopností - tj. schopností shlukovat červené krvinky. Dojde-li totiž k smíchání červených krvinek a viru v koncentraci 1:1 nebo v poměru vyšším ve prospěch viru, začnou se červené krvinky shlukovat (aglutinovat), čímž dojde k zabránění jejich skulení se na dno zkumavky. Nejmenší obsah virové dávky, která má ještě hemaglutinační vlastnosti udává tzv. hemaglutinační titr. Hemaglutinačně - inhibiční titr séra (HI) udává nejvyšší ředění séra, které ještě postačí k aglutinaci standardního množství červených krvinek standardním množstvím viru.

V nedávné době se začala objevovat široká paleta různých rychlých diagnostických metod. Nicméně nejpřesnější a nejspolehlivější diagnostikou stále zůstávají izolační pokusy. K těm se používají zejména (jak jsme již uvedli výše) tkáňové kultury, kuřecí embrya a v menší míře pokusná zvířata. U tkáňových kultur se používají buňky lidského nebo zvířecího původu. Přítomnost virů se posuzuje zejména podle destrukce buněčné kultury nebo podle jiných složitějších charakteristik. Použití kuřecích embryí je poměrně problematictější. Používá se jedenáctidenních až dvanáctidenních kuřecích zárodků. Vzhledem především k rozvoji tkáňových kultur se užívání pokusných zvířat v laboratorní diagnostice naprosto minimálně.

Nezbytným doplňkem izolačního pokusu je zjištění, zda došlo k vzestupu protilátek v párových sérech. V některých (méně závažných) případech může toto zjištění nahradit i izolační pokus.

Pro chřipkové viry je charakteristický hemaglutinačně inhibiční test. Jde o specifitější reakci, která bývá typově nebo subtypově specifická. Významná je především k jemnější analýze antigenních variant u chřipkových virů.

V současné době se s proměnlivým úspěchem užívá vakcinace. Problém v užití správné vakcíny spočívá především v rychlé antigenní variabilitě viru. Vakcinace se proto omezuje na očkování vybraných rizikových skupin populace, mezi něž patří zejména osoby staré a pacienti s kardiovaskulárními, plicními, metabolickými nebo neurologickými onemocněními. Očkují se také zdravotníci, laboratorní personál pracující s virem chřipky apod. Chřipkové vakcíny se rozdělují do třech skupin - na tzv. inaktivované vakcíny, které obsahují celý virion, pro dospělé jsou bezpečné, ale u dětí mohou vyvolat reaktivní odezvu. Druhou skupinu tvoří inaktivované podjednotkové vakcíny a třetí skupinou jsou živé vakcíny, jež velmi dobře vedou ke zvýšení lokální imunity.

Ačkoli virová chřipková onemocnění jsou obecně veřejností brána na lehkou váhu, představují stále hrozící nebezpečí, které by mohlo při vzniku nových rekombinátů zapříčinit další chřipkové pandemie. Je tedy velmi žádoucí důkladnější studium chřipkových virů a především zavádění vysoce kvalitních diagnostických metod v nemocničních klinických zařízeních.

Dětské infekce způsobené paramyxoviry

Paramyxoviry (z lat. para=za, myxo=sliz) způsobují celou škálu infekcí, zejména zahrnující respirační trakt. U lidí to jsou spalničky, respirační infekce způsobené respiračním syncytiálním virem (RSV), parainfluenza, či infekce slinných žláz – příušnice.

Tyto viry jsou zodpovědné za zhruba polovinu všech případů záškrtu, bronchiolitidy a pneumonie u dětí. Tyto viry, obzvláště RSV, způsobují formaci mnohojaderných obřích buněk (syncytia).

Paramyxoviry se vyskytují celosvětově a způsobují spalničky a příušnice u dětí a respirační infekce u všech věkových kategorií, ale především u dětí. Jsou přenášeny aerosolem či těsným kontaktem (neumyté ruce). Jejich šíření je obzvláště rychlé v školkách a školách.

Vlastnosti paramyxovirů

Klasifikace

Zástupci čeledi Paramyxoviridae jsou obalené viry s negativním ssRNA genomem, o velikosti 150-200 nm v průměru s nukleokapsidem helikální symetrie.

Rozlišujeme dvě podčeledě *Paramyxovirinae* (rody *Paramyxovirus*, *Rubulavirus*, *Morbillivirus*) a *Pneumovirinae* (rody *Pneumovirus* a *Metapneumovirus*).

Morfologie a strukturní proteiny

Strukturní polypeptidy kapsidu zahrnují glykoproteiny H (hemaglutinační aktivita) nebo HN (aktivita hemaglutininu a neuraminidázy) a F (fusion), které formují peplomy a protein M (matrix), který se nachází uvnitř virionu. Tři další proteiny spolu s RNA tvoří nukleoproteinové „jádro“ virionu a RNA-transkriptázu. F protein je zodpovědný za fúzi membrán buněk za vzniku mnohojaderných syncytií, která jsou charakteristická pro infekce způsobené těmito viry.

Genom a replikace

Genom paramyxovirů je tvořen ssRNA negativní polarity o velikosti 15 kb. Zahrnuje 10 genů kódujících 11 virových proteinů.

Replikace paramyxovirů odpovídá typickému případu pro viry s negativní ssRNA. Replikace probíhá kompletně v cytoplasmě buňky. Viry se přichycují k povrchu buňky na glykoproteinové nebo glykolipidické buněčné receptory pomocí H nebo HN proteinů peplomer. Virion pronikne do buňky následkem fúze virové membrány s membránou buňky za pomoci virového F proteinu. Genom viru je uvolněn ihned do cytoplasmy a je pomocí virové RNA-transkriptázy přepsán na 6-10 subgenomických, obvykle monocistronických (tzn. jeden protein je kódován jednou mRNA) molekul mRNA. RNA-transkriptáza se váže k 3'konci RNA a zahajuje transkripci. Jakmile dorazí k terminační oblasti, má dvě možnosti. Buďto může odpaďnout a znovu se připojit k 3' konci, či může pokračovat dále, dokud nenarazí na místo s dalším transkripčním signálem, kde zahájí transkripci dalšího genu. Geny na 3' konci jsou tudíž transkribovány ve větším počtu, nežli geny na 5' konci.

Posléze je transkripce přeorientována na replikaci genomu. V tomto případě jsou syntetizována vlákna pozitivní ssRNA, které slouží jako templáty pro následnou syntézu negativních vláken ssRNA. Virové proteiny (H, NSI a M) inhibují transkripci a napomáhají tímto k přepnutí

transkripce k replikaci genomu. Nově syntetizované kopie neg. ssRNA interagují s N proteinem a virovou transkriptázou, za tvorby nukleokapsidových struktur, které se dále váží s M proteinem. Virové peplomy se formují na membráně infikované buňky a na její cytosolové straně interagují s M proteinem. Tímto se u membrány sestavují nové virové částice, které následně pučí z buňky ven. Někdy pučící viry rovnou fúzí s membránou další buňky, což může vést jednak k její infekci, jednak k iniciaci fúze buněk původní a nově infikované.

Klinické a patologické aspekty paramyxovirových infekcí

Spalničky

Spalničky (angl. measles, lat. morbilli z morbus=onemocnění) představují v mírných klimatických pásmech lehčí onemocnění s velmi vzácnými komplikacemi. V tropických oblastech ale stále zůstávají velmi závažným onemocněním s vysokou mortalitou. Z celosvětového pohledu patří toto onemocnění mezi nejčastější příčiny úmrtí dětí do 5 let.

Od infekce pro rozvoj první vyrážky uplynou obvykle 2 týdny. 2-3 dny před rozvinutím se vyrážky jsou patrné prodromální příznaky (slzení, ucpaný nos, kašel, lehce zvýšená teplota). Na bukální sliznici v blízkosti molárů lze nalézt Koplikovy skvrny, které připomínají krystalky soli pod sliznicí. Těchto skvrn může být pár i mnoho, ale jakmile jsou přítomny, je zcela jasné, že se jedná o onemocnění spalničkami.

Vyrážka se zprvu objevuje za ušima a v obličejí a šíří se na trup a končetiny během následujících dvou dní. Jedná se tmavě červené skvrny, v těžších případech červenofialové. Tělesná teplota prudce vroste až ke 40°C, jsou patrné známky bronchitidy a pneumonitidy provázené kašlem. Příležitostně se objevuje průjem, což naznačuje zánětlivé léze ve střevě.

Za další 2 až 3 dny se začíná vyrážka mizet, teplota klesá a dítě se začíná cítit lépe.

Komplikace mohou vycházet z neúměrné reakce imunitního systému na infekci. Jedná se především o postinfekční encefalitidu (1 na 1000 případů), či o velkobuněčnou pneumónii (život ohrožující komplikace obzvláště u dětí s imunodefektem). Subakutní sklerotizující panencefalitida je obzvláště zákeřná, klinicky se projevující až po létech po prodělané spalničkové infekci. Její incidence je asi jeden případ na milion onemocnění.

Patogeneze a patologie

Pacient se infikuje pomocí kapének, které se dostanou do respiračního traktu nebo oka. Virus spalniček patří mezi vůbec nejinfekčnější viry. Onemocnění má charakter akutní generalizované infekce. Po počátečním pomnožení viru v buňkách respiračního traktu, virus proniká do spádových lymfatických uzlin, kde infikuje mononukleáry, které vylučují virus do krevního oběhu. Krví je virus zanesen do nejrůznějších částí těla a množí se primárně v epiteliálních površích. Buňky respiračního traktu a rohovky jsou k viru obzvláště citlivé.

Vyrážka není výsledkem cytopatického efektu množení viru, ale spíše následkem působení cytotoxických T-buněk proti virovým antigenům přítomných v pokožce. Kromě toho vytvářející se komplexy antigen-protilátka v endotelu kapilár, což vede k jejich poškození, vasodilataci a úniku plasmy. Vyrážka tedy může být pokládána za indikátor toho, že byla vůči infekci zahájena imunitní odezva vedoucí k vyléčení. Na druhou stranu, pokud vyrážka chybí (např. u imunodeficitních pacientů), znamená to špatný prognostický znak.

Během fáze prodromálních příznaků a akutní infekce je virus vylučován v tělesných tekutinách, včetně respiračních sekretů. V té době se množí zejména v leukocytech, což vede k leukopénii. Během akutní fáze je možno nalézt obří virem infikované buňky, které obsahují až 100 jader. Tyto buňky se vyskytují v farynxu, tonsilách, kůži, respiračním epitelu, lymfatických uzlinách, Peyerových plátech a jinde. Virus je z kůže velmi rychle odstraňován ve fázi, kdy se začne objevovat vyrážka.

Protilátky ve třídách IgM, IgA a IgG jsou přítomny ve stejnou dobu, kdy se objevuje vyrážka, IgM a IgA poté asi po měsíci mizí, IgG přetrvávají po zbytek života.

Epidemiologie

Spalničky jsou vysoce nakažlivé onemocnění, které se vyskytuje ve všech oblastech světa. Endemicky se vyskytuje především tam, kde je kontinuálně dostatečné množství citlivých dětí. V menších komunitách se virus tudíž nemá šanci udržet a bývá tam pak spíše introdukovan. Před zavedením očkování MMR vakcínou se v rozvinutých zemích objevovaly epidemie spalniček zhruba každé 2-3 roky a postihovaly děti ve věku 3-5 let, u kterých mělo onemocnění ale většinou mírný průběh. Díky rozsáhlým vakcinačním programům jsou spalničky dnes již prakticky neznámé ve většině evropských zemí a v USA. V rozvojových zemích ale mají spalničky stále vysokou incidenci, zejména u dětí mladších 2 let, u kterých je průběh podstatně závažnější a spojený s nezvyklými klinickými projevy (např. slepota) a vysokou mortalitou (3-6%). Celkově se odhaduje, že na spalničky umírá každoročně přes 1 milion dětí v rozvojových zemích. Závažnější průběh v těchto oblastech je dán dvěma faktory: 1. děti přicházejí do styku s infekcí dříve, než je tomu v zemích rozvinutých, 2. děti jsou podvyživené (např. během nigerijské občanské války umíralo až 15% postižených spalničkami). V těchto oblastech je průběh spalniček podobný tomu, jaký byl v Evropě asi před 100 lety. Vyrážka bývá podstatně závažnější, loupou se velké části kůže, přičemž jsou rozsáhlé oblasti povrchu těla vystaveny bakteriální infekci. Nedostatek vitamínu A v kombinaci se spalničkovou infekcí vede k ulceraci rohovky a slepotě.

Laboratorní diagnostika

V běžné každodenní praxi nebývá laboratorní detekce viru nutná, protože spalničková vyrážka je zcela charakteristická a představuje tedy dostatečný diagnostický marker. U atypických případů lze provést serologickou diagnostiku založenou na detekci specifických IgM např. pomocí metody ELISA.

Profylaxe

Pasivní profylaxe založená na podání normálního imunoglobulinu je indikována u imunodeficientních pacientů, které přišly do kontaktu s infekcí.

Preventivně se užívají moderní atenuované vakcíny, které jsou vysoce efektivní. Většinou jsou podány v kombinaci s atenuovaným virem příušnic a zarděnek (MMR vakcína) ve věku 13-15 měsíců, kdy již nehrozí riziko neutralizace viru mateřskými protilátkami. Výhodou je to, že existuje jen jeden serotyp viru a není pozorována jeho výraznější antigenní proměnlivost. Ve většině evropských zemí a v USA je snaha dosáhnout 100% vakcinačního pokrytí u dětí za účelem virus eradikovat v těchto oblastech. Z toho důvodu není možné přihlásit dítě do státní školy, aniž by bylo vakcinováno. Tato kampaň dnes již nese své ovoce. Počet úmrtí na spalničky

klesl v USA z zhruba 400 v roce 1960 na asi 10 (současný stav). Isolované epidemie se však stále objevují u různých etnických skupin a v některých případech u studentů univerzit pocházejících ze zemí, kde nebyli v dětství očkovaní. Za účelem dosažení vysoké hladiny protektivních protilátek jsou děti ještě jednou přeočkovávány ve věku 3-5 let (v USA 11-12 let). V rozvojových zemích je vakcinace komplikovaná. Očkování dětí v těchto oblastech ve věku 9 měsíců je jednou z priorit WHO. Termolabilita spalničkové vakcíny představuje jednu z největších komplikací v tropických oblastech světa. Lyofilisovaná vakcína totiž musí být uchovávána při teplotě 2-8°C a navzdory udržení této teploty dochází k rychlému poklesu vakcinační potence. Další komplikací jsou možnosti podchycení dětí odpovídajícího věku, kdy již nemají přítomny maternální protilátky. Experimentálně toto bylo řešeno podáním vyšší dávky, která by mohla být podána i dětem mladším 9 měsíců. Tento přístup se však neukázal být příliš úspěšným.

Respiratorní syncytiální virus (RSV)

RSV je vysoce infekční agens, které způsobuje epidemie v celém světě, zejména u kojenců. Virus je šířen aerosolem a neumytými rukama. RSV může způsobit úmrtí kojence, případně i starších imunokompromitovaných jedinců. Na severní polokouli se epidemie RSV objevují zpravidla v prosinci.

Klinické aspekty

Onemocnění zprvu začíná nespecifickými chřipkovými příznaky, ale během 24 hodin se rozvine akutní fáze, kdy se objeví dýchací obtíže a dítě je cyanotické. Typicky pozorujeme bronchiolitidu. Plicní parenchym může (pneumonitida), ale nemusí být zahrnut. Existují údaje, že RSV infekce v dětství vede k dlouhotrvajícím dýchacím problémům.

Patogeneza a patologie

Inkubační doba onemocnění je asi 5 dní. Objevuje se nekrotizující bronchiolitida, kde blokáce bronchiol vede ke kolapsu částí plic. Peribronchiální infiltráty se mohou šířit, což vede k intersticiální pneumonitidě. Bývají ale pozorovány i bezpříznakové infekce.

Děti bývají infikovány již ve věku kolem 6. týdne, což naznačuje, že maternální protilátky v případě této infekce nesehrávají významnější roli. U imunokompromitovaných pacientů může RSV způsobit persistentní infekci. Předpokládá se, že komplexy antigen-protilátky mají určitou úlohu v imunopatologii, tento předpoklad ale ještě nebyl potvrzen experimentálně. Reinfekce jsou časté, což naznačuje, že primární infekce nevede k vytvoření dlouhotrvající imunity. Kromě toho RSV se vyznačuje určitou antigenní proměnlivostí, což také umožňuje opakované infekce daného jedince.

Epidemiologie

RSV dělíme do dvou serologických skupin A a B. Virus se šíří kapénkovou cestou, ale i kontaminovanými rukama nebo předměty (např. lůžkovinami). V oblastech mírného klimatického pásma se epidemie RSV objevují v zimních měsících, zatímco v tropických oblastech během léta a období dešťů. Nejvíce postiženy bývají děti ve věku od 6. týdne do 6. měsíce. RSV představuje nejvýznamnější respirační infekci kojenců.

Během epidemií se infekce rychle šíří v nemocnicích, jeslích a školkách. Děti infekci šíří po dobu až třech týdnů po odeznění akutní fáze.

Laboratorní diagnostika

Virus může být izolován na lidských buněčných kulturách (např. HeLa), kde se objevuje charakteristický cytopatický efekt (vznik syncytií) za 2-10 dní. Virový antigen je možno prokázat v nasofaryngeálních výplších metodou nepřímé imunofluorescence nebo v nasální tekutině např. metodou ELISA. Virová RNA může být též detekována RT-PCR.

Prevence

Úsilí o vyvinutí spolehlivé očkovací látky proti RSV se nesetkalo s úspěchem. Jedinou prevencí tedy zůstává úzkostlivá hygiena dodržovaná zejména na dětských odděleních nemocnic, v jesličkách a školkách.

Léčba

U těžkých případů lze podat ribavirin inhalačně, nebývá to však zcela běžné a indikuje se spíše dětem s preexistujícím kardiopulmonárním onemocněním. Účinné je podání vysokých dávek lidského imunoglobulinu nebo humanizovaných monoklonálních protilátek, tato léčba je ale velmi drahá a užívá se jen v případě ohrožení pacienta na životě.

Příušnice (angl. mumps)

Příušnice jsou jedním z prvních onemocnění rozpoznaných a popsanych již Hippokratem v pátém století př. n. l.

Klinické aspekty

Onemocnění se nejprve projevuje nevýrazně zneklidněním a horečkou; za dalších 24 hodin dochází k bolestivému zvětšení příušních žláz, ostatní slinné žlázy bývají méně postiženy. Ve většině případů se příušní žlázy vrátí k normálu během následujících několika dní a onemocnění odezní bez následků.

Nicméně v řadě případů se objevují vážné komplikace. Orchitida nastává u asi 20% mužů, kteří přijdou do kontaktu s virem po ukončení puberty. To může předcházet klasickým příušnicím, ty ale mohou i chybět. Typicky dochází k bolestivému zvětšení jednoho nebo i obou varlat. Bolest může být až nesnesitelná, v takovém případě se pacientům podávají silná analgetika. Doprovázející symptomy jsou bolest hlavy a horečka. Symptomy odezní většinou během následujících 3-6 dní. Ačkoli je pozorována testikulární atrofie asi až u 30% pacientů, sterilita bývá po prodělané infekci vzácná.

Zánět vaječnicků a pankreatu byl také pozorován, ale výraznějších komplikací a následků.

U některých případů dochází k rozvoji aseptické meningitidy nebo encefalitida. Zejména encefalitida představuje vážnou komplikaci, která může být až život ohrožující. Malé procento pacientů je postiženo hluchotou po infekci.

Patogeneze

Infekce se šíří slinami a respiračními sekrety. Virus vstupuje do těla respirační cestou a to buď pomocí aerosolu nebo následkem těsného kontaktu s infikovanou osobou (např. neumyté ruce).

Inkubační doba je 14-21 dní. Během akutní fáze se rozvíjí virémie, během níž virus napadne různé orgány v těle včetně příušních žláz. Virus je uvolňován po několik dní před a po nástupu symptomů a to nejen respiračním traktem, ale i močí.

Epidemiologie

Virus příušnic je celosvětově rozšířen a napadá většinou osoby mladší 15 let. V mírných pásmech se onemocnění objevuje během celého roku, i když nejvyšší incidence je pozorována v zimních měsících. V tropických oblastech je incidence konstantní po celý rok. Virus příušnic je vysoce infekční. Jsou pozorovány epidemie ve školských nebo zdravotnických zařízeních, ale jsou časté např. i mezi vojenskými branci.

Laboratorní diagnostika

Virus může být izolován v různých buněčných liniích a identifikován např. metodami hemadsorpce nebo hemaglutinace. Častěji se ale užívají serologické testy, jako ELISA pro detekci specifických IgM nebo komplement-fixační testy.

Prevence

Atenuovaný vakcinační kmen je součástí tzv. MMR vakcíny, poskytující imunitní obranu po více než 20 let.

Viry parainfluenzy 1-4

Viry parainfluenzy způsobují asi 1/3 všech respiračních onemocnění a zhruba polovinu respiračních infekcí dětí předškolního věku. Typy 1 a 2 jsou většinou asociované s laryngotracheobronchitidou (krupička). Chlapci bývají postiženi častěji než dívky. Typ 3 obvykle způsobuje infekce dolního respiračního traktu (bronchiolitida a pneumonie).

O těchto virusech je toho známo velmi málo. Předpokládá se, že patogenese jimi způsobovaného onemocnění je podobná RSV infekcím. Epidemiologie je též velmi podobná ostatním paramyxovirovým infekcím.

Inaktivovaná vakcína vyvinutá proti parainfluenze se ukázala být neúčinnou.

Virové gastroenteritidy

Na úvod je nutno zdůraznit, že virové gastroenteritidy nejsou způsobeny enteroviry, ač by tomu tak název jejich čeledi napovídal. Enteroviry se sice množí v epitelu střeva, ale nezpůsobují gastroenteritidu.

Většina původců virových gastroenteritid se špatně kultivuje v buněčných kulturách a to je také důvod toho, proč o nich víme žalostně málo. Většina jich byla objevena čistě jen pomocí elektronové mikroskopie ve vzorcích stolice, přičemž tento přístup zůstává dodnes jednou z hlavních diagnostických metod. Virové gastroenteritidy se šíří efektně fekálně-orální cestou, často kvůli nemytí si rukou po defekaci. Byly zaznamenány například úporné epidemie virových gastroenteritid mezi pasažéry zaoceánských lodí.

Virus	Velikost virionu (nm)	Charakteristické morfologické znaky	Genom
Rotavirus	70	Připomíná loukoťové kolo	lineární dsRNA, 18 kbp, 11 segmentů
Adenovirus, typy 40, 41	80-110	Ikosahedrální symetrie s dlouhými peplomerami	lineární dsDNA, 36 kbp
Kaliciviru	35	32 pohárkovitých prohlubní na povrchu	lineární pozitivní ssRNA, 7,5 kb
Astrovirus	30	Pěti nebo šestiramenná hvězda	lineární pozitivní ssRNA, 7 kb

Rotaviry

Rotaviry jsou členy čeledi *Reoviridae* (reo- z respiratory enteric orphan).

Rotaviry byly pojmenovány na základě jejich morfologie (rota = kolo). Kapsid je o velikosti asi 70 nm v průměru. V elektronovém mikroskopu se zdá, jakoby ze středu vycházely radiální paprsky, čímž vytváří iluzi loukoťového kola. Jádro částice má ikozahedrální symetrii. Jádro částice je tvořeno strukturálním proteinem VP2 a replikázou (transkriptázou) VP1. Vnitřní část kapsidu je tvořena antigenem VP6, zatímco vnější část VP7. Z kapsidu vyčnívá šedesát peplomer tvořených proteinem HA VP4.

Reoviry se liší od všech ostatních RNA virů tím, že jejich RNA genom negativní polarity je dvouřetězcový. Kromě toho je fragmentován do 11 segmentů. Celková velikost genomu je asi 18 kbp. Elektroforetický pattern nukleových kyselin se liší mezi kmeny. Někdy se proto jako diagnostický znak užívá jejich elektroforetyp, který sice nekoresponduje se serotypem, ale má své uplatnění zejména v epidemiologických studiích.

Virová replikace je zahájena vazbou virionu na receptor (kyselina sialová) na hostitelské buňce pomocí svého HA proteinu. Do buňky pak virus proniká procesem endocytózy nebo prostupuje přímo přes plasmatickou membránu. Degradované viriony následně slouží jako „virové továrny“ pro transkripci a replikaci virových nukleových kyselin. Virová transkriptáza přepisuje některé RNA segmenty na mRNA kódující rané virové enzymy, které virovou továrnu opouštějí. Negativní segmenty RNA jsou poté tvořeny z mRNA. Dvouřetězcové RNA jsou pak

templátem pro transkripci pozdních mRNA. Pozdní mRNA kódují virové strukturní proteiny, které se pak sestavují v viriony procesem autoagregace. Infikovaná buňka pak lyzuje a akumulované viriony se uvolní ven. Někteří zástupci ale využívají unikátního mechanismu pučení přes membránu endoplasmatického retikula.

Klinické a patologické aspekty

Rotaviry povětšinou napadají děti do 2 let, ale mohou postihnout i osoby starší. Inkubační doba je 2-4 dny. Mezi charakteristické symptomy patří zvracení, průjem a horečka. Infekce ale může probíhat i zcela bezpříznakově. Měla by být zajištěna zejména pacientova hydratace, což není problém v rozvinutých zemích, ale v zemích rozvojových umírá v takovém případě na dehydrataci nemalý počet dětí.

Rotaviry napadají zejména cylindrický epitel klků duodena a horního ilea. Ztráta těchto buněk vede k malabsorpci. Regenerace buněk ale proběhne poměrně rychle po odeznění infekce.

Epidemiologie

Na severní polokouli se objevují rotavirové epidemie obvykle v zimních měsících. Virus se šíří primárně fekálně-orální cestou, ale vzhledem k sezónnosti onemocnění nelze vyloučit ani šíření cestou respirační. Epidemie jsou časté v institucích typu jesliček, školek nebo nemocnic. Virus je poměrně rezistentní k desinfekčním prostředkům. V rozvojových zemích patří rotavirové infekce k hlavním příčinám úmrtí malých dětí. Infekce může být přenesena z asymptomatických dospělých jedinců (rodičů nebo ošetřovatelů) na děti. Chronické rotavirové infekce nastávají u pacientů s imunodefektem.

Rozlišujeme šest serotypů (A-F) na základě antigenních rozdílů v kapsidovém antigenu VP6, ale většina lidských rotavirů patří do skupiny A. Segmentace rotavirového genomu umožňuje teoretickou kombinovatelnost jednotlivých segmentů, například i se zvířecími nebo ptačími kmeny, jako je tomu např. u viru chřipky. Nicméně takové rekombinanty nebyly zatím zaznamenány.

Rotavirová vakcína

Pro rotavirové infekce není známa žádná specifická terapie a tudíž vakcína, zejména v rozvojovém světě, by byla velmi žádoucí. Během několik posledních let bylo vyvinuto několik slibných kandidátních vakcín.

Adenoviry

Biologické vlastnosti adenovirů jsou popsány v kapitole pojednávající o infekcích horního respiračního traktu a oka. Charakteristická morfologie adenovirů usnadňuje jejich identifikaci ve vzorcích stolice pomocí elektronové mikroskopie. Jejich přítomnost ale nemusí nutně souviset s onemocněním. Serotypy 40 a 41 obvykle souvisí s akutním průjmem u dětí. Často bývají současně ve vzorcích přítomny i adeno-asociované parvoviry. Klinické symptomy adenovirové gastroenteritidy jsou obdobné jako v případě rotavirové infekce jen s tím rozdílem, že postihují starší děti. Někdy je infekce komplikovaná intususcepcí střeva (vsunutí úseku střeva do sousední části ve směru sestupném nebo vzestupném).

Kaliciviry (*Caliciviridae*)

Kaliciviry infikují široké spektrum hostitelů (savci, ptáci, plazi, ryby) včetně člověka. Rozlišujeme čtyři rody, z nichž dva, tj. noroviry (dříve „Norwalk-like viry“) a sapporoviry postihují člověka a způsobují epidemie gastroenteritid. Virus hepatidity E je též kalicivirus, ale je probírán v samostatné kapitole.

Viryony jsou o velikosti asi 35 nm v průměru a mají pohárkovité prohlubně na svém povrchu (lat. calix = pohárek). Genom viru je tvořen jednořetězcovou RNA pozitivní polarity. Během procesu replikace je genomická RNA translatována do rozsáhlého polyproteinu, který je následně štěpen na strukturní a nestrukturní proteiny. Separátní subgenomické mRNA molekuly kódují některé z strukturních proteinů. Replikace probíhá v cytoplasmě infikované buňky, kde také dochází k tvorbě nových virových částic procesem autoagregace. Tyto viry se nedaří kultivovat v laboratoři.

Klinické a epidemiologické aspekty

Lidské kaliciviry jsou většinou pojmenovány po lokalitě, kde infekce jimi způsobené byly zaznamenány (Norwalk, Hawaii, Tauton, Snow Mountain). Etiologická role těchto virů byla potvrzena na hrdinných dobrovolnících, u kterých se rozvinula gastroenteritida poté, co vypili filtráty stolice nemocných osob.

Existuje několik způsobů přenosu infekce zahrnujících fekálně-orální cestu, inhalaci aerosolu ze zvratků a konzumaci kontaminované potravy a pití kontaminované vody. Konzumace koryšů je častými zdrojem infekce.

Kaliciviry způsobují epidemie zvracení a průjmu. Inkubační perioda je 18-48 hodin a nástup infekce je obvykle náhlý. Může být přítomna i bolest břicha a lehce zvýšená teplota. Stolice ale neobsahuje krev ani hlen.

Diagnostika

Elektronová mikroskopie s využitím specifického antiséra (imunoelektronová mikroskopie) je stále nejpoužívanější diagnostickou metodou. Nicméně kity pro RT-PCR jsou nyní též dostupné.

Astroviry

Astroviry mají viryony ikozahedrání symetrie o velikosti asi 30 nm v průměru, připomínající v elektronovém mikroskopu pěti nebo šestiramennou hvězdu (z řeč. astron = hvězda). Kapsid je tvořen dvěma nebo třemi strukturními proteiny. Genom je tvořen jednořetězcovou RNA pozitivní polarity o velikosti asi 7 kb. Virus se přichycuje na receptor na hostitelské buňce a je internalizován procesem endocytózy nebo do buňky proniká přímo. Replikace probíhá v cytoplasmě. RNA genom je replikován přes replikační intermediát v podobě dsRNA. Velká subgenomická mRNA je přepsána do polyproteinu, který je štěpen na kapsidové proteiny. Nové viriony vznikají autoagregací a jsou patrné krystalická skupení v cytoplasmě; jsou uvolňovány z buňky při její lýzi.

Klinické a epidemiologické aspekty

Astroviry způsobují průjemové epidemie zejména u dětí. Způsoby přenosu jsou obdobné jako u kalicivirů. Inkubační doba je 3-4 dny. Zvracení není charakteristickým rysem. V mírných klimatických pásmech je vrchol incidence v zimních měsících.


Laboratorní diagnostika

Podobně jako u výše uvedených virů je metodou volby elektronová mikroskopie. Ve fekálních vzorcích je obvykle možno identifikovat několik morfologicky odlišných virů, přičemž je pak těžko říci, který z nich je zodpovědný za pacientovy obtíže. Obecně však lze říci, že většinou jsou se symptomy asociované rotaviry. Další specifické metody jako ELISA nebo RT-PCR jsou dostupné.

Virové hepatitidy

Játra jsou místem masivní virové replikace v případě řady virových infekcí, přičemž ale obvykle nebývají nijak výrazněji poškozována. Je to dáno tím, že tyto viry se preferenčně množí v Kupferových buňkách retikuloendoteliálního systému. Nicméně hlavním cílem původců virových hepatitid jsou přímo hepatocyty.

Hepatitis Viruses



Virus Family	Hepatitis A Picornavirus	Hepatitis E Calicivirus	Hepatitis B Hepadnavirus	Hepatitis C Flavivirus	Delta virus Satellite virus (only in combination with HBV)
Commonality	All generate conditions of illness in the liver				
Symptoms (acute)	All the same – malaise, dark urine, anorexia, nausea, vomiting, jaundice				
Transmission	Enteric (food and water)		Sex, blood and close contact		
Chronic condition	No	No	Yes	Yes	Yes
Virus genome	+ss RNA	+ss RNA	DNA with reverse transcriptase activity	+ss RNA	-ss RNA
Virus antigens	HA Ag	HEV ORF2 proteins	HBsAg HBcAg HBeAg	Many – core E1 E2 NS3	Delta antigen
Incubation	1 month (15 – 50 d)		4 months (45 – 160 d)	2 months (15 – 150 d)	1 – 2 months
Current therapeutics	No specific treatment	No specific treatment	Interferon alpha, Lamivudine, Adefovir, Etecavir	Interferon alpha + ribavirin, Pegylated Interferon	Follow HBV therapy
Vaccines available?	Yes Havrix (GSK) Vacta (Merck)	No	Yes Engerix-B (rHBsAg) GSK Recombivax B (Merck)	No	Can be prevented by vaccination against HBV

Virus hepatitidy A (HAV)

Virus hepatitidy A (dříve enterovirus 72) tvoří samostatný rod *Hepatovirus* čeledi *Picornaviridae*.

Viriony mají kubickou symetrii a jsou o velikosti asi 27 nm v průměru. Genom viru je tvořen jednořetězcovou RNA pozitivní polaritoy o velikosti asi 7,5 kb. Kóduje čtyři polypeptidy VP1, VP2, VP3 a VP4. Málo je známo o mechanismu průniku viru do hostitelské buňky, ani zda je při tom využíván nějaký specifický receptor. Replikace probíhá v cytoplasmě, kde virová RNA slouží přímo jako mRNA. Nejprve se tvoří rozsáhlý polyprotein, který je štěpen na jednotlivé proteiny. Mezi nimi se nachází virová RNA-dependentní RNA polymeráza, která má na starosti replikaci virového genomu. Sestavování pikornavirových částic je dvoustupňové, nejprve se tvoří neinfekční „proviriony“, u kterých musí být k maturačnímu kromku, tj. štěpení jednoho typu strukturních polypeptidů. Viriony jsou z buňky uvolňovány při lýzi buňky.

Klinické a patologické aspekty

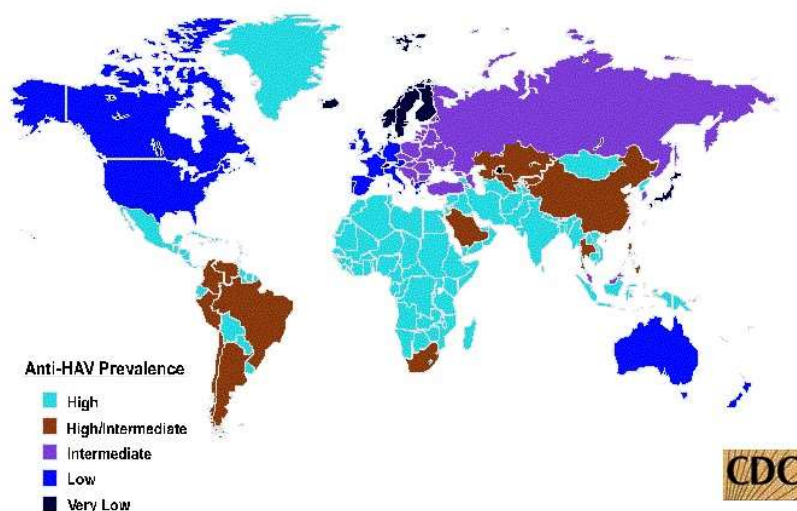
Inkubační doba je asi 2-6 týdnů. Mnohé infekce jsou ale bezpříznakové, zejména u malých dětí. Klinické onemocnění obvykle začíná několikadenním pocitem neklidu, ztrátou chuti k jídlu, nevýraznou nepohodou v dutině břišní a zvýšenou teplotou. Moč se posléze stává tmavou a výkaly světlé. Brzo poté se objeví klasické příznaky žloutenky, nejprve na bělmu očí, později na pokožce. U těžších případů může být žloutenka doprovázena svěděním. Zhruba za týden se začne pacient cítit lépe; žloutenka mizí asi za měsíc. Hepatitida A je skoro vždy mírná infekce, která sama odezní, ale někdy dochází k relapsům. Závažnost onemocnění je nižší u dětí než u dospělých. Komplikace, jako třeba v podobě fulminantní hepatitidy, jsou velmi vzácné; jsou pozorovány spíše u starých jedinců. Mortalita je asi 1/1000 případů.

Epidemiologie

Virus je přenášen fekálně-orální cestou. Je dlouhodobě stabilní ve vodě a ve vlhkém prostředí. Velké množství viru je vylučováno ve výkalech po několik dní před a po objevení se žloutenky, ale již asi za týden je jeho stolice neinfekční. Jinými možnými cestami přenosu jsou transfúze krve nebo krevních derivátů, které byly odebrány v době viremické fáze, sdílení jehel mezi drogově závislými, a sexuální kontakt, zejména mezi mužskými homosexuály.

Virus se vyskytuje zejména v oblastech, kde není dostatečný standard hygieny a kde splašky neprochází potřebným ošetřením. V těchto oblastech se ale většina obyvatel nakazí subklinickou infekcí již v raném dětství. V rozvinutých zemích se epidemie hepatitidy A objevují například v psychiatrických léčebnách a podobných zařízeních, kde nejsou jedinci nedodržují základní aspekty osobní hygieny. Nezanedbatelné je i množství případů, kdy se pacienti infikovali po konzumaci tepelně neupravených měkkýšů.

GEOGRAPHIC DISTRIBUTION OF HEPATITIS A VIRUS INFECTION



Patogeneze a patologie

Virus se množí primárně v hepatocytech, ze kterých se dostává spolu se žlučí do střev, odkud je ve velkých množstvích uvolňován spolu s výkaly do prostředí. Dochází k nekrotizaci hepatocytů, zejména v periportální oblasti. Kupfferovy buňky a endoteliální buňky následkem toho proliferují. Akutní poškození jaterní tkáně je indikováno zvýšením jaterních enzymů v séru. Na rozdíl od HBV a HCV, nemá infekce HAV sklon k chronickému průběhu, cirhóze nebo malignitě.

Během prodromální fáze se začínají objevovat v séru specifické IgM, které jsou pak přítomné ve vysokém titru během období vzniku žloutenky a přetrvávají po několik měsíců. IgG jsou detekovatelné po několik let po prodělané infekci a mají protektivní účinek před opětovnou infekcí. Cytotoxické T-buňky likvidují virem nakažené hepatocyty a spolu s IFN a dalšími cytokiny jsou zodpovědné za buněčnou imunitní odpověď, která, jak se zdá, sehrává klíčovou úlohu v patogenezi onemocnění.

Laboratorní diagnostika

Během akutní fáze infekce je jaterní dysfunkce indikována zvýšenou hladinou sérového bilirubinu a transamináz a sníženou hladinou protrombinu. Specifická diagnostika je prováděna metodou ELISA pro detekci specifických IgM. Během raných fází žloutenky může být virus detekován ve stolici pomocí imunoelektronové mikroskopie.

Imunizace

Pasivní ochrana

Cestující z mírných klimatických pásem do oblastí tropických mohou být injikováni krátce před odjezdem dávkou lidského normálního imunoglobulinu. Tato dávka obsahuje dostatek protilátek proti HAV, které ochrání před infekcí po následujících 3-6 měsících. Imunoglobulin může být užít i jako postexpoziční profylaxe.

Vakcína proti HAV

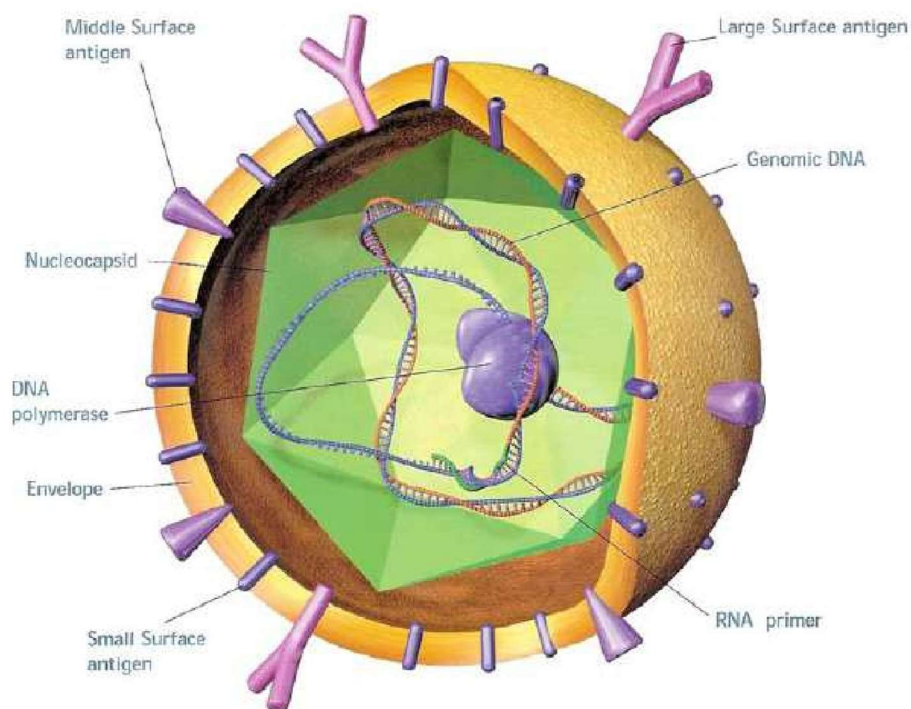
Na trhu se vyskytuje několik formalinem inaktivovaných vakcín odvozených z HAV pomnoženého v lidských diploidních buňkách.

Virus hepatitidy B (HBV)

V roce 1964 Baruch Samuel Blumberg při studiu onemocnění nesouvisejícího s hepatitidou náhodně narazil na skutečnost, že protilátky v séru lidí, kteří prodělali řadu transfúzí, precipitovaly s antigenem v krvi australského domorodce. Antigen byl tudíž zprvu pojmenován jako „australský antigen“ a až posléze se ukázalo, že je antigenem viru hepatitidy B. Původní Blumbergova domněnka byla, že daná charakteristická látka v krvi není jednoduchý bílkovinný antigen, nýbrž že jde o virus lidské leukémie. Nakonec se však ukázalo, že rozhodující úlohu hraje hepatitida a opakovaná transfúze. Pacienti trpící leukémií nebo hemofilií totiž absolvovali mnoho transfúzí a nezdědka přitom dostali infekční „sérovou“ žloutenku.

HBV je zástupcem čeledi *Hepadnaviridae*. Virové částice jsou velmi heterogenní. Jeden typ má asi 42 nm v průměru, jedná se v tomto případě o kompletní viriony, které jsou také někdy označovány jako Daneovy částice. Jiným typem jsou kuličky nebo trubičky o průměru 20-22 nm, které sestávají pouze z vnějšího povrchového proteinu. Jádro viru je ikozahedrální symetrie a obsahuje virovou DNA, DNA-dependentní DNA polymerázu, jadrový antigen (HBcAg, core antigen) a tzv. e antigen (HBeAg). Genom viru je vysoce kompaktní a je tvořen dvouřetězcovou DNA o velikosti 32 kpb. DNA kóduje čtyři překrývající se otevřené čtecí rámce. Zvláštností virové DNA je to, že je z většiny své délky dvouřetězcová, ale jedno vlákno (krátké) obsahuje mezeru asi o velikosti 700 nt. Delší vlákno obsahuje „nick“ v blízkosti 5' konce. Virus kóduje o 50% více proteinů než by se dalo z velikosti jeho genomu očekávat.

Virus se přichycuje k povrchu hepatocytů pomocí svého S proteinu a vstupuje do buňky procesem endocytózy. Nukleokapsid viru se přesune k jádru buňky, kde probíhá transkripce. DNA vlákno negativní polarity je transkribováno za vzniku mRNA a RNA o velikosti 3,4 kb zvané pregenom. Replikační strategie HBV je zcela unikátní. Virus využívá totiž RNA intermediát, který je následně pomocí enzymu reverzní transkriptáza přepsán na cDNA. Reverzní transkriptáza postrádá korekturní aktivitu, což předurčuje poměrně vysokou mutační frekvenci. K největším změnám dochází v těch oblastech genomu, které kódují proteiny (S) zodpovědné za interakci viru s receptorem a za průnik do hostitelské buňky. Nově vytvářená virová jádra se sestavují v cytoplasmě, kompletují s DNA a pučí přes endoplasmatické retikulum v oblastech, které obsahují S antigen. Nově vytvořené obalené viriony se dostávají z buňky ven při její lýze.



Serologické markery HBV

Hlavními antigeny HBV jsou HBsAg, HBcAg a HBeAg. S výjimkou HBcAg tyto antigeny a protilátky proti nim spolu s virovou DNA polymerázou mohou být detekovány v séru v různých časech po infekci a jsou označovány jako markery, neboť jejich přítomnost nebo absence indikuje stadium průběhu onemocnění a stupně infekivity daného pacienta. HBcAg je detekovatelný pouze v jádrech hepatocytů.

Marker	Popis	Fáze onem.
HBsAg	Povrchový antigen, pacient neinfekční	Akutní i chronická infekce
HBeAg	Antigen virového jádra Přítomnost v krvi indikuje infekčnost pacienta	Akutní i chronická infekce
Virová DNA pol.	Pacient infekční	Akutní i chronická infekce
Anti-HBs	Indikuje zotavení, chrání proti reinfekci Přítomnost indikuje zádnou nebo malou infektivitu	Rekonvalescence
Anti-Hbe		Rekonvalescence
Anti-HBc	V podobě IgM indikuje recentní infekci	První se vyskytující protilátky Persistuje v IgG podobě

Stupeň infekivity	Markery				
	Antigeny		Protilátky		
	HBsAg	HBeAg	Anti-HBs	Anti-Hbe	Anti-HBc
Vysoký	+	+	-	-	+
Střední	+	-	-	+	+
Nízký	+	-	+	+	+

HBV subtypy a genotypy

HBcAg, HBeAg a HBsAg determinují serologickou specifitu jednotlivých subtypů viru. Rozeznáváme skupinově specifický antigenní determinant *a* asociovaný s různými kombinacemi subtypově specifických determinant *d*, *y*, *w*, *r*. Tyto kombinace samy o sobě determinují šest (případně více) genotypů (A-F), jejichž geografická distribuce se liší. Genotypy B a C se vyskytují na Dálném východě, zatímco E v subsaharské Africe. Genetické analýzy odhalily sedm genotypů HBV vykazujících asi 8% divergenci v nukleotidové sekvenci. Zdá se, že klinický obraz, průběh a úspěšnost antivirové terapie může mít souvislost s genotypem viru.

Klinické a patologické aspekty

Průběh infekce je poměrně variabilní a je značně ovlivněn věkem pacienta, pohlavím a stavem imunity a genotypem viru.

Postnatální infekce

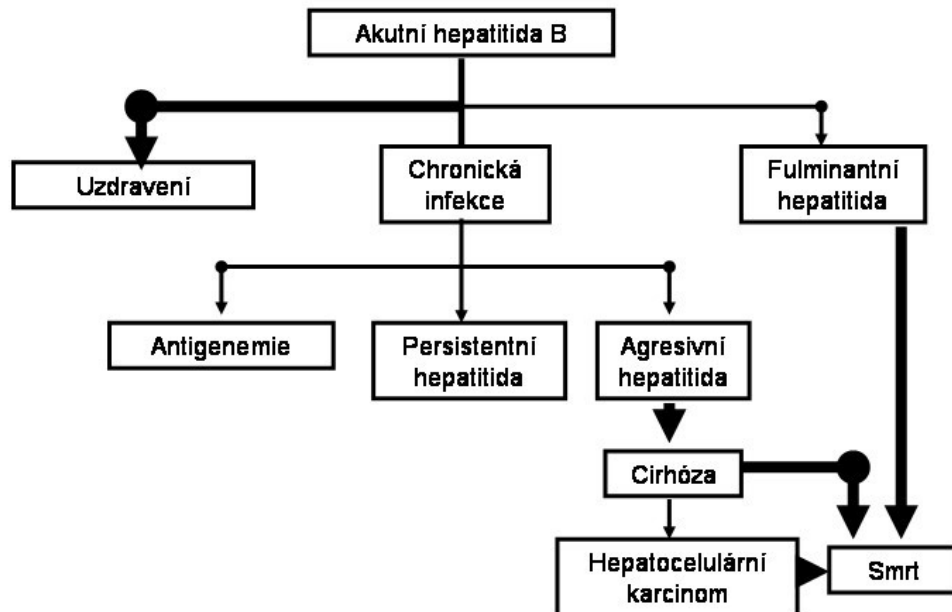
Inkubační doba je 60-80 dní. Akutní infekce může být subklinická, zejména u malých dětí nebo u těch, kteří mají oslabenou imunitu. Prodromální fáze je podobná hepatitidě A, ale někdy kombinovaná přechodnou vyrážkou a arthropatií, zřejmě následkem vzniku komplexů virus-protilátka. Následně se objevuje žloutenka, po které se ale 90% pacientů uzdraví asi během jednoho měsíce. U zbývajících 10% ale infekce může přejít do chronické fáze nebo může skončit smrtí pacienta.

Ještě před rozvinutím se žloutenky dochází k zvýšení sérových transamináz a začíná být detekovatelný HBsAg, brzy poté HBeAg a virová DNA polymeráza. Z protilátek se nejprve objevuje anti-HBc. Následně lze detekovat anti-HBe, které jsou obecně dobrým prognostickým znakem, neboť předznamenávají pokles HBeAg a tudíž infekivity. Ačkoliv prvním se v séru vyskytujícím antigenem je HBsAg, protilátky anti-HBs jsou posledními, které lze v séru detekovat. Jejich výskyt ale oznamuje brzké kompletní uzdravení a imunitu před reinfekcí. Ač anti-HBs indikují zlepšení stavu, k samotnému procesu uzdravení moc nepřispívají, to mají na starosti zejména cytotoxické T-lymfocyty. Ale podobně jako je tomu u řady jiných onemocnění, tyto buňky mají duální roli – jednak v odstraňování viru, ale mohou být zodpovědné i za imunopatologii. Právě imunopatologické poškození jaterního parenchymu je charakteristické pro HBV infekci.

U zhruba jednoho pacienta z tisíce, obvykle ženy, se však vyvine fulminantní hepatitida, která končí smrtí během 10 dní hepatického komatu. Smrt nastane výsledkem aktivní destrukce infikovaných hepatocytů cytotoxickými T-lymfocyty.

Asi z 10% pacientů se stanou chroničtí přenašeči HBV. Tato diagnóza je stanovena, pokud pacientův serologický profil se nenavrátní k normálnímu post-rekonvalescentnímu profilu během 6 měsíců. Rozlišujeme pak tři eventuality: (i) v případě chronické antigenémie pacient netvoří anti-HBs nebo tvorba anti-HBe je opožděna. Ačkoliv HBsAg persistuje v krvi po několik let, jaterní funkce jsou v normě. Pacient se cítí dobře a představuje jen malé nebo žádné riziko zdroje infekce pro ostatní. Tento klinický obraz je pozorován nejčastěji u osob s imunodefektem. (ii) v případě chronické agresivní (nebo aktivní) hepatitidy pacienti jednak netvoří anti-HBs nebo anti-HBe, následkem čehož stále obsahují infekční virus v krvi a jsou tedy infekční pro okolí, jednak dochází k značnému poškození jejich jaterní tkáně, což lze indikovat podle notně zvýšené hladiny sérových transamináz. Tito pacienti trpí opakovatelnými hepatickými epizodami a mají vysokou pravděpodobnost vzniku cirhózy či maligního nádoru

jater. (iii) hepatocelulární karcinom může vzniknout následkem integrace virového genomu do DNA hepatocytů, ale konkrétní patogenese není zcela objasněna. Hepatocelulární karcinom ale vzniká následkem chronické infekce s kontinuální produkcí virových částic, která trvá déle než dva roky.



Perinatální infekce

Děti narození matce, která prodělává akutní hepatitidu B, mohou být rovněž infikováni. Na druhou stranu, novorozenci narození matkám, které jsou pozitivní na HBeAg, bývají sice infikováni, ale ve většině případů neprodělají akutní onemocnění. Virus může infikovat plod během prvního trimestru těhotenství. Častěji ale dojde k infekci následkem kontaktu s krví a tělesnými tekutinami při porodu nebo během několika dalších měsíců díky udržování úzkého kontaktu s matkou. Mateřské anti-HBc přenesené přes placentu ovlivňují normální imunitní odezvu plodu na infekci v tom smyslu, že se děti častěji stanou HBeAg-pozitivními přenašeči a mnohé později umírají na cirhózu nebo karcinom jater. Prognóza je horší u chlapců než dívek (50% jedinců mužského pohlaví umírá na tyto komplikace v porovnání s 15% jedinců ženského pohlaví, které zřejmě mají lepší imunitní odezvu). Ženy jsou tím pádem častější chroničtí nosiči a mohou tak infekci předat do další generace.

Epidemiologie

HBV je přenášen výhradně krví nebo tělesnými tekutinami. Titr viru je vysoký v krvi a séru (až 10^6 - 10^8 /ml), střední v spermatu, poševní tekutině a slinách a nízký nebo nedetekovatelný v moči, stolici, potu, slzách a mléku. Vzhledem k vysokému titru viru v některých tělesných tekutinách stačí skutečně malé množství (třeba i jen 0,00001 ml) k přenosu infekce. Drobné oděrky jsou tedy častou bránou vstupu infekce. HBV je klasicky přenášen při sexuálním styku, zejména mezi mužskými homosexuály, a mezi uživateli nitrožilních drog. Další možností přenosu je vystříknutí malého množství kontaminované tekutiny do oka (např. u zdravotnických pracovníků). Bylo popsáno mnoho případů infikovaných zdravotníků od chronických nosičů a

naopak pacientů, kteří se infikovali od svého lékaře nebo dentisty, který byl rovněž nosičem, aniž by o tom věděl.

Prevalence HBV může být odhadována podle přítomnosti anti-HBs v séru v populaci. Mezi oblastí s vysokou prevalencí (10-20%) patří východní a jihovýchodní Asie, ostrovy v Pacifiku a tropická Afrika. Rusko, indický subkontinent a některé oblasti Afriky patří mezi oblasti se středně vysokou prevalencí (2-20%). Nízká prevalence (<1%) je v Evropě, Austrálii, Kanadě, USA a na Novém Zélandu.

Odhaduje se, že existuje asi 350 milionu chronických přenašečů HBV, z nich 75% bylo infikováno při porodu. Každoročně je jen v Evropě evidováno kolem 950 tis. nových případů, z nich 90 tis. se stane přenašeči, z nich 19 tis. zemře na cirhózu a 5 tis. na karcinom. Celosvětově umírá na HBV infekci 250 tis. pacientů ročně.

Laboratorní diagnostika

První z testů se provádí detekce HBsAg nejčastěji pomocí testu ELISA, ale pokud je nutno znát výsledek rychle, je možno provést jiné rychlé testy. Mezi ně patří tzv. reverzní pasivní hemaglutinace. V takovém případě jsou komerčně dostupné erytrocyty pokryty anti-HBs protilátkami a smíchány s testovaným sérem; pokud je HBsAg přítomen, přichytí se na něj protilátky zaglutinují krvinky. Na podobném principu existuje test latexové aglutinace, kdy jsou výsledky známy již za 5 min. Nález HBsAg ale neznamená automaticky, že daný jedinec je infekční pro jiné. Některé laboratoře též provádí testování přítomnosti virové DNA nebo virové DNA polymerázy. Dostatečnou informaci poskytne testování protilátek anti-HBs, antiHBe a anti-HBc. Elektronová mikroskopie může být použita k detekci HBsAg a infekčních Daneových částic, jichž je v séru mnoho.

Interpretace výsledků vyšetření na běžné markery HBV

HBsAg	IgM anti-HBc	celková anti-HBc	anti-HBs	Interpretace
+	-	-	-	Zcela čerstvá infekce před nástupem anti-HBc
+	+	+	-	Čerstvá infekce (v posledních 6ti měsících)
-	+	+	+/-	Nedávná aktivní infekce s uzdravením
+	-	+	-	Zřejmě chronická infekce
-	-	+	+	Stav po dříve prodělané infekci s uzdravením
-	-	-	+	Stav po očkování, bez známek infekce

Léčba

Akutní infekce obvykle nevyžaduje nutně léčbu antivirotiky; naopak léčba HBeAgpozitivních nosičů je vysoce žádoucí. K léčbě je možno užít buďto vysoké dávky IFN-alpha, ale spíše jsou dnes již k dispozici specifické inhibitory virové DNA polymerázy. Lamivudin a famcyklovir se s úspěchem používají například v případě transplantací jater, ale redukují virémii jenom dočasně pokud nejsou podány v kombinaci s interferonem. Nová éra v léčbě hepatitidy B byla zahájena v okamžiku, kdy nukleosidový analog lamivudin se ukázal být účinným proti reverzní transkriptáze retrovirů a posléze i vůči tomuto enzymu u HBV. Pomocí tohoto léku bylo možno snížit množství virové DNA o 3 až 4 řády. Nicméně po vysazení terapie se titry opět vrátily k

původnímu stavu. Dalším problémem bylo to, že se rychle objevovaly rezistentní kmeny viru. Adefovir (Hepsera) zabírá účinně proti HBV a pomáhá zejména pacientům, u kterých selhala terapie lamivudinem. Vedlejší účinky jsou minimální, ale může dojít k poškození ledvin. Po vysazení terapie se stav pacientů může opět zhoršit.

Imunizace

K dispozici je jednak HBV vakcína připravená z HBsAg, která je bezpečná a vysoce efektivní, a lidský imunoglobulin s vysokým titrem protilátek proti HBsAg (anti-HBs), který může být použit v kombinaci s vakcínou za účelem poskytnout okamžitou pasivní protekci. První generace vakcíny proti HBV byla připravována z krevní plasmy chronických nosičů infekce. Tato metoda byla zvolena z toho důvodu, že nebylo možno virus množit v dostatečných kvantech v laboratoři. Procedura přípravy zahrnovala složitou purifikaci a přísná bezpečnostní opatření, aby se do vakcíny nedostaly jiné viry. Později ale byla připravena vakcína s využitím metod genového inženýrství. Gen kódující HBsAg byl zaklonován do kvasinek, které mohou být kultivovány ve velkých objemech a produkovat tudíž velké množství antigenu. Nejčastěji se podává 20 µg HBsAg intramuskulárně ve třech základních dávkách (0, 1 a 6 měsíců) s přeočkováním v pětiletých intervalech. Někteří lidé, zejména starší jedinci, ale nejsou schopni vytvořit dostatečné množství protektivních protilátek.

Byly popsány také případy mutantních kmenů HBV, vůči kterým vakcína nechrání. V jednom z takových případů mutace postihla jedinou aminokyselinu v HBsAg.

Vakcinováni by měli být zejména osoby se zvláště vysokým rizikem infekce (zdravotníci, osoby sexuálně promiskuitní, osoby užívající intravenózní drogy) a dále děti narozené matkám, které jsou chronickými přenašečkami nebo které prodělaly akutní hepatitidu B během těhotenství.

Recommended dosages and schedules of hepatitis B vaccines					
Vaccine	Age group	Dose	Volume	# Doses	Schedule*
Engerix-B (Glaxo-SmithKline)	0–19 years	10µg	0.5 ml	3	Infants: birth, 1–4, 6–18 mos. of age Alternative for older children: 0, 1–2, 4 mos.
	20 years & older	20µg	1.0 ml	3	0, 1, 6 mos.
Recombivax HB (Merck & Co.)	0–19 years	5µg	0.5 ml	3	Infants: birth, 1–4, 6–18 mos. of age Alternative for older children: 0, 1–2, 4 mos.
	11 thru 15 yrs.	10µg	1.0 ml	2	0, 4–6 mos.
	20 years & older	10µg	1.0 ml	3	0, 1, 6 mos.

Virus hepatitidy C (HCV)

Virus hepatitidy C je celosvětově nejvýznamnější původce virové hepatitidy. Odhaduje se, že touto infekcí trpí přes 170 milionů pacientů. Chronická HCV infekce vede k fibróze, cirhóze a karcinomu jater.

HCV řadíme do čeledi *Flaviviridae*, rodu *Hepacivirus*. Viriony jsou kulovitého tvaru, obalené a o velikosti asi 50 nm v průměru. Genom je tvořen jednořetězcovou molekulou RNA pozitivní polaritity o velikosti asi 9,6 kb. Na obou koncích jsou nekódující sekvence a RNA postrádá poly(A) konec. Nekódující sekvence sehrávají významnou úlohu při replikaci a translaci RNA. Na 5' konci se nachází charakteristická sekundární struktura, která slouží jako IRES místo (internal ribosome entry site), které zprostředkovává virovou translaci na čepičce nezávislým

mechanismem. Genom kóduje polyprotein, který je štěpen buněčnými a virovými proteázami na čtyři strukturální a šest nestrukturálních proteinů: C, E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A a NS5B. Proteiny E1 a E2 jsou exponovány na povrchu virové částice a zodpovídají za interakci viru s receptorem hostitelské buňky a za fúzi virového obalu s membránou endosomu. C protein tvoří kapsidu virionu; NS5B je virová RNA-dependentní RNA polymeráza. NS3 je bifunkční proteáza/helikáza, NS4B a NS5A jsou součástí virového replikačního komplexu.

Receptorem na povrchu hostitelské buňky je molekula CD81 nebo LDLR molekula (lowdensity lipoprotein receptor). Virová replikace se odehrává v cytoplasmě. Genom viru slouží přímo jako mRNA.

Rozeznáváme šest hlavních genotypů HCV, s velkým množstvím subtypů. Hlavní genotypy mají souvislost s jednotlivými rizikovými skupinami a geografickou lokalizací. Infekce jedním genotypem nechrání jedince proti infekci genotypem jiným. Toto spolu s nemožností množit virus *in vitro* je hlavní komplikací vývoje spolehlivé vakcíny.

Klinické a patologické aspekty

Inkubační doba je asi 8 týdnů. Jenom u 10-20% infikovaných se infekce rozvine v symptomatické onemocnění. Mezi symptomy patří anorexie a nevolnost, ale žloutenka jako taková většinou nenastává. Proto označení nemoci jako akutní hepatitida C je trochu zavádějící. Pokud přece jen se žloutenka rozvine, symptomy a biochemické změny jsou shodně s ostatními typy hepatitidy.

Hepatitida C přechází do chronicity asi v 80% případů. Po uplynutí řady let, klidně i třeba až čtyř desetiletí, se u 10 až 20% pacientů objevuje cirhóza jater. 1-5% pacientů s chronickou hepatitidou onemocní hepatocelulárním karcinomem, pak je prognóza velmi špatná.

V malém množství případů je onemocnění jater komplikováno ještě glomerulonefritidou či různými formami vaskulitidy, z nichž alespoň některé mohou být usazováním imunitních komplexů.

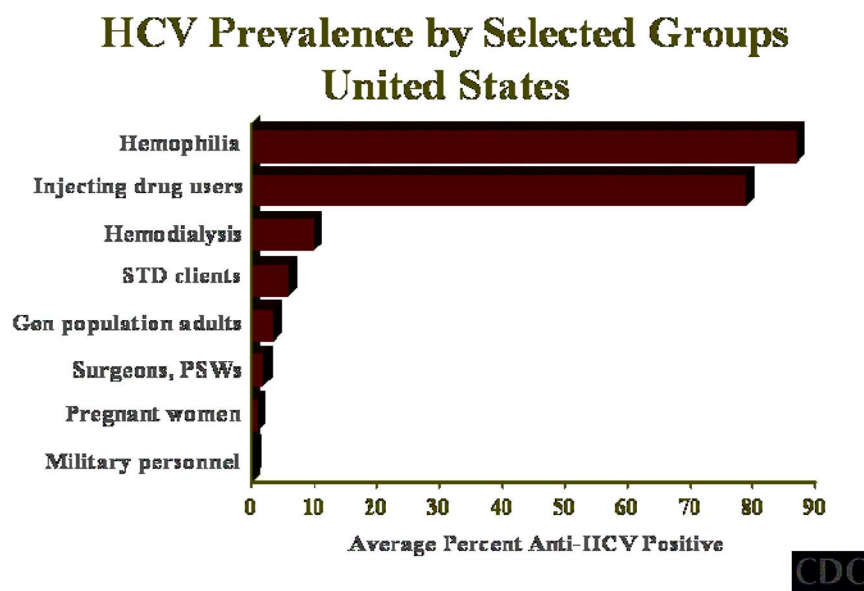
Ve většině případů onemocnění představuje pomalou progresivní hepatitidu s persistentní virémií. Periodická zhoršení lze odvodit podle zvýšení hodnot alanin aminotransferázy. Histologicky se hepatitida C neliší od ostatních typů hepatitidy, pouze s výjimkou přítomných lymfoidních folikulů uvnitř portálního systému. Dále lze pozorovat intenzivní periportální lymfocytární infiltraci a poškození vnitřní epitelové vrstvy žlučového.

HCV úspěšně mutuje *in vivo*, což napomáhá viru unikat působení imunitního systému. Imunitní odezva se tedy zdá být v případě HCV infekce nedostatečná a to napomáhá ustanovení dlouhodobé persistence. T buněčná odpověď je více výrazná než humorální, ale nedostatečná k odstranění infekce či pro prevenci reinfekce.

Epidemiologie

Podle odhadů WHO je asi 170 milionů obyvatel (3% populace) infikováno HCV. Rizikové skupiny tvoří intravenózní narkomani. Přenos infekce nedostatečně sterilizovanými jehlami při tetování, piercingu apod. není ojedinělý. Sexuální přenos a kongenitální infekce jsou méně významné. V současné době je krev pro transfúzi nebo pro přípravu krevních produktů vyšetřována na HCV, čímž se dramaticky snížilo riziko infekce touto cestou. Orgánové transplantáty mohou také být zdrojem infekce.

Výskyt infekce je nejnižší v severní a západní Evropě, USA a Austrálii, zatímco nejvyšší v Japonsku a na Středním východě. Virus se pravděpodobně začal šířit před 2000 lety. HCV genotyp I se vyskytuje především v Evropě a USA, genotypy II a III v USA a typ IV v severní a centrální Africe.



Laboratorní diagnostika

Protilátky proti různým virovým epitopům lze detekovat pomocí řady komerčních ELISA nebo imunoblot testů. Virovou RNA lze detekovat a kvantifikovat pomocí PCR metod s citlivostí minimálně 100 RNA kopií/ml plasmy.

Léčba

Interferon alpha v kombinaci s ribavirinem vykazuje mírnou účinnost u 30-50% pacientů s chronickou hepatitidou C, ale v řadě případů dochází k relapsům během léčby. Po ukončení terapie asi jen 15% lze prohlásit za trvale vyléčené. Lepších výsledků lze dosáhnout, užije-li se molekula interferonu konjugované s polyethylenglykolem. Vedlejší účinky jsou podobné jako v případě podání IFN samotného: diskomfort, teplota, únava a psychiatrické problémy. Transplantace jater zlepšuje krátkodobě stav pacientů s cirhózou, ale transplantát je pravidelně opětovně infikován.

Virus hepatitidy D – delta agens (HDV)

Tento zvláštní virus byl objeven roku 1977 u pacientů, u kterých došlo ke zhoršení chronické hepatitidy B. Virus má velikost asi 40 nm v průměru a obsahuje jednořetězcovou RNA o velikosti pouze 1,7 kb. To je obecně natolik málo, že virus není schopen sám kódovat všechny proteiny potřebné pro jeho vlastní replikaci. Delta agens je tedy nekompletní virus, závislý na pomocníku, který mu poskytne potřebné proteiny a kterým je HBV. Vnější část virové částice je tvořena HBsAg, specifické delta antigeny tvoří jádro virionu. Provizorně je delta agens taxonomicky řazeno do samostatného rodu *Deltavirus*.

Genom HDV je unikátní mezi živočišnými RNA viry tím, že je cirkulární, čímž se podobá spíše virům rostlin nebo viroidům. Po vstupu viru do buňky genom viru putuje do jádra, kde je transkribován do podoby celogenomové genomové mRNA pozitivní polarita a na kratší lineární transkript, který slouží jako templát pro delta antigen. Balení virového genomu, delta antigenu a HBsAg se odehrává v cytoplasmě.

Klinické a patologické aspekty

Delta agens je přenášeno společně s HBV a to buď současně (koinfekce) nebo následkem pozdější expozice (superinfekce). Delta agens může mít malý nebo žádný efekt na HBV, ale někdy způsobuje fulminantní hepatitidu a smrt. Inkubační doba je 3-7 týdnů, po jejímž uplynutí nastává období prodromálních příznaků (neklid, nevolnost, ztráta chuti k jídlu). Žloutenku doprovází biochemické známky jaterního poškození a v tomto okamžiku se může rozvinout zmíněná fulminantní hepatitida.

Epidemiologie

Infekce se vyskytuje zejména v Itálii, kde také byla prvně objevena, a dále na Středním východu, Asii, Rusku a jižní Americe. Rizikovou skupinu tvoří zejména intravenózní narkomani. Epidemie mezi touto skupinou obyvatel byly zaznamenána ve Skandinávii i jinde. Na základě sekvenčních odlišností byly definovány tři genotypy (1, 2 a 3), které se liší svou geografickou distribucí. Genotyp 1 se vyskytuje primárně v Evropě, USA, severní Americe a na Středním východu, zatímco typy 2 a 3 na Dalekém východě a v Jižní Americe.

Diagnostika je založena na detekci specifických IgM a IgG protilátek. Delta antigen i genomická RNA může být též detekována v krvi.

Imunizace proti HBV chrání rovněž před infekcí HDV.

Virus hepatitidy E (HEV)

Hepatitida E představuje pravděpodobně virovou zoonózu. Virus se nejspíše přirozeně vyskytuje u prasat. HEV je zástupcem čeledi *Caliciviridae* (rod Hepevirus) [pozor: podle aktuální taxonomická revize není rod hepevirus asignován]. Kaliciviry jsou detailněji popsány v kapitole o virových gastroenteritidách. Genom viru je tvořen jednořetězcovou RNA pozitivní polarita o velikosti 7,2 kb.

Klinické a patologické aspekty

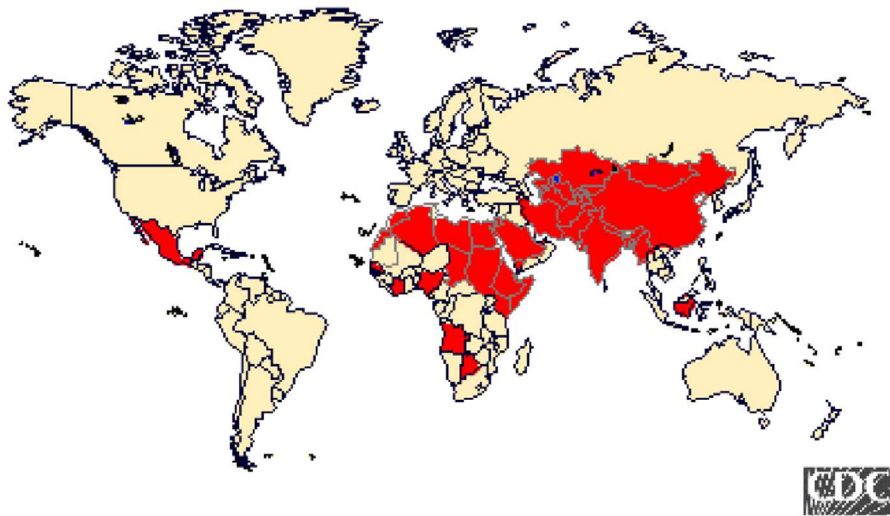
Průběh infekce je obecně podobný HAV jen s následujícími rozdíly: inkubační doba je o něco delší (6 týdnů), infikováni jsou spíše adolescenti nebo dospělí nežli malé děti, frekvence přenosu infekce z osoby na osobu je nízká. V prodromálním stadiu bývají výraznější příznaky gastrointestinální, chřipkové i kloubní. U žen, které se infikují během pozdních fází těhotenství, je mortalita asi 20%.

Fulminantní průběh nemoci je mnohem častější než v případě HAV a je přičítán generalizované autoimunitní reakci. U 30-50 % infikovaných probíhá infekce asymptomaticky, byly prokázány i asymptomaticky probíhající reinfekce. Patogeneze a patologie v zásadě odpovídá infekcím způsobeným HAV.

Epidemiologie

V roce 1955 došlo následkem povodní k rozsáhlému poškození vodovodního řádu a kanalizace ve městě Delphi k rozvoji epidemie vodou přenášené hepatitidy, která postihla více než 30.000 lidí, přičemž zejména těhotné ženy byly postiženy obzvláště závažně. HAV byl pokládán za původce této epidemie, ale pozdější retrospektivní serologické studie toto vyloučily. V roce 1989 byl identifikován nový virus označený jako HEV. Od té doby epidemie HEV byly zaznamenány primárně v rozvojových zemích. Všechny způsoby přenosu HEV nejsou zcela jasné, ale určitě zahrnují fekálně-orální přenos.

Geographic Distribution of Hepatitis E Outbreaks or Confirmed Infection in > 25% of Sporadic Non-ABC Hepatitis



Laboratorní diagnostika je založena na detekci specifických IgM v séru.

Proti HEV nebyla vyvinuta prozatím žádná očkovací látka. Prevence spočívá zejména v udržování čistých vodních zdrojů a rozvodů.

Virus hepatitidy G (HGV)

Bývá označován jako HGV nebo GBV-C (podle iniciál chirurga G.B., u něhož byl nalezen). Jedná se o virus příbuzný flavivirům, který si však označení „virus hepatitidy G“ zřejmě nezaslouží. HGV je lidský virus, který vyvolává perzistentní infekci s virémií. Častější je výskyt u narkomanů a osob infikovaných virem HBV, HCV a HIV. Přenos je možný transfúzí, transplantací a pohlavním stykem. Dosud se však s určitostí nedokázalo potvrdit, že vyvolává hepatitidu, je asi spíše pouze „nevinným divákem“.

Zjistilo se, že infekce HGV zlepšuje prognózu pacientů s AIDS.

Herpesviry

Obecná charakteristika

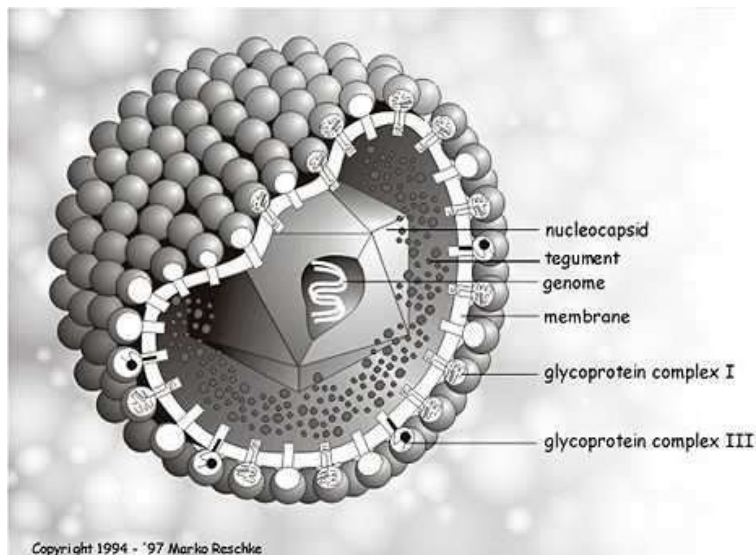
Herpesviry jsou významnou skupinou patogenních virů obratlovců včetně člověka. Název této čeledi pochází z řeckého slova *herpes*, což v překladu znamená „plazivý“ (viz věda herpetologie se zabývá studiem plazů). Již Hippokrates tímto výrazem označoval puchýřkovité léze u člověka.

V současné době je známo více než 80 druhů herpesvirů, jejichž hostiteli jsou teplokrevní i studenokrevní obratlovci. U člověka způsobují herpesviry širokou paletu onemocnění – od triviálních kožních nebo slizničních lézí po život ohrožující infekce, případně se mohou podílet na vzniku i určitých maligních nádorů. Důležitým společným znakem herpesvirů je jejich schopnost setrvávat v organismu v latentní podobě a v určitý okamžik být reaktivovány.

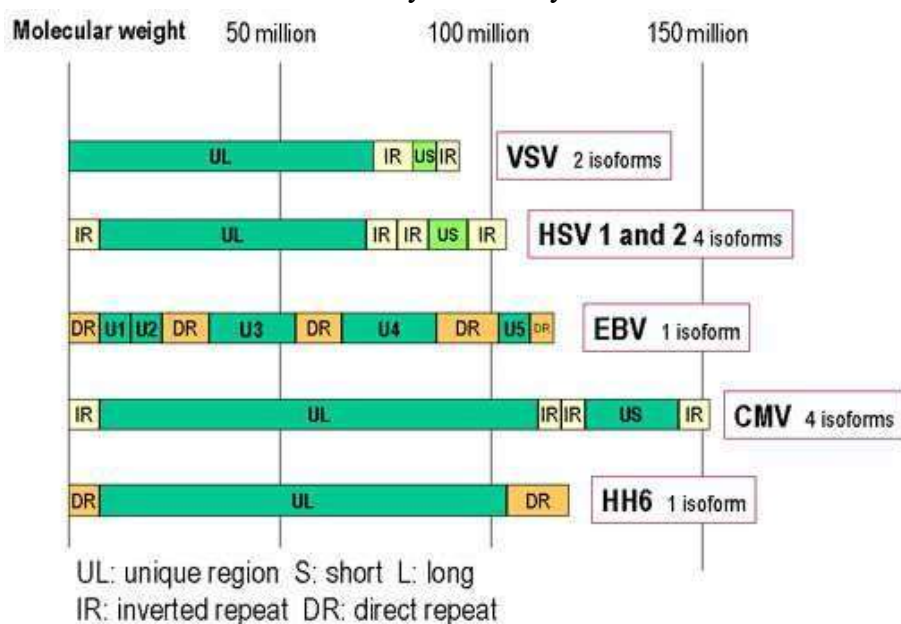
Přirozené infekce u člověka vyvolává podle aktuálního stavu poznatků 8 druhů herpetických virů, zařazených do tří podčeledí (α , β , γ). Herpesvirus B je jediným herpesvirem, který přirozeně infikuje jiné obratlovce, ale může být přenesen i na člověka. Jednotlivé druhy herpesvirů lze rozlišit na základě jejich genomické sekvence i serologické reaktivity.

<u>Podčeleď</u>	<u>Virus</u>	<u>Označení</u>
<i>Alphaherpesvirinae</i>	Herpes simplex typ 1	HHV-1
	Herpes simplex typ 2	HHV-2
	Varicella-zoster virus	VZV (HHV-3)
	Herpesvirus B	CMV
<i>Betaherpesvirinae</i>	Cytomegalovirus	(HHV-5)
	Lidský herpesvirus 6	HHV-6
	Lidský herpesvirus 7	HHV-7
<i>Gammapherpesvirinae</i>	Virus Epsteina a Barrové	EBV (HHV-4)
	Lidský herpesvirus 8 (virus spojený s Kaposiho sarkomem)	HHV-8

Viriony herpesvirů jsou ikozahedrální symetrie složené ze 162 tubulárních kapsomer a o velikosti 120-200 nm v průměru. Uvnitř virionu se nachází virové jádro obsahující genom tvořený dvouřetězcovou molekulou DNA. Kapsidu obklopuje amorfní vrstva proteinů, jež se nazývá tegument a celý virion uzavírá lipoproteinový obal s glykoproteinovými výběžky.



Virová DNA je lineární o velikosti 125-229 kb a je infekční i v purifikovaném stavu. Prototypovým zástupcem čeledi je virus herpes simplex. Má genom o velikosti 152 kbp kódující 80 genů. Každý gen je exprimován z vlastního promotoru. V genomu lze nalézt řadu vzájemně se překrývajících otevřených čtecích rámců. Genom viru HSV-1 sestává z dvou kovalentně spojených fragmentů pojmenovaných unikátní dlouhý U_L a unikátní krátký U_S segment. Segmenty se spojují díky invertovaným sekvencím na svých koncích, což umožňuje vznik čtyř izomerů genomu na základě orientace dlouhých a krátkých domén.



Většina virem kódovaných proteinů jsou proteiny nestrukturní včetně například virové DNA polymerázy. HSV-1, HSV-2 a VZV kódují fosforylační enzym thymidin-kináza (TK), který je využíván pro aktivaci některých antivirových látek. Strukturní virem kódované proteiny tvoří nukleokapsid, tegument a jsou integrovány do lipidické obálky.

Replikace HSV-1 začíná vazbou viru pomocí svého glykoproteinu C na buněčné proteoglykany. Další virové glykoproteiny (B, D a H) jsou zahrnuty do složitějšího fúzního procesu virové obálky s cytoplasmatickou membránou. Kapsid viru je posléze transportován k jadernému póru, kde je

uvolněna virová DNA, která vstupuje do jádra buňky, kde dojde k její transkripci, replikaci a kde se též kompletují nové virové částice. Virus potlačí či zablokuje syntézu hostitelských nukleových kyselin a proteinů. Nejprve jsou exprimovány virové rané geny, zatímco později, po iniciaci replikace virové DNA, jsou transkribovány střední a pozdní geny. Transkripce raných genů je stimulována proteiny tegumentu. Produkty raných genů (α proteiny) slouží také jako trans-aktivační regulační proteiny, které kontrolují expresi pozdějších β a γ genů. β proteiny jsou obecně enzymy typu thymidin-kinázy, helicázy nebo DNA polymerázy, které jsou nezbytné pro replikaci virové DNA. Exprese pozdních γ mRNA je spuštěna po replikaci virové DNA a ty kódují virové strukturální proteiny. Nové kopie virové DNA jsou syntetizovány mechanismem valivé kružnice a jednotlivé naštěpené fragmenty jsou zabalené do nukleokapsidů, migrují k jaderné membráně, asociují s proteiny tegumentu a obalovými proteiny. Pučení částic probíhá přes jadernou membránu a obalené částice se shromažďují v endoplasmatickém retikulu, dokud nejsou uvolněny exocytickou dráhou ven z buňky.

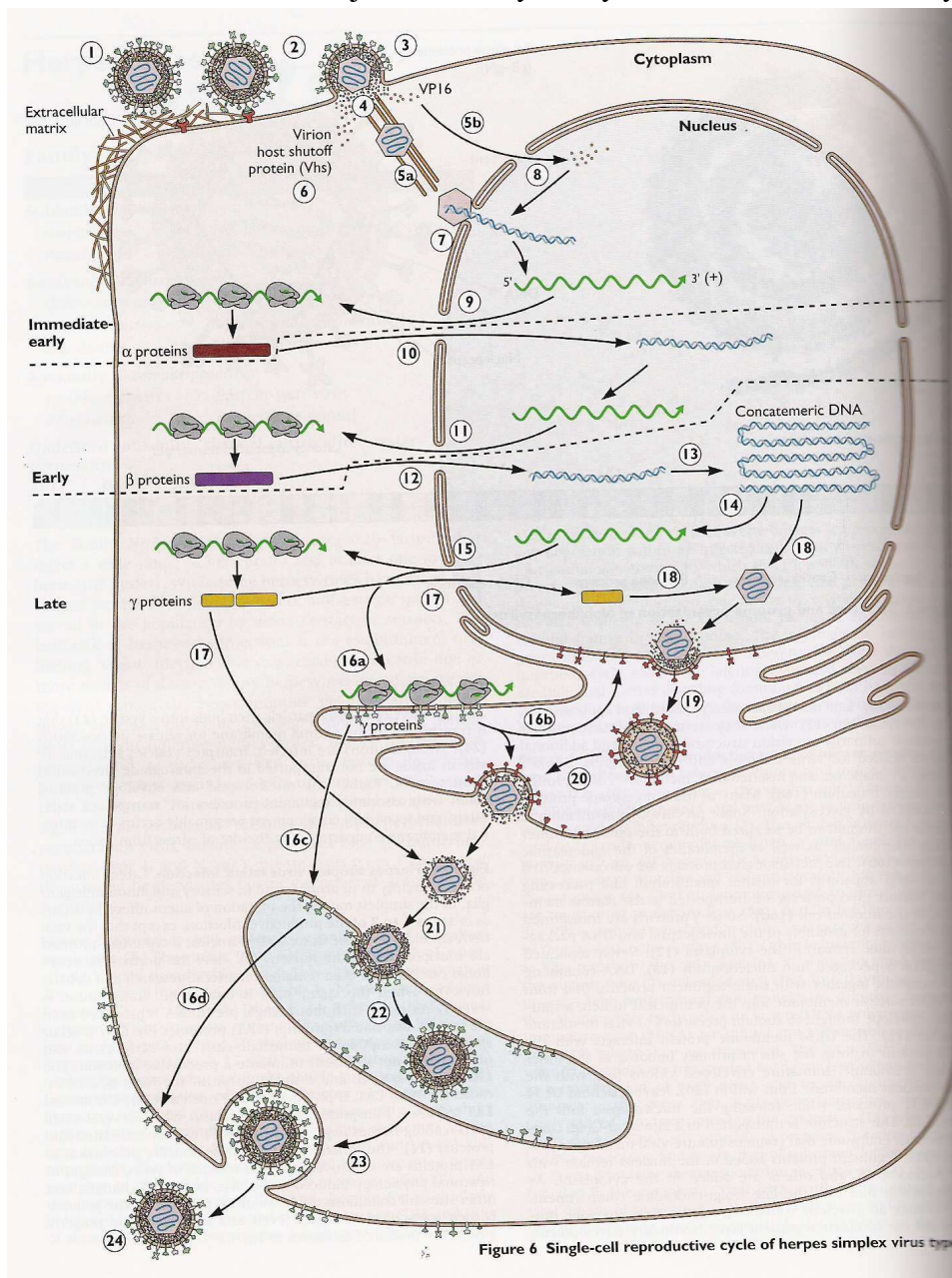
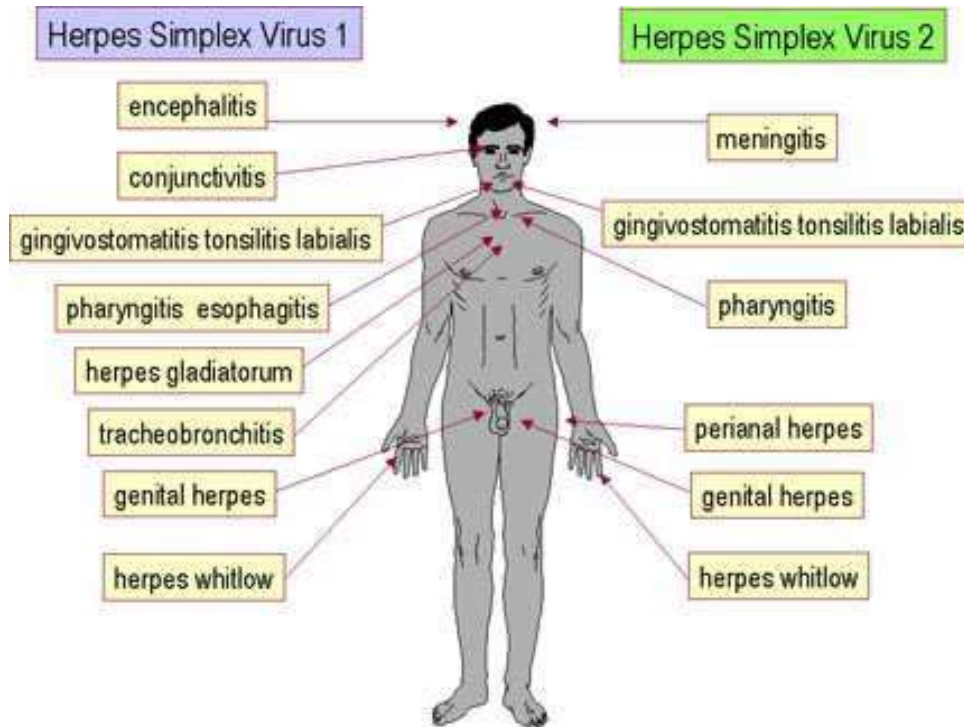


Figure 6 Single-cell reproductive cycle of herpes simplex virus type 1

Virus herpes simplex

Viry HSV-1 a HSV-2 mají řadu společných vlastností, ale mohou být odlišeny pomocí laboratorních testů. Mezi onemocněními způsobenými těmito dvěma viry není ostrá hranice, i když HSV-1 primárně postihuje horní část těla, zatímco HSV-2 je častěji spojený s genitálními infekcemi.



Orofaryngeální infekce

K primární infekci HSV většinou dochází v raném dětství následkem úzkého kontaktu s infikovanou starší osobou, zejména při pusinkování malých dětí. Ve většině případů je primární infekce asymptomatická, ale někdy může dojít k rozvoji gingivostomatitidy, kdy se tvoří v dutině ústní puchýřky a drobné bolestivé vřídky na sliznici a dásních. Děti mívají zvýšenou teplotu a mají potíže s příjmem potravy. Bývají současně zduřelé podčelistní uzliny. Zhruba do 10 dnů onemocnění ustupuje. Později se rekurentní infekce manifestuje v okolí úst, nejčastěji na okrajích rtů v podobě váčků, jejichž vznik je předcházen citlivostí nebo pobolíváním v daném místě. Léze se zahojí během několika dní. S postupem času se rekurentní léze objevují méně často či zaniknou úplně.



Kožní infekce

Primární kožní infekce nejsou zrovna vzácné u zdravotnických pracovníků, kteří přišli do kontaktu s orálními sekrety pacientů s ústní formou infekce. Mnozí pacienti vylučují HSV v respiratorních sekretech a v slinách, tudíž zejména zdravotní sestry starající se o pacienty s tracheostomií nebo zubní lékaři jsou vystaveni riziku vzniku tzv. herpesu prstů. V tomto případě se léze objevují na prstech, jsou velmi bolestivé, ale zahojí se samovolně. Je třeba zvládnout pokušení vesikuly vymáčknout nebo propíchnout, protože vnitřek neobsahuje hnis, ale nekrotický materiál a poškození měchýřku může pak situaci zhoršit. Sportovci se mohou nakazit HSV („herpes gladiatorum“) následkem kontaktu se svým soupeřem nebo z kontaminovaných žíněnek a dalšího sportovního náčiní. Pacienti s ekzémem jsou obzvláště náchylní ke kožním HSV infekcím, což může vést k vážnému či dokonce fatálnímu onemocnění známému jako „eczema herpeticum“.

Genitální infekce

Zatímco se většina lidí infikuje HSV-1 v raném dětství, k infekcím HSV-2 dochází v pozdějším věku pohlavní dospělosti. U mužů se primární infekce manifestuje jako skupina vesikulů na penisu, léze se mohou objevit i v močové trubici což způsobuje bolesti při močení. Herpetická proktitida (léze na sliznici konečníku) je někdy pozorována u mužských homosexuálů.

U žen se léze objevují na stydkých pyscích, vulvě a na perineu. Někdy nastává cervicitida s vesikulárními lézemi. Inguinální lymfadenopatie se objevuje u obou pohlaví kombinovaná s teplotou a pocitem nepohody.



V některých případech, zejména mezi mužskými homosexuály, nastává herpetická meningitida. Rekurentní infekce HSV-2 jsou více časté a závažnější než v případě HSV-1. U dětí vulvovaginitida může indikovat sexuální zneužívání, ale i jiné příčiny, jako autoinokulace viru z ústní dutiny, musí být pečlivě zváženy.

Spojitosť HSV infekcí s nádorem děložního čípku je dlouhodobě diskutována. Zdá se, že HSV není primární příčinou tohoto onemocnění, ačkoliv někteří autoři dokumentovali nález virové DNA v nádorových buňkách. Řada dalších faktorů, jako sexuální promiskuita, kouření, infekce dalšími mikroorganismy (zejména papilomaviry) nepochybně přispívá ke vzniku nádoru.

Infekce oka

Herpetická keratokonjunktivitida je poměrně častým onemocněním, téměř vždy způsobená HSV-1. Je povětšinou charakteristická vznikem dendritických vřídků. Iridocyklitida (zánět duhovky a řasnatého tělesa) představuje vážnou komplikaci. Rekurentní ataky keratitidy nebo keratokonjunktivitidy, nejsou-li léčeny, mohou způsobit vážné poškození oka, případně až ztrátu zraku.

Meningitida a encefalitida

Herpesvirová meningitida je benigní onemocnění, ale herpetická encefalitida představuje závažné, život ohrožující infekce s vysokou frekvencí neurologických a psychiatrických problémů po zotavení se z akutní infekce. Herpetická encefalitida může nastat v jakémkoliv věku a většinou je asociována s infekcí HSV-1. Klinicky se onemocnění zprvu projevuje nevýrazně několikadenní zvýšenou teplotou a pocitem nepohody, následně se objeví bolesti hlavy a změny chování. Ztráta vědomí s postupem do komatu je negativním prognostickým znakem. Mortalita neléčeného onemocnění dosahuje až 70%.

Novorozenecké infekce jsou obvykle vyvolány HSV-2. Plod se nakazí při porodu při kontaktu s infikovanými roditelky matky.

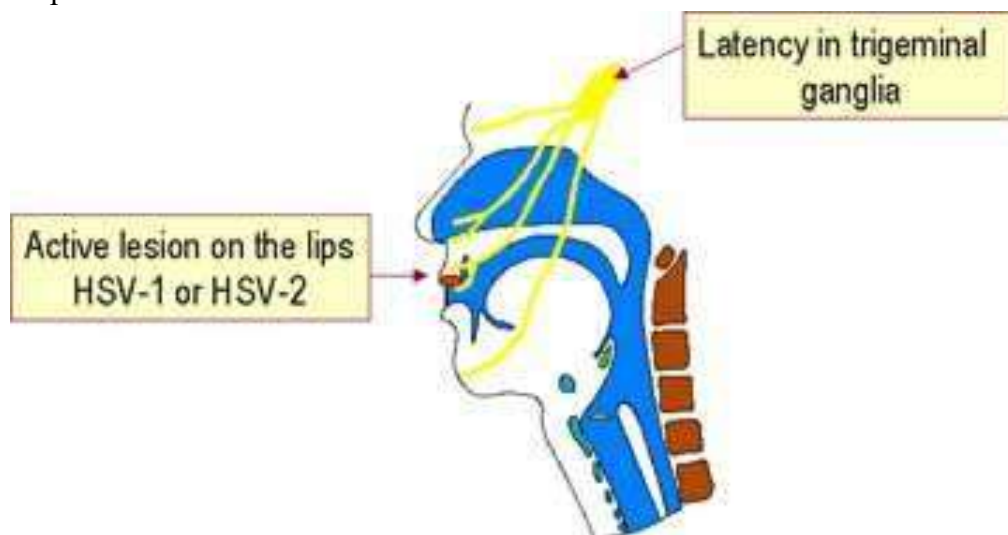
Infekce u imunodeficientních hostitelů

HSV infekce – někdy persistentní a závažné – se často objevují u osob, jejichž buněčná imunita je oslabena maligním onemocněním nebo cytotoxickou terapií. Kromě toho jsou časté u osob s AIDS, kde způsobují úporné a závažné perianální infekce.

Patogeneze

Pokožka a sliznice jsou bránami vstupu viru do organismu. Virus se v místě vstupu množí, způsobuje lýzi buněk a vznik vesikulů. Vesikuly na mukózní membráně rychle praskají za vzniku mělkých vřídků, ale na pokožce zůstávají intaktní po několik dní, pak jejich původně hladký povrch zrohovatí a vesikuly se začnou hojit. V seškrabech nebo v řezech měchýřků lze pozorovat eosinofilní intranukleární inkluzní tělíčka, charakteristicky obklopené jasným „haló“, jež představují místa virové replikace („virové továrny“).

Lokální množení je následováno přesunem viru do spádových lymfatických uzlin, přičemž se následně rozvíjí virémie. Virémie nemá v tomto případě výraznější význam, kromě výjimky, kdy dojde k hematogennímu průniku viru do centrální nervové soustavy a vzniku meningitidy nebo encefalitidy. Brzy po počátečním pomnožení viru v podkoží nebo submukóze virus postupuje do nervového ganglia přes senzorycké nervy inervující danou oblast. Primární infekce orofaciální oblasti je následována přesunem viru do trigeminálního (trojklaného) nebo lumbosakrálního ganglia. Virus v gangliu persistuje ve formě, která není plně objasněna. Je známo, že virová DNA (za normálního stavu lineární) se cirkularizuje a persistuje v neuronech v podobě cirkulárního episomu. K reaktivaci viru z latentního stadia pak dochází v horizontu několika týdnů nebo měsíců. Reaktivace může být vyvolána řadou stimulů, které zahrnují například zvýšenou teplotu při běžném nachlazení, UV záření, menstruaci, terapeutické ozařování apod.



Během a po primární infekci se tvoří protilátky ve třídách IgM, IgA a IgG. Protilátky IgG přetrvávají po několik let, ale nejsou schopny zabránit reaktivaci viru. Virus je zřejmě chráněn před zásahem imunitního systému tím, že se ukrývá zrovna v nervovém systému, který je imunologicky privilegovaný. Protilátková odpověď na reaktivaci může být různé intenzity, ale většinou je nedetekovatelná rutinními metodami a tudíž nemá žádnou diagnostickou váhu.

Epidemiologie

Většina lidí se setká s infekcí dříve než dosáhnou dospělosti. Nejčastěji dojde k infekci během raného dětství, ale poté existuje ještě jeden pík, především v určitých sociálních skupinách, v období adolescence při zahájení sexuální aktivity. Primární infekce po dosažení 30 let jsou vzácné. Jakmile se osoba jednou infikuje, nese si virus do konce života. K rekurentním projevům dochází asi u poloviny infikovaných. K vylučování viru v orálních a genitálních sekretech dochází jak u těch, kteří prodělali viditelnou infekci, tak i u zcela bezpříznakových pacientů.

Laboratorní diagnostika

Klinický projev kožních a slizničních lézí je většinou natolik charakteristický, že laboratorní diagnostika nebývá potřeba. Ta ale může být přínosná v případě genitálních a očních infekcí, pro rozlišení mezi generalizovanou HSV nebo VZV infekcí u imunokompromitovaného pacienta a u herpetické meningitidy/encefalitidy.

Serologické testy v tomto případě sehrávají podružnou roli. Pokud jsou použity, pak komplement-fixační test zůstává plně validní metodou v řadě laboratoří, i když někde je postupně nahrazován více citlivými metodami, např. metodou ELISA. Slabá zkřížená reaktivita s VZV je možným zdrojem chyby.

Metoda detekce viru nebo jeho DNA spíše než protilátek je metodou volby. Polymerázová řetězová reakce nachází své uplatnění především při detekci virové DNA v mozkomíšním moku tam, kde je podezření na herpesvirovou infekci centrální nervové soustavy.

Seškraby nebo stěry z aktivních lézí mohou být inokulovány za účelem izolace viru do citlivých buněčných kultur. Lidské diploidní linie jsou k infekci vysoce citlivé. Cytopatický efekt se objevuje za 72 hodin a zahrnuje ložiska zvětšených buněk, některé z nich jsou mnohojaderné. HSV-2 většinou způsobuje větší „nabobtnání“ buněk, nežli HSV-1. V případě pochybností lze provést další pasáž viru nebo imunofluorescenční detekci virových antigenů, případně virus detekovat pomocí elektronové mikroskopie. Je ale nutno mít na paměti, že samotná izolace viru z tělesných tekutin jako jsou sliny nebo genitální sekrety nemusí nutně znamenat, že HSV je původcem pacientových obtíží, neboť i jinak zdraví lidé virus čas od času tímto způsobem vylučují.

Barvené nátěry ze seškrabů z aktivních lézí často odhalí mnohojaderné buňky obsahující intranukleární inkluze. Ty jsou pozorovány na řezech biotického nebo nekrotického materiálu.

Pro vyšetření vesikulů naplněných čirou tekutinou je možno užít elektronovou mikroskopii. Vzorek by ale neměl být odebírán pokud je léze komplikovaná sekundární infekcí či pokud již byl zahájen proces rohovatění povrchu. Kapka tekutiny je odebrána po otevření vršku vesikulu pomocí jehly nebo skalpelu. Kapka se pak rozetře na běžném podložním sklíčku a nechá se zaschnout. V laboratoři je pak zaschlý materiál rekonstituován destilovanou vodou a přenesen na síťku, obarven pro negativní kontrast a pozorován v elektronovém mikroskopu. Tekutina obsahuje velké množství virových částic, které jsou snadno rozpoznatelné.

Imunizace

Proti HSV-1 a HSV-2 není dostupná žádná vakcína a lze jen těžko odhadovat, zda by byla vůbec účinná proti latentním rekurentním infekcím. Svůj význam by možná mělo očkování proti HSV-2 před dosažením pohlavní dospělosti, ale o takové vakcíně se neuvažuje, zejména v souvislosti se současnou dostupností efektivní terapie.

Léčba

Lékem volby pro léčbu a někdy pro prevenci HSV infekcí je acyklovir (ACV). Jsou dostupné preparáty pro intravenózní, orální a místní podání. Mechanismus účinku je detailněji popsán v kapitole o chemoterapii virových infekcí. Jak je tomu prakticky ve všech případech léčby virových infekcí, ACV musí být podán včas, aby mohl být efektivní. Neměl by být použit bez uvážení na triviální infekce. ACV-rezistentní kmeny jsou vzácné a jsou povětšinou izolovány jen u pacientů s imunodefektem. ACV je vylučován močí, jeho dávkování tedy musí být upraveno u pacientů s renální nedostatečností.

S výjimkou vážných genitálních lézí nevyžadují primární i rekurentní kožní a slizniční léze specifickou terapii. Léze v obličejí by měly být udržovány suché například pomocí kyseliny borité. Dlouhodobé podávání ACV per os je účinné v prevenci rekurentního genitálního herpesu, je ale poměrně drahé.

Oční infekce jsou léčeny topikálním podáním ACV. Steroidy jsou v tomto případě přísně kontraindikovány.

Léčba herpesvirové encefalitidy je poměrně úspěšná pomocí ACV.

Infekce v pokročilých fázích těhotenství by měly být léčeny za účelem ochránit novorozence před nákazou. Sice tento postup nepatří mezi oficiálně doporučené, prozatímní data jsou veskrze pozitivní.

Virus varicella-zoster

Virus varicella-zoster je pojmenován po dvou odlišných onemocněních, které způsobuje: varicella (plané neštovice) a herpes zoster (pásový opar).

Varicella

Plané neštovice jsou běžnou dětskou infekcí. Inkubační doba je variabilní, ale asi 2 týdny v průměru. Prvním klinickým znakem onemocnění bývá vyrážka spolu s mírně zvýšenou teplotou. U dospělých infekce probíhá závažněji než u dětí. Vyrážka je typicky centripetální, tzn. více rozvinutá na trupu nežli na končetinách. Nejprve má charakter skvrnek, které se rychle mění v papuly, později puchýřky, které rohovatí a sloupávají se z kůže. Jednotlivé formy vyrážky lze nalézt na pacientovi současně.

Mezi možné komplikace řadíme sekundární bakteriální infekci puchýřků. U pacientů s trombocytopenií mohou být pustuly krvácivé a může rovněž docházet ke krvácení z tělesných otvorů. Někdy může nastat postinfekční encefalitida, zejména u imunokompromitovaných pacientů. Varicellová pneumonitida a generalizovaná varicella jsou vážnými komplikacemi, opět především u imunokompromitovaných. Zejména děti s leukémií mají vysoké riziko rozvoje pneumonitidy, která je v tomto případě často fatální. Označení „generalizovaná varicella“ je v podstatě tautologní- týká se postižení vnitřních orgánů, kloubů a centrální nervové soustavy.



Herpes zoster

Termín „zoster“ je odvozen od řeckého výrazu pro pás či opasek a vztahuje se k charakteristickému tvaru lézí způsobených tímto virem. Rozvoj léze často předchází únava a bolest v dané oblasti těla. Za další dny se objeví typické herpetické puchýře, které v ideálním případě rohovatí a zahojí se tradičním způsobem.



Častou komplikací především u starších pacientů je tzv. postherpetická bolest. Ta může přetrvávat měsíc, ale i několik let. Pokud je palčivá, může výrazně ovlivnit kvalitu života pacienta.

Ophthalmický zoster představuje potenciálně vážnou komplikaci. Jak superficiální, tak vnitřní části oka mohou být postiženy.

Generalizovaný zoster je podobný generalizované varicelle. Encefalitida je poměrně vzácná.

Patogeneze

Pacient se nakazí VZV respirační cestou. Vzhledem k tomu, že pro VZV neexistuje vhodný experimentální zvířecí model, víme o patogenезi VZV infekcí jen velmi málo. Rozšíření viru krevním oběhem je následováno rozvinutím se vyrážky, nejprve makulózní, později papulární a finálně se tvoří puchýřky podobné jako v případě HSV a obsahující velké množství virových

částic. Léze postupně rohovatí a v podobě strupů se asi za 10 dnů od začátku vyrážky sloupávají z povrchu pokožky. Strupy jsou již neinfekční.

U některých pacientů přetrvává VZV latentně v dorsálních gangliích nervových kořenů. VZV může napadnout jakékoliv senzorycké nervy, nejčastěji inervující oblasti trigeminální, cervikální, lumbosakrální a thorakální.

VZV může být reaktivován. Reaktivace viru se projeví výsevem pásového oparu. Primární infekce se tedy manifestuje jako plané neštovice, kdežto pásový opar představuje reaktivaci viru z latentního stadia. Je téměř pravidlem, že za život dochází pouze k jedné takové epizodě. K výsevu pásového oparu dochází především u starších jedinců, jejichž imunita slábne, a u osob imunokompromitovaných.

Co se imunitní odezvy na VZV infekci týče, IgM se objevují během prvního týdne klinických příznaků planých neštovic a přetrvávají asi po 3 měsíce. IgG je detekovatelné po několik let. Vznik pásového oparu je doprovázen znovutvořením IgM.

Epidemiologie

V mírných klimatických pásmech jsou plané neštovice nemocí malých dětí. Vzhledem k tomu, že herpes zoster představuje reaktivaci viru z latentního stadia, nelze se touto formou nemoci nakazit od jiného pacienta. Ale pacient s pásovým oparem může nakazit jinou osobu planými neštovicemi.

Laboratorní diagnostika

Varicella i herpes zoster jsou klinicky jasně rozpoznatelné, proto laboratorní diagnostika nebývá obvykle vyžadována. Laboratorní diagnostika spočívá zejména v serologických testech. Přímý průkaz viru jeho izolací v buněčné kultuře je dlouhodobá záležitost, neboť k rozvoji cytopatického efektu dochází až za 3 týdny po inokulaci.

Aktivní imunizace

Živá atenuovaná vakcína je dostupná pro prevenci VZV infekcí. U nás je očkování dobrovolné. Primární imunizace je prováděna jednou dávkou ve věku od 12 měsíců do 12 let. V posledních letech některé státy přijaly rozhodnutí očkovat i malé děti dvěma dávkami v intervalu 1-3 měsíců, neboť jedna vakcinační dávka 20-30% očkovaných dětí nestačí. Dospělým a dětem starším 12 let se zpravidla doporučují 2 dávky podávané ve 4 až 8týdenním intervalu. I když tato vakcína není primárně určena pro imunokompromitované pacienty, v některých zemích je možno vakcinovat i děti s leukémií.

Rozporné názory na účelnost očkování jsou důvodem, proč zatím není ve světě běžné. Smysl by patrně mělo buď celoplošné očkování dětí po prvním roce věku, nebo výběrové očkování dospělých, zejména mladších žen, u nichž nelze zjistit protilátky proti VZV.

Pasivní imunizace

Imunoglobulin připravený ze séra dárců krve s vysokou hladinou protilátek proti VZV pomáhá při prevenci úporných VZV infekcí u imunokompromitovaných pacientů. Tento preparát musí být podán co nejdříve po kontaktu pacienta s virem, nejpozději do čtvrtého dne. U již rozvinuté infekce nezabírá.

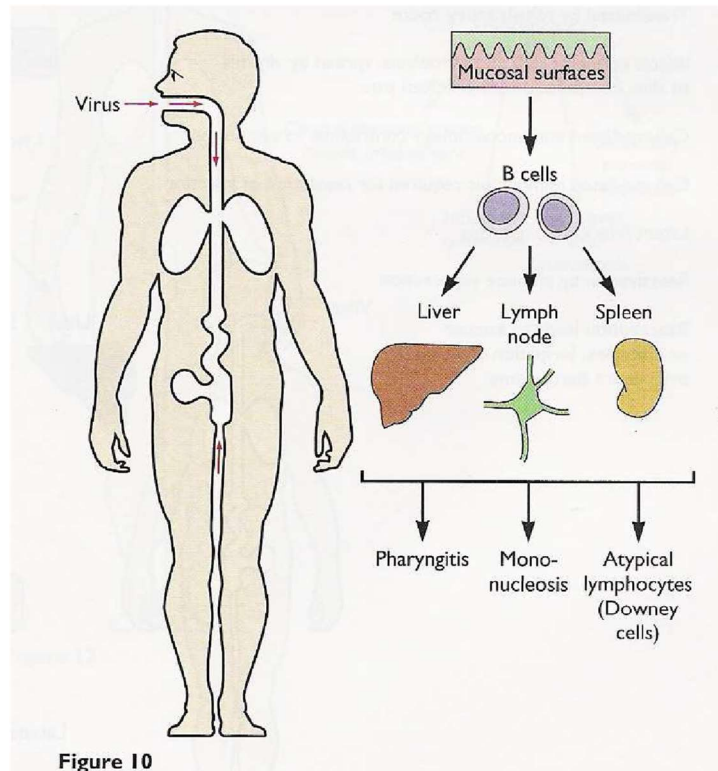
Léčba

Plané neštovice u imunokompetentních dětí nevyžadují léčbu antivirovými preparáty. U imunokompromitovaných pacientů je vždy riziko k rozvoji generalizované varicelly nebo varicellové pneumonie. V takovém případě je vhodné užít acykloviru pro prevenci rozvoje onemocnění i její léčbu. Acyklovir se užívá i v případě léčby těžkých forem pásového oparu. In vitro má acyklovir asi o 20% nižší účinnost vůči VZV v porovnání s HSV. Proto se podává jeho dvojnásobná dávka (intravenózně 10 mg/kg každých 8 hodin). Dva další preparáty s podobným mechanismem účinku (famcyklovir a valacyklovir) jsou dostupné.

Virus Epstein a Barrové (EBV)

V roce 1958 lékař Dennis Burkitt popsal nádorové onemocnění afrických dětí, které se vyskytuje v místech vysoké prevalence malárie. Domníval se, že infekční agens coby původce tohoto onemocnění je pravděpodobně přenášen komáry, což bylo později vyvráceno. O šest let později Epstein se svými kolegy izoloval nový herpesvirus z kultury nádorových buněk. Později se ukázalo, že tento nový virus má souvislost nejen s tzv. Burkittovým lymfomem v rovníkové Africe, ale také nasofaryngeálním karcinomem v jihovýchodní Asii a infekční mononukleózou. Kromě toho EBV způsobuje B-buněčné lymfomy u imunodeficientních pacientů.

Rozeznáváme dva typy EBV označované písmeny A a B (případně číslicemi 1 a 2), které se navzájem liší svými biologickými vlastnostmi. Celosvětově je A více rozšířen, typ B má vyšší prevalenci v rovníkové Africe a u imunokompromitovaných pacientů, včetně těch s AIDS. Oba typy se mohou vyskytovat současně u jednoho pacienta.



In vivo virus způsobuje lýzi hostitelských buněk, kterými jsou zejména buňky diferencujícího skvamózního epitelu. Jsou-li ale virové infekci vystaveny B-lymfocyty in vitro, dochází k

latentní infekci, při které se vytvoří cirkulární forma virového genomu. Tyto buňky jsou virem imortalizovány, tzn. mají schopnost neustálého množení. K témuž může dojít i in vivo.

Infekční mononukleóza

EBV pesistentně infikuje podstatnou část populace. Infekční virus se tvoří zejména ve farynxu, pravděpodobně i v lymfoidní tkáni, a je vylučován slinami. Infekční onemocnění je tedy infekcí z líbání a objevuje se nejčastěji mezi adolescenty nebo mladými dospělými. Inkubační doba je 4 týdny a více. U pacientů pozorujeme horečku, faryngitidu, zvětšené lymfatické uzliny (nejdříve na krku, později možno i na jiných místech). U většiny pacientů dojde k zvětšení sleziny a k narušení jaterních funkcí. Může se objevit i drobnoskvřinná vyrážka na trupu. Je-li pacientům podán ampicilin, rozvine se mnohem závažnější vyrážka díky tvorbě protilátek proti tomuto antibiotiku transformovanými B-lymfocyty.

Komplikace nejsou časté. Zahrnují syndrom Guillan-Barré nebo jiné příznaky postižení centrální nervové soustavy. Vzácně dojde k ruptuře sleziny. Pacienti se většinou uzdraví během 3 týdnů, ale rekonvalescence může být poměrně dlouhá.

V rozvojových společnostech dochází k infekci EBV v raném dětství, kdy virus nezpůsobuje klinicky manifestní onemocnění. Primoinfekce vede ke vzniku celoživotní imunity. Infekční mononukleóza je tedy onemocněním typickým spíše pro rozvinuté oblasti světa, kde je dobrá úroveň hygienických podmínek a kde dochází k primoinfekci až v pozdějším věku (maximum incidence mezi 16-18 rokem).

Diagnostika v rutinní laboratoři je založena na změně krevního obrazu (zvýšené leukocyty $20 \times 10^9/\text{dm}^3$, 50% jsou lymfocyty, z nich 20% atypických s objemnou cytoplasmou a nepravidelným jádrem) a na serologických testech. B-lymfocyty transformované EBV tvoří např. protilátky, které aglutinují ovčí nebo koňské krvinky a jsou základem pro tzv. Paul-Brunnelův test. Ten se provádí tím způsobem, že se patientské sérum nechá adsorbovat na buňky morčecích ledvin za účelem odstranění nerelevantních heterofilních protilátek a poté se smísí s erytrocyty. V případě pozitivního výsledku je možné provést konfirmaci s býčími krvinkami, kdy pak k aglutinaci nedochází. Řada laboratoří přistoupila k testu skličkové aglutinace (monospot), který je založen na témže principu, ale jednodušší, co se provedení týče.

Paul-Brunnelův test dává falešně negativní výsledky u malých dětí; v takovém případě se provádí detekce specifických protilátek.

Burkittův lymfom

Tento typ vysoce maligního nádoru se vyskytuje především u afrických dětí žijících v oblastech endemického výskytu malárie. Incidence je nejvyšší u dětí 6-7 let starých. Dalším ohniskem onemocnění je Papua Nová Guinea a sporadické případy se mohou objevovat i jinde. Jedná se nejčastěji o nádor čelisti, méně často orbitu nebo jiných částí. Neléčené onemocnění je prakticky ve všech případech smrtelné. Nicméně cyklofosfamidy představují úspěšné terapeutikum, které, je-li léčba zahájena včas, může vést k uzdravení. V nádorových buňkách lze najít epizomální cirkularizovaný genom EBV. Toto platí pro případy z Afriky a Papui Nové Guiney, ale nikoliv pro sporadické případy z jiných koutů světa. Infekce

Plasmodium falciparum je považována za významný kofaktor vzniku nádoru. Burkittovým lymfomem mohou onemocnět také pacienti v počátečních stadiích AIDS.



Nasofaryngeální karcinom

Lidé žijící nebo pocházející z oblastí jižní a jihovýchodní Číny představují rizikovou skupinu pro rozvoj nediferencované a invazivní formy nasofaryngeálního karcinomu, jenž se obvykle prezentuje zvětšenými cervikálními lymfatickými uzlinami, kam nádor metastazuje. V těchto endemických oblastech představuje tento typ nádoru nejčastější formu zhoubného onemocnění s incidencí až 0,1% populace. Nejčastěji postihuje věkovou skupinu mezi 20-50 lety, častěji muže než ženy. Na rozdíl od Burkittova lymfomu jsou v tomto případě postiženy především epiteliální buňky. Zdá se, že jedním z kofaktorů pro vznik tohoto onemocnění jsou určité HLA haplotypy, ale i stravovací návyky (např. nitrosaminy v slaných pokrmech). Tento typ nádorů je poměrně těžko léčitelný, chemoterapeuticky, radioterapeuticky i chirurgicky; prognóza nebývá dobrá.

Imunizace

Vakcína proti EBV chrání tak před vznikem Burkittova lymfomu či nasofaryngeálního karcinomu by byla velmi žádoucí. Byla vyvinuta kandidátní subjednotková vakcína tvořená virovým obalovým glykoproteinem. První experimenty na opicích dopadly slibně, ale k zahájení očkování lidí je ještě dlouhá cesta.

Antivirová terapie

EBV nekóduje thymidin kinázu, a ačkoliv podání vysokých dávek acykloviru má jistý omezený léčebný efekt u nádorů asociovaných s EBV, jedná se nejspíše pouze o placebo efekt.

Cytomegalovirus

Název tohoto viru (doslovně „velkobuněčný virus“) vychází z toho, že buňky jím infikované jsou výrazně zvětšené a obsahují velké intranukleární inkluze.

Klinický průběh CMV infekcí se liší s věkem pacienta. CMV je schopen průniku přes placentu a infikovat plod. CMV díky tomu souvisí s velkým množstvím neonatálních infekcí a úmrtí. Novorozenci se mohou infikovat z mateřského mléka, mateřské protilátky nemají zřejmě schopnost tomu zabránit. Takové infekce bývají většinou asymptomatické. Malé děti se infikují

většinou záhy poté, co vstoupí do kolektivu, např. v jesličkách nebo školkách. I u nich infekce mívá asymptomatický průběh.

Další vlna infekcí probíhá v období adolescence nebo rané dospělosti, kdy k přenosu infekce dochází při líbání a sexuálním styku. V tomto věku způsobuje CMV někdy onemocnění připomínající infekční mononukleózu. V takovém případě dochází k rozvoji febrilního onemocnění se splenomegalií, narušenou funkcí jater (někdy se žloutenkou). V krvi jsou přítomny abnormální lymfocyty. Faryngitida a lymfadenopatie, které jsou typické pro infekční mononukleózu, ale u CMV infekce chybí. Podobné onemocnění se někdy objeví po prodělané krevní transfúzi, riziko narůstá s objemem krve, případně po transplantaci orgánu. Po transplantaci může dojít také k reaktivaci viru vlivem imunoprese. Primární potransplantační infekce jsou vážné a mohou vyústit v glomerulonefritidu spojenou s odmítnutím transplantovaných ledvin nebo v CMV infekci plic (intersticiální pneumonitida s edémem a buněčným infiltrátem). Mortalita je asi 20% u transplantací kostní dřeně, ale 12% po transplantaci ledvin. Reinfekce je méně závažná než primární infekce a vede většinou maximálně k mírnému febrilnímu onemocnění. U imunokompromitovaných dospělých pacientů může vzácně dojít k CMV encefalitidě.

CMV nacházíme pravidelně třeba u promiskuitních homosexuálních mužů, proto byl zprvu mylně pokládán za původce AIDS.

Patogeneze

CMV se do těla dostává různými způsoby a jeho infekce přetrvává celoživotně. Mechanismus CMV latence zůstává neobjasněn. Může dojít buď k latentní infekci v pravém slova smyslu, kdy se virová DNA interaguje do genomu leukocytů, případně o chronickou infekci, kdy se kontinuálně produkují nové virové částice. U lidí chronicky infikovaných CMV ale bez klinických příznaků nalézáme CMV inkluze v buňkách ledvin a slinných žláz. Virus je kontinuálně vylučován v tělesných tekutinách včetně slin, moči, cervikálních sekretů, sperma a mateřského mléka. Krev při transfúzi je také častým zdrojem infekce. Reinfekce jiným kmenem CMV jsou možné. CMV infekce je obzvláště závažná u pacientů s AIDS.

Primární infekce, ale nikoliv reaktivaci, indukují tvorbu IgM, které mají díky tomu diagnostickou váhu. IgG protilátky jsou přítomny celoživotně.

Epidemiologie

Schopnost CMV chronicky persistovat v těle a být vylučován v tělesných tekutinách, aniž by pacient trpěl nějakými klinickými obtížemi, z tohoto viru činí úspěšného parazita. Riziko infekce vzrůstá s nízkou úrovní hygienických podmínek a těsným kontaktem s dalšími osobami. Obecně lze říci, že je lepší pokud se dotyčný nakazí CMV v raném věku, kdy se rozvine většinou pouze bezpříznaková infekce. K infekci v pozdějším věku dochází u jedinců žijících ve výborných hygienických podmínkách, což ovšem činí primoinfekci více závažnou. Toto platí především pro primoinfekce během těhotenství.

Laboratorní diagnostika

Nejčastěji se provádí serologické testování na přítomnost specifických IgM. IgG lze detekovat pomocí metody fixace komplementu, či ELISA, a využívá se například při vyšetřování krve pro krevní transfúzi, testování dárců orgánů apod.

Přímou detekci viru lze provést z moči, slin nebo z „buffy coat“ heparinizované krve (termínem „buffy coat“ se rozumí krevní složka připravená odstředěním jednotky plné krve, která obsahuje významný podíl leukocytů a trombocytů.). Virus je možno kultivovat pouze v kultuře lidských fibroblastů, kde se v případě pozitivního nálezu objevují ložiska zvětšených mnohjaderných buněk s charakteristickými jadernými inkluzemi. Tyto změny se ale objevují až asi za 4 týdny po inokulaci, nicméně infekce může být prokázána již za 24 hodin p.i. imunofluorescenčním značením pomocí monoklonálních protilátek.

V histologických řezech lze CMV infikované buňky identifikovat podle charakteristických inkluzí, které připomínají volské oko. Tyto buňky nalezneme mezi většinou epiteliálních nebo endoteliálních buněk vnitřních orgánů a v buňkách slinných žláz. Inkluze jsou více bazofilní v porovnání s jinými herpesviry.

Imunofluorescenční průkaz virového antigenu se provádí nejčastěji u bronchoalveolárních výplachů za účelem diagnózy cytomegalovirové pneumonitidy.

Virovou DNA je možno detekovat v krvi a jiných tělesných tekutinách např. metodou PCR.

Imunizace

Vakcína připravená z kmene Towne má protektivní účinek u jedinců přijímajících renální alografty, ale selhala u normálních žen.

Podání vysokých dávek anti-CMV imunoglobulinů chrání imunosuprimované jedince před cytomegalovirovou pneumonitidou.

Léčba

Vzhledem k tomu, že CMV nekóduje thymidin kinázu, acyklovir je vůči němu neaktivní. Gancyklovir, podobná látka acykloviru, je fosforylována jiným enzymem a díky tomu má vůči CMV jistý inhibiční efekt u imunokompromitovaných pacientů, včetně těch s AIDS. Tento preparát je ale poměrně toxický a jeho biodostupnost je slabá.

Lidský herpesvirus 6 (HHV-6)

HHV-6 byl poprvé izolován v roce 1986 z krevních lymfocytů šesti pacientů trpících akutní lymfocytární leukémií nebo lymfomem. Virus indukuje CPE s inkluzními tělísky v lidských B lymfocytech a je morfologicky podobný ostatním herpesvirům, ale liší se v adě biologických vlastností. HHV-6 byl dříve pokládán za původce AIDS, ale později se ukázalo, že způsobuje pouze febrilní onemocnění dětí označované jako exanthema subitum či roseola infantum (šestá dětská nemoc).

Asi u 30% pacientů se rozvíjí makulární nebo makulo-papulární vyrážka, zejména na hrudi. Cervikální lymfatické uzliny a někdy i slezina jsou zvětšeny. Pacienti se obvykle kompletně uzdraví. Léčba je pouze symptomatická.

U dospělých jedinců může HHV-6 vyvolat onemocnění podobné infekční mononukleóze. U imunokompromitovaných jedinců může infekce HHV-6 představovat vážnou komplikaci.

Populace je tímto virem silně promořená. Virus je vylučován v tělesných tekutinách, včetně krve. Prevalence protilátek je dvoufázová, většina dětí má mateřské protilátky anti-HHV-6 asi 6 měsíců po porodu. Poté seroprevalence narůstá následkem většinou skryté infekce.

Laboratorní diagnostika se provádí pouze u imunokompromitovaných pacientů. V takovém případě lze provést izolaci viru na buněčné kultuře, či detekci virového antigenu pomocí monoklonálních protilátek.

Lidský herpesvirus 7 (HHV-7)

Tento virus byl izolován z CD4⁺ T-lymfocytů zdravého jedince. Podobně jako HHV-6 je HHV-7 vysoce rozšířen v populaci a většina lidí má vůči němu protilátky. Infekce HHV-7 může vést k onemocnění připomínajícímu infekční mononukleózu. Některé případy exanthema subitum jsou asociovány s HHV-7.

Lidský herpesvirus 8 (virus spojený s Kaposiho sarkomem)

Kaposiho sarkom vychází z endoteliálních buněk a objevuje se na mnohočetných místech dermis. Indolentní forma nádoru se objevuje u starších mužů židovského nebo italského původu. Více agresivní forma nádoru je pozorována zejména v USA a Africe především u osob s AIDS. Léze se objevují na pokožce, v lymfatických uzlinách a v gastrointestinálním traktu. Diagnostika je založena na detekci virové DNA metodou PCR.

Herpesvirus B (herpesvirus simiae)

Herpesvirus B za běžných okolností infikuje jen makaky. U svých přirozených hostitelů je infekce nezatelná nebo se manifestuje vesikulárními lézemi v ústní dutině, případně na kůži. Lidé se nakazí, přijdou-li do kontaktu se slinami makaků, např. při pokousání. Pro lidi představuje herpesvirus B smrtelné nebezpečí. Dochází k rozvinutí těžké encefalomyelitidy, která je prakticky v 100% fatální.

Papovaviry

Ačkoliv papovaviry jsou již zrušenou čeledí a jsou rozděleny na čeledě Papillomaviridae a Polyomaviridae, budeme je probírat pohromadě, protože obě čeledi toho mají hodně společného.

Papovaviry jsou malé, neobalené, ikozahedrální viry, které obsahují cirkulární dvouřetězcovou DNA. Virové částice dosahují velikosti 45-55 nm. Papovaviry kódují jen šest nebo sedm genů. Společně s DNA jsou do kapsidy zabalovány i buněčné histony, zřejmě z toho důvodu, aby pomohly udržovat DNA ve vysoce kondenzovaném stavu.

TABLE 66-1 Properties of Papovaviruses

Characteristics	<i>Polyomavirus</i>	<i>Papillomavirus</i>
Virion		
Capsid symmetry	Cubic	Cubic
Presence of envelope	No	No
Diameter	45 nm	55 nm
Genome		
Type of nucleic acid	DNA	DNA
Structure	Circular, double-stranded	Circular, double-stranded
Size	3 X 10 ⁶ mol. wt.; 5 kbp	5 X 10 ⁶ mol. wt.; 8 kbp
Coding of information	On both strands	On one strand
Oncogenic potential		
Tumors in natural hosts	No	Yes
Result of natural infection	Inapparent	Benign wart
Persistence of infectious virus in tumors	No	Sometimes
Transform cells in vitro	Yes	Rarely
Individual members		
Infect humans	JC, BK viruses	Human papillomaviruses, >70 types
Important animal isolates	Polyoma virus (mouse), SV40 (monkey)	Bovine, rabbit papillomaviruses

Papovaviry obecně vykazují dva způsoby jejich interakce s hostitelskou buňkou. V permisivních buňkách dochází k účinné virové replikaci, která vede k uvolňování nových virionů z buňky a buněčné lýzi. Na druhou stranu, nepermisivní buňky představují prostředí, kde se virus není schopen množit, které však může být virem transformováno. I permisivní buňky mohou být za určitých okolností transformovány, ale v tomto případě je virová replikace nekompletní (například v případě, kdy buňku infikoval defektní virus).

V případě transformace buňky, tato přežívá, ale vykazuje pozměněný fenotyp a také neprodukuje žádné nové virové částice.

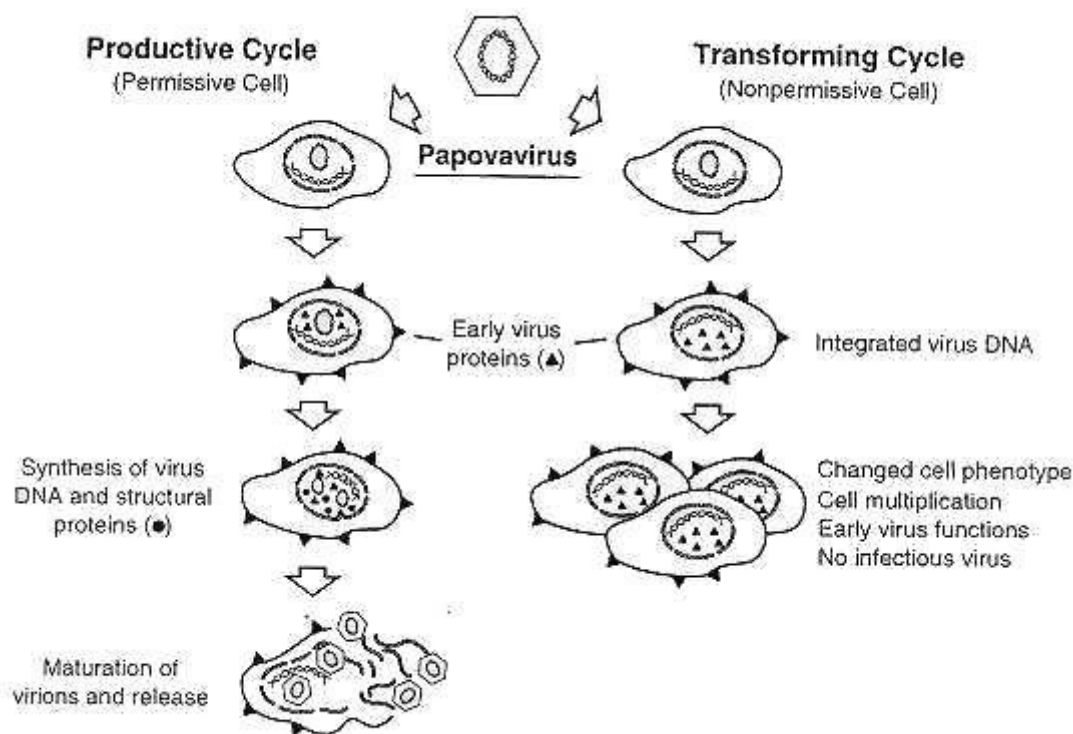


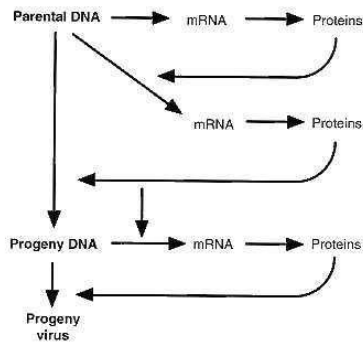
TABLE 66-2 Expression of Virus-Induced Events in SV40 Productive and Transforming Infections

Event	Cytolytic Cycle ^a	Transformed Cells ^a
Synthesis of viral early mRNA	+	+
Synthesis of viral tumor antigens (replication proteins)	+	+
Binding of cell regulatory proteins by viral tumor antigens	+	+
Stimulation of host cell DNA synthesis	+	+
Integration of viral DNA into cellular chromosome	0	+
Synthesis of viral DNA	+	0
Synthesis of viral late mRNA	+	0
Synthesis of viral capsid proteins	+	0
Formation of viral particles	+	0
Cell death	+	0

^a+, Present; 0, absent.

Polyomaviry

Polyomaviry jsou menší než papillomaviry, jejich částice jsou o velikosti zhruba 45 nm. Tyto viry způsobují perzistentní, inaparentní infekce u svých přirozených hostitelů. Zajímavá je jejich schopnost indukovat nádorové bujení, jsou-li injikovány do hlodavců. Opičí virus SV40 se stal modelovým virem pro výzkum viry indukovaného nádorového bujení. U lidí jsou nacházeny dva polyomaviry: BK a JC virus.



Zhruba polovina genů polyomavirů kóduje nestrukturní geny, které jsou exprimovány ještě dříve, než dojde k zahájení replikace DNA. Strukturní proteiny tvoří virové částice. Vzhledem k nutnosti maximální úspory genetického materiálu jsou některé geny kódovány v rámci vzájemně se překrývajících úseků DNA.

Polyomaviry se dobře množí v buněčných kulturách odvozených od svých přirozených hostitelů (tzn. např. opičí SV40 se množí v opičích buněčných liniích apod.). Ovšem ne všechny typy buněk jsou pro virus plně vnímavé.

Po vazbě virionu na buněčný receptor dojde k internalizaci virové částice a ta je transportována do jádra, kde dojde k jejímu rozrušení a uvolnění virové DNA. Během rané fáze lytického cyklu, virus navede buňku do S fáze, neboť potřebuje, aby v buňce byly přítomny enzymy důležité pro DNA metabolismus (thymidin kináza, DNA polymeráza). Virus využívá tyto hostitelské enzymy pro vlastní replikaci. Jeden z virových raných proteinů (tzv. velký T antigen) se váže na buněčné nádorové supresorové proteiny (p53 a Rb) a zabrání tak jejich regulování normálního buněčného cyklu. Replikace virové DNA probíhá obousměrně z jednoho počátku. Jakmile se začne DNA replikovat, spouští se syntéza pozdních (strukturních) proteinů (VP1, VP2 a VP3). Ty jsou transportovány do jádra, kde se začnou sestavovat nové virové částice. Ve finální fázi virového replikačního cyklu buňka lyzuje.

V případě infekce nepermissivní buňky také dochází k expresi raných virových proteinů, vazbě velkého T antigenu na tumor-supresorové proteiny a zahájení S fáze buněčného cyklu. Nedochozí však k replikaci virové DNA ani k tvorbě virových kapsid. Virová DNA se integruje na náhodné místo do chromozómu hostitelské buňky. Transformované buňky vykazují pozměněnou morfologii (jsou více zakulacené), zvýšenou růstovou aktivitu, menší závislost na sérových růstových faktorech, ztrátu kontaktní inhibice, zvýšený metabolismus, glykolýzu, syntézu nových antigenů na povrchu buňky aj.

Není známo, že by BK virus způsoboval nějaké klinicky manifestní onemocnění. JC virus způsobuje progresivní multifokální leukoencefalopatii, což je vzácné onemocnění objevující se u osob s defektem imunity. V tomto případě je přítomno velké množství virových částic v gliálních buňkách mozku. První známky infekce se projevují jako abnormality v mluvení, menálních funkcích a dochází ke zhoršení zraku. Během následujících šesti měsíců dochází k progresi onemocnění, které vede až ke komatu a smrti pacienta.

Oba lidské polyomaviry (BK a JC) jsou hojné v lidské populaci (je možné je prokázat serologicky; 70-80% dospělých lidí má vůči těmto virům protilátky); většina lidí je jimi

infikována během dětství. Během primární infekce nastane virémie, protože virus pak persistuje v ledvinách a může být reaktivován v případě imunoprese. Není známo, zda se virus také usadí v mozku při primoinfekci, či zda se tam dostává až v okamžiku snížené imunitní obrany. Onemocnění progresivní multifokální leukoencefalopatií se příležitostně objevuje u pacientů s AIDS. V mozku se objeví oligodendrocyty s jádry plnými virových částic a obří astrocyty s hyperchromatickými jádry (produktivní virová replikace v astrocytech neprobíhá). Vzhledem k tomu, že infekce způsobuje lýzi oligodendrocytů, dochází k demyelinizaci. U pokročilých případů mohou oligodendrocyty chybět vzhledem k buněčné nekróze.

K aktivaci BK viru dochází často po transplantaci ledvin a i u jiných imunoprimovaných pacientů. Virus je pak vylučován v moči. Jak BK, tak JC virus mohou být reaktivovány během těhotenství, zejména během třetího trimestru; ovšem nezdá se, že by tyto viry byly schopny prostoupit placentou a infikovat plod.

Virus SV40 bývá lokalizován v močových cestách svého přirozeného hostitele makaka. Řada šarží vakcíny proti dětské obrně, které byly produkovány na opičích buňkách, byla kontaminována virem SV40. U žádného vakcinovaného jedince však nebylo pozorováno, že by u něj virus SV40 způsobil nádorové bujení. Sice DNA SV40 byla detekována v některých mozkových nádorech, ale přímá souvislost mezi infekcí tímto virem a vznikem nádoru chybí. Experimentálně bylo možné pomocí SV40 indukovat nádory u řady nepřirozených hostitelů, jako křečků, myší, potkanů aj.).

Papillomaviry

Papillomaviry jsou o něco větší než polyomaviry a mají také více komplikovanou organizaci jejich genomu. Na rozdíl od polyomavirů jsou papillomaviry schopny indukovat nádorové bujení i u svých přirozených hostitelů. Papillomaviry byly nalezeny u nejrůznějších živočišných druhů (včetně lidí, králíků, krav, psů...). Jsou striktně hostitelsky specifické a není známo, že by byly schopny překračovat hostitelské bariéry. Je známa souvislost mezi papillomaviry a benigními papilomatózními lézemi na kůži a skvamózní sliznici.

Genom papillomavirů obsahuje nejméně šest otevřených čtecích rámců – dva jsou pozdní (kódují kapsidové proteiny) a ostatní jsou ranné (kódují proteiny nutné pro virovou replikaci, případně nádorovou transformaci buňky).

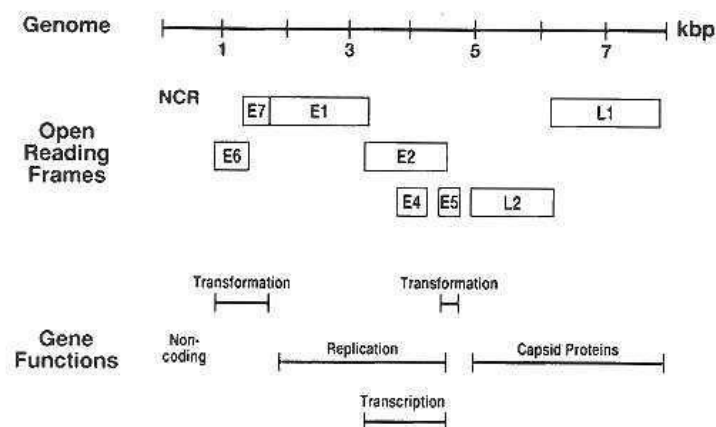
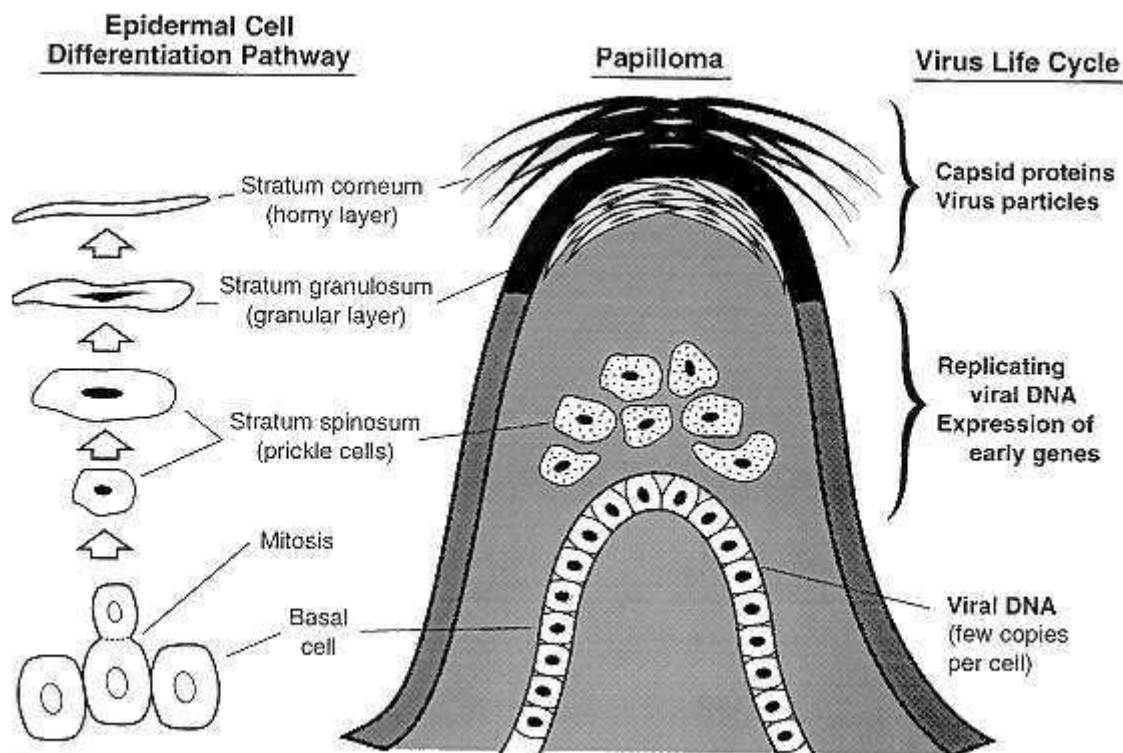


Schéma genomu lidského papillomaviru 16. E=early genes, L=late genes.

Papillomaviry není možné kultivovat in vitro, neboť není známa žádná buněčná linie, která by byla vůči nim permisivní. Dosud bylo identifikováno více jak 70 různých typů papillomavirů. Papillomaviry izolované z různých živočišných druhů jsou serologicky odlišné.

Papillomaviry vykazují vysoký tropismus k epiteliálním buňkám kůže a slizničním membránám. Replikace virů je striktně závislá na diferenciačním stupni dané buňky. Pokud dochází k replikaci, nové viriony mohou být detekovány jen v jádrech buněk horní vrstvy infikované epidermis. Virová DNA je uchovávána v bazálních buňkách v nízkém počtu kopií, kde je replikována synchronně s buněčným cyklem. Virová DNA syntéza probíhá zejména v stratum spinosum a stratum granulosum; exprese virových kapsidových proteinů je omezena na nejvyšší vrstvu finálně diferencovaných epidermálních buněk. Virové částice je možno detekovat například v běžných bradavicích, ovšem nebývají detekovatelné v lézích na larynxu, externích genitáliích a cervixu.



U benigních lézí zůstává virová DNA v podobě episómů, zatímco u maligních nádorů dochází k její integraci do hostitelského chromozomu.

Řada benigních papilomatózních lézí na pokožce a skvamózní sliznici je způsobena papillomaviry. Sem zahrnujeme běžné bradavice, genitální condylomata acuminata, cervikální ploché bradavice, papillomy v dutině ústní, juvenilní laryngeální papillomy, aj. Laryngeální papillomy jsou nebezpečné, protože se objevují u malých dětí a mohou vést k akutní respirační obstrukci a často se vracejí.

Infekce některými papillomaviry může být subklinická. Většina papillomaviry-způsobených lézí je benigní; nicméně některé anogenitální léze mohou pokročit až ke skvamózní buněčné karcinóze (např. rakovina děložního čípku).

Epidermodysplasia verruciformis je velmi vzácná autosomálně recesivně dědičná choroba, která je charakterizována nadměrnou citlivostí k různým papillomavirům (zejména HPV 5 a 8), které jindy mohou být neškodné. Nekontrolovatelné papillomavirové infekce vedou k objevení se obrovského množství různých bradavicoidních výrůstků, zejména na rukou a chodidlech. Léze se transformují v maligní kožní nádory většinou kolem 30 let věku. Byly popsány případy, kdy bylo nutno pacientovi odstranit chirurgicky 5,8 kg kožních nádorů (příběh muže „poločlověk-polostrom“).

Viry se do těla dostávají přes drobná kožní poranění a oděrky. Následně dochází k ztluštění epidermis s hyperplasií stratum spinosum a k hyperkeratóze. Ve stratum granulosum se často objevují basofilní intranukleární inkluzní tělíska. Bazální membrána zůstává nezměněna.

Některé papillomaviry jsou dávány do souvislosti s premaligními či maligními genitálními chorobami. Více jak 90% nádorů děložního čípku jsou pozitivní na DNA papillomavirů, ve zhruba polovině případů to je DNA HPV 16. Virová DNA byla také detekována v prekancerózních cervikálních intraepiteliálních neoplasiích, v nádorech na penisu a vulvě, ale i v nádorech larynxu, oropharynxu a jazyka. HPV 16 a 18 jsou pokládány za vysoce rizikové, typ 31 za středně rizikový a typy 6 a 11 jako málo rizikové.

TABLE 66-3 Association of Human Papillomavirus Types with Clinical Lesions

Predominant Type of Lesion	Human Papillomavirus Type	Clinical Lesion	Suspected Oncogenicity*
Cutaneous	1	Plantar warts	Benign
	5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19-25	Macular lesions in EV ^b	Some progress to carcinomas
	37	Keratoacanthoma	Benign
Mucocutaneous	2	Common warts	Benign
	3, 10	Flat warts, EV	Rare
	7	Hand warts in butchers	Benign
Mucosal	6, 11	Anogenital condylomas; laryngeal papillomas; dysplasias and intra-epithelial neoplasias	Low
	13, 32	Oral focal hyperplasia (Heck's disease)	Possible progression
	16, 18, 31, 33, 35, 39	Cervical intraepithelial neoplasia; Bowen's disease of vulva; laryngeal and esophageal carcinomas	High correlation with genital and oral cancers

*Based on presence of viral DNA in tumor tissue.

^bEV, Epidermodysplasia verruciformis.

Předpokládá se, že hostitel je po infekci určitým papillomavirem imunní vůči reinfekci. U plně imunokompetentních pacientů přibližně třetina bradavic mizí během dvou měsíců po jejich objevení se, dvě třetiny zmizí během roku, a případné přeživší by měly zmizet během pěti let. Některé bradavice však přezívají celoživotně.

K přenosu papillomavirů dochází těsným kontaktem s jinou infikovanou osobou, po autoinokulaci (coby následek škrabání bradavic) nebo nepřímým kontaktem (bradavice chodidel na plovárně). Papillomaviry jsou velmi odolné.

K léčbě bradavic se používají metody vypalování, chirurgické odstraňování postižené tkáně či kryoterapie (vypalování dusíkem).

Pro prevenci před rakovinou děložního čípku byly vyvinuty anti-papillomavirové vakcíny. V současnosti jsou u nás k dispozici 2 komerční vakcíny: čtyřvalentní (Silgard nebo také Gardasil) a bivalentní HPV vakcína (Cervarix).

Obě dostupné vakcíny jsou založeny na stejných či podobných vakcinačních antigenech, které vytváří L1 protein daného sérotypu viru. L1 protein je strukturním obalovým proteinem papillomavirů. Jeho označení L vyplývá z původu jeho vzniku, neboť se vytváří jako tzv. pozdní ("late") protein transkripce z late-RNA. Tento protein je sérotypově specifický, tj. odlišný pro jednotlivé typy HPV. Pro dobrý imunogenní účinek je naprosto klíčová správná konformace proteinu L1. Vytváří se proto v rekombinantní podobě v eukaryotickém systému, kde je schopen vytvářet viru podobné částice (virus like particles).

Očkování proti lidským papilomavirovým nákazám typu 16 a 18 je určeno ženám ve věku od 9 let (případně 10 let) let do 26 let (případně 25 let) pro prevenci premaligních cervikálních genitálních lézí a cervikálního karcinomu. Kromě toho pouze čtyřvalentní vakcína Silgard má rozšířenou indikaci ve stejné věkové skupině i pro prevenci premaligních vulvárních a vaginálních genitálních lézí způsobených lidskými papilomaviry typu 16 a 18 a navíc působí preventivně i vůči vzniku bradavicím zevního genitálu (condyloma accuminata) vyvolaných typy 6 a 11.

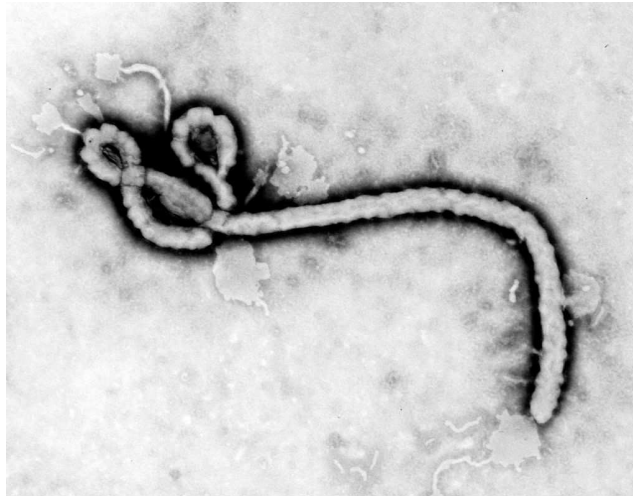
Vysoce nebezpečné exotické infekce: filoviry, arenaviry a hantaviry

Ačkoliv většina virů popsaných v této kapitole byla izolována během posledních třech desítek let, existují zřejmě na naší planetě již po tisíce let. Tyto viry jsou v tropických oblastech původci nebezpečných hemoragických horeček. Po celá tisíciletí koexistovaly se svými přirozenými rezervoárovými hostiteli až do okamžiku, kdy do tohoto intimního vztahu vstoupil člověk. Filoviry a arenaviry jsou natolik pro člověka nebezpečné, že je možno s nimi pracovat jen na úrovni nejvyššího stupně biologického zabezpečení.

Filoviry

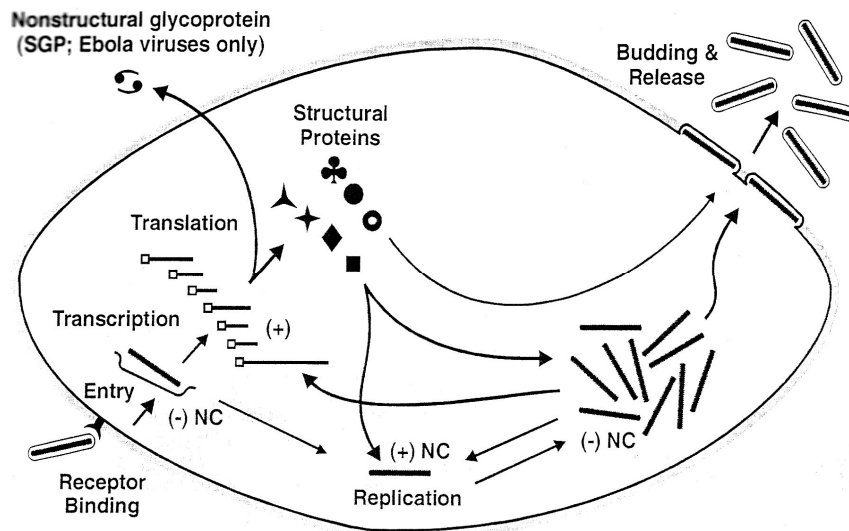
Zástupci čeledi *Filoviridae* jsou extrémně pleomorfní. Název čeledi pochází z latinského *filum*, což znamená nit, vlákno. Dva zástupci čeledi, viry Ebola a Marburg, se vzájemně liší sérologicky, ale i velikostí genomu a proteinovou skladbou.

Filoviry mají unikátní filamentózní morfologii často s různými zakrouceninami nebo uzlíky a jsou někdy dokonce delší než běžné bakterie (délka až 1400 nm). Helikální kapsid je obklopen lipidickou membránou. Z membrány vybíhají glykoproteinové peplomery o délce asi 10 nm.



Genom filovirů je tvořen jednořetězcovou molekulou RNA negativní polaritativity o velikosti asi 19 kb. V rámci genomu nacházíme sedm otevřených čtecích rámců kódujících sedm nebo osm strukturních proteinů.

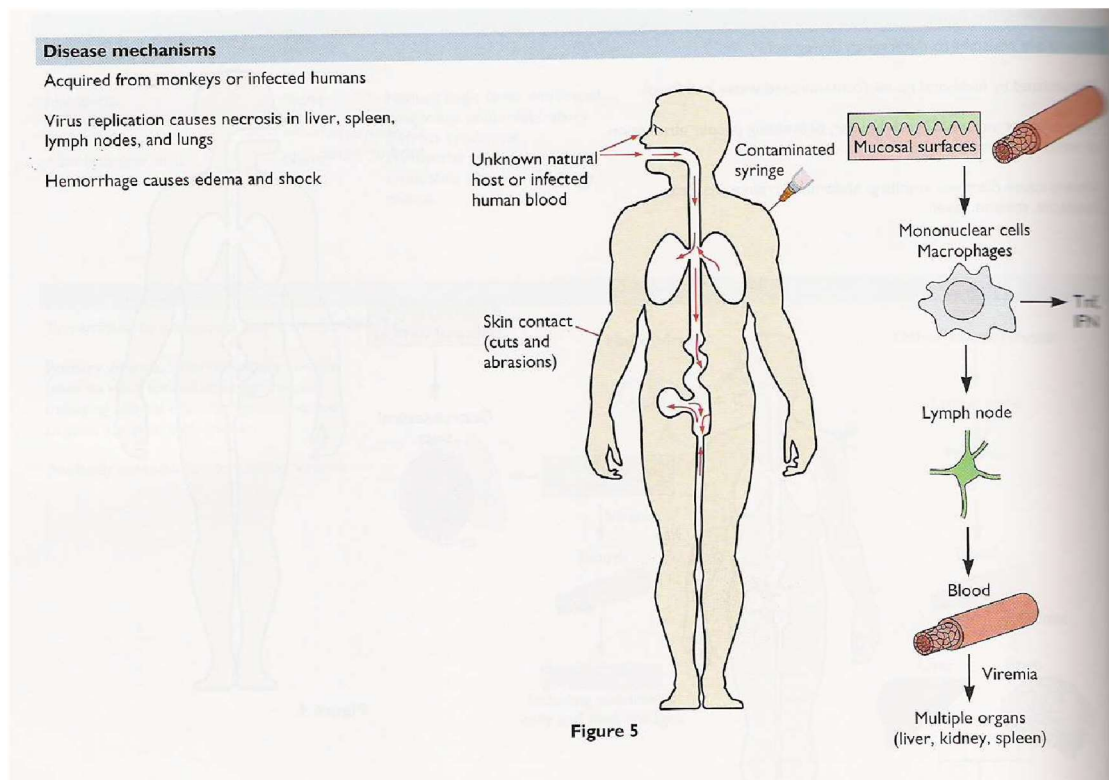
Viriony vstupují do hostitelské buňky procesem endocytózy. Transkripce a replikace virové RNA se odehrává v cytoplasmě. Během infekce se peplomerové glykoproteiny shromažďují na povrchu buňky a nukleokapsidy se akumulují v cytoplasmě. Nukleokapsidy poté migrují směrem k plasmatické membráně, kde interagují s glykoproteiny, čímž se částice obaluje a pučí. Replikační cyklus filovirů trvá 12 hodin.



Klinické a patologické aspekty

Onemocnění způsobené virem Ebola a Marburg je velmi podobné, charakteristické náhlým nástupem klinických symptomů po uplynutí inkubační periody 3-16 dní. Během rané fáze pozorujeme prudkou bolest frontálních oblastí hlavy, vysokou horečku a bolesti zad. Za 5-7 dní se může objevit přechodná makulopapulární vyrážka. V tuto dobu také začíná pacient krvácet z nosu, dásní, spojivky oční, dále do plic a gastrointestinálního traktu. U většiny pacientů pozorujeme trombocytopenii. Pacienti umírají následkem šoku způsobeného velkými ztrátami krve. Mortalita je vysoká – 25-90%.

Virem jsou napadeny nejrůznější tkáně a orgány těla, ale zejména játra a slezina, které se zvětšují a zabarvují se do černa. Hlavním patologickým rysem je napadení endoteliálních buněk a jejich poškození, což vede k zvýšení vaskulární permeability, vedoucí k ztrátám krve a šoku. Infikované buňky vylučují velké množství TNF-alpha, MCP-1 (monocyte chemotactic protein), MIP-alpha (major intrinsic protein), zatímco IFN-alpha a beta jsou blokovány. Dochází také k diseminované intravaskulární koagulaci a dysfunkci krevních destiček.



Epidemiologie

Co se viru Marburg týče, způsobuje spíše menší epidemie, které jsou kromě prvního vzplanutí omezeny na africký kontinent, zejména Kongo. Na druhou stranu virus Ebola vyvolal velké epidemie v Zairu a Súdánu, kde je na základě výsledků sérologických studií zřejmě endemický. V těchto oblastech rozeznáváme dva typy viru Ebola – Ebola Zair a Ebola Súdán. Epidemie v chovném zařízení makaků v USA vedla k identifikaci dalšího typu – viru Ebola Reston. Během této epidemie zahynulo velké množství makaků, ale ošetřovatelé, kteří se nakazili, neměli žádné klinické obtíže. Ebola Reston je tedy pokládána za pro člověka nepatogenní.

Virus se šíří při těsném kontaktu s infikovanou krví, možná i dalšími tělesnými tekutinami (v případě epidemie viru Marburg byl zaznamenán případ přenosu infekce spermatem při sexuálním styku). Virus může persistovat v infikovaných jedincích nejméně dva měsíce.

Laboratorní diagnostika

Vzorky pacientů podezřelých z infekce viry Ebola a Marburg se mohou zpracovávat pouze v laboratořích s nejvyšší úrovní biologického zabezpečení. Virus může být izolován z krve či biotického/nekrotického materiálu v kultuře Vero buněk nebo po intraperitoneální inokulaci mladým morčatům. Virus pak může být v kultuře demonstrován imunofluorescenčně nebo pomocí elektronové mikroskopie. Specifický antigen může být také detekován metodami ELISA nebo virová RNA pomocí RT-PCR. Používá se i sledování vzestupu protilátek metodou ELISA.

Prevence a léčba

Žádná vakcína nebo specifické chemoterapeutikum proti filovirovým infekcím není k dispozici. Pacientům je podáván ribavirin.

Vhodnou prevencí v mimoendemických oblastech je důsledná veterinární kontrola importovaných primátů. Zdravotnický personál ošetřující pacienty infikované virem Marburg nebo Ebola je vystaven zvláště vysokému riziku nákazy.

Arenaviry

Zástupci čeledi *Arenaviridae* se vyznačují charakteristickým vzhledem – viriony v sobě obsahují buněčné ribozomy, které na snímcích z elektronového mikroskopu připomínají zrníčka písku (arena = lat. písek). Velikost virionů je poměrně variabilní - dosahují průměru od 50 do 300 nm. Nukleoprotein tvoří dvě helikální kružnice. Genom je tvořen dvěma segmenty RNA negativní polarity, které ale na svých 5' koncích nesou krátké úseky RNA pozitivní polarity. Replikace se odehrává v cytoplasmě a nové viriony pučí přes cytoplasmatickou membránu.

Klinické a patologické rysy

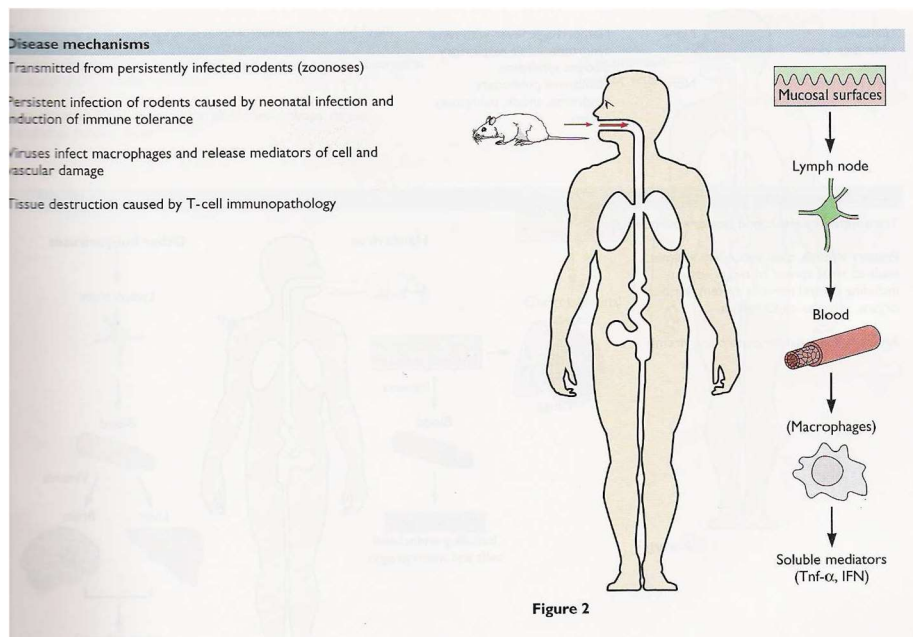
Horečka Lassa, Bolivijská a Argentinská hemoragická horečka

V endemických oblastech probíhají tyto infekce často bezpříznakově. Klinicky aparentní infekce mohou být závažné, mortalita hospitalizovaných pacientů s horečkou Lassa je asi 1525%. Inkubační doba je 1-2 týdny a první příznaky jsou nespecifické (horečka, bolest hlavy, bolest v krku). Následující stadium se vyznačuje vyrážkou v obličeji a na krku a zhoršením celkového stavu pacienta. Během druhého týdne onemocnění se začíná objevovat krvácení do gastrointestinálního a urogenitálního traktu, může dojít k šoku. I když se pacient z infekce uzdraví, rekonvalescence bývá velmi dlouhá – většinou přetrvávají neurologické problémy.

Lymfocytární choriomeningitida (LCM)

LCM je oproti výše uvedeným hemoragickým horečkám jen mírným onemocněním, které začíná bolestí hlavy se zvýšenou teplotou. U většiny pacientů je to jediný klinický projev infekce, ale u některých dochází k rozvoji meningitidy nebo choriomeningitidy, které ale také odezní bez následků. Úmrtí na LCM jsou velmi vzácná.

Replikace arenavirů zprvu probíhá v plicích a lymfatických uzlinách. Následná virémie má za následek roznesení viru do různých orgánů těla včetně jater, sleziny a plen mozkových. Bronchopneumonie, ať už primární virová nebo sekundární bakteriální, je velmi častá. Velké množství virového antigenu je možno detekovat v slezině, kostní dřeni a vnitřních orgánech. Mechanismus toho, jak arenavirová infekce vyvolá hemoragické symptomy, není zcela objasněn. Je známo, že infekce makrofágů v těle vede k produkci TNF a dalších cytokinů a faktoru aktivujícího krevní destičky (platelet-activating factor). Zdá se, že imunitní komplexy, aktivace komplementu nebo diseminovaná intravaskulární koagulace nesehrávají v tomto případě výraznější roli.



Epidemiologie

Hlodavci představují rezervoárové organismy v přírodě, u kterých arenaviry způsobují persistentní infekci, ale většinou bez jakýchkoliv klinických příznaků. Člověk je jen náhodným hostitelem.

U hlodavců je infekce přenášena vertikálně in utero nebo mateřským mlékem. K přenosu může dojít i pomocí slin nebo moči. Lidé se arenaviry infikují po kontaktu s exkremy nakažených hlodavců, zejména po kontaktu s jejich močí. K infekci dojde buď přes drobná kožní poranění nebo aerosolem.

Horečka Lassa se dostala do bližšího povědomí v roce 1969, kdy byly klinické vzorky odebrané od náhle zemřelého nemocničního personálu v Nigérii odeslány na Yaleovu univerzitu v USA, kde se z nich nakazila laborantka, jež následně zemřela, a i vedoucí laboratoře (?). Infekce se vyskytuje endemicky v západní Africe, zejména v Nigérii a Sierra Leone. V těchto oblastech je poměrně častá subklinická forma horečky Lassa, ale také velké epidemie charakteristické vysokou mortalitou. Každý rok je registrováno 100.000 nových případů a asi tisíce úmrtí. Vzácně může dojít k přenosu infekce z člověka na člověka.

Argentinská hemoragická horečka je způsobená virem Junin. Nakažení bývají nejčastěji muži pracující na poli, kteří přichází do kontaktu s exkremy chronicky infikovaných hlodavců. Tisíce případů jsou registrovány v období sklizně kukuřice na přelomu jara a léta. 10-20 % nakažených umírá.

Původcem Bolivijské hemoragické horečky je virus Machupo, který je přenášen na člověka rovněž z hlodavčích exkretů, ale může dojít i k přenosu z člověka na člověka. V současné době se zdá, že je toto onemocnění na ústupu.

Virus lymfocytární choriomeningitidy je celosvětově rozšířen v populaci myši domácí, u kterých se rozvíjí chronická infekce ale bez klinických příznaků. Člověk se nakazí následkem kontaktu s infikovanými hlodavci nebo jejich sekrety.

Laboratorní diagnostika

Diagnostika je obecně založena na detekci specifických IgM a IgG protilátek metodou ELISA. Dále jsou známy konsensus primery pro PCR diagnostiku arenavirů Nového světa. Virus může

být izolován z krve nebo moči akutně infikovaných pacientů po několik týdnů. Dále je možno izolovat virus z materiálu po výtěru v krku a z autoptických vzorků lymfatické tkáně, kostní dřeni a jater.

Prevence a léčba

Lékem volby v případě horečky Lassa je ribavirin podávaný intravenózně, někdy s plasmou zotavujících se osob. Ribavirin by měl být podán co nejdříve po objevení se prvních symptomů. Bakteriální superinfekce jsou časté, pak je vhodné použití odpovídajících antibiotik.

Pro hemoragické horečky platí, že suportivní terapie je mimořádně důležitá. Zahrnuje především udržování rovnováhy tekutin a elektrolytů a doplňování proteinů. Pacienti by měli být izolováni na vhodně vybavených odděleních.

Hantaviry

Naprostá většina hantavirů je přenášena členovci a způsobují horečnatá onemocnění a infekce CNS, zejména v tropických a subtropických oblastech. Hantaviry řadíme do čeledi *Bunyaviridae*. V roce 1978 byl izolován z hraboše poblíž řeky Hantaan v Koreji nový bunyavirus, u něhož bylo později zjištěno, že způsobuje hemoragické onemocnění s renálním syndromem, onemocnění doposud známé ze Skandinávie, Ruska a dalších oblastí Asie a označované jako Korejská hemoragická horečka, nephropatia epidemica a řadou dalších jmen. Tento nový virus – virus Hantaan – dal tedy základ novému rodu v rámci bunyavirů – rodu *Hantavirus*. Později se zjistilo, že hantaviry způsobují i jiné závažné onemocnění – hantavirový plicní syndrom. Na rozdíl od ostatních bunyavirů nejsou hantaviry přenášeny vektory, ale následkem kontaktu s exkrety infikovaných hlodavců. Nakažení hlodavci prodělávají bezpříznakovou chronickou infekci.

Hemoragická horečka s renálním syndromem

Toto onemocnění může mít jak mírný, tak velmi závažný průběh. Mortalita je kolem 5 %. Inkubační doba je velmi variabilní, ale většinou kolem 3 týdnů. Zprvu se objevuje horečka, pocit vyčerpanosti, bolest břicha, za dalších 5 dní nastává fáze hypotenze. Může se rozvinout trombocytopenie s vyrážkou v obličeji a na hrudi, či rozsáhlé krvácení do gastrointestinálního traktu nebo CNS. Narušení funkce ledvin nastane do devátého dne. Pozorujeme oligurii, proteinurii a zvýšené hladiny urey a kreatininu v krvi. Zhruba polovina úmrtí nastává následkem selhání ledvin, plicního edému nebo šoku. Rekonvalescence bývá dlouhodobá. Nephropatia epidemica je způsobena virem Puumala. Tento virus se vyskytuje ve Skandinávii a západní Evropě. Infekce připomíná hemoragickou horečku s renálním syndromem, ale průběh je podstatně lehčí. Mortalita je pod 1 %.

Hantavirový pulmonální syndrom

V roce 1993 se objevila rozsáhlá epidemie těžkého akutního respiračního onemocnění na jihozápadě USA s mortalitou kolem 50 %. Serologické testy naznačovaly, že onemocnění je zřejmě způsobené jiným hantavirem, nežli hemoragická horečka s renálním syndromem, což se následně potvrdilo. Virus byl pojmenován „Sin nombre“ („virus beze jména“). Hantavirový pulmonální syndrom je onemocněním značně závažnější než výše uvedená hemoragická horečka.

Mortalita může dosahovat až 80 %. Onemocnění se objevuje náhle, zprvu se manifestuje kašlem a bolestí ve svalech, následně nastává dyspnoe, tachykardie, objevuje se plicní edém, pleurální efúze, a hypotenze. Srážení krve je narušeno, ale krvácení není závažným rysem tohoto onemocnění. Smrt nastává následkem selhání respiračních funkcí.

U hemoragické horečky s renálním syndromem nastává akutní tutulo-intersticiální nefritida s infiltrací lymfocytů, makrofágů a polymorfonukleárů. Glomeruly nevykazují žádné charakteristické změny.

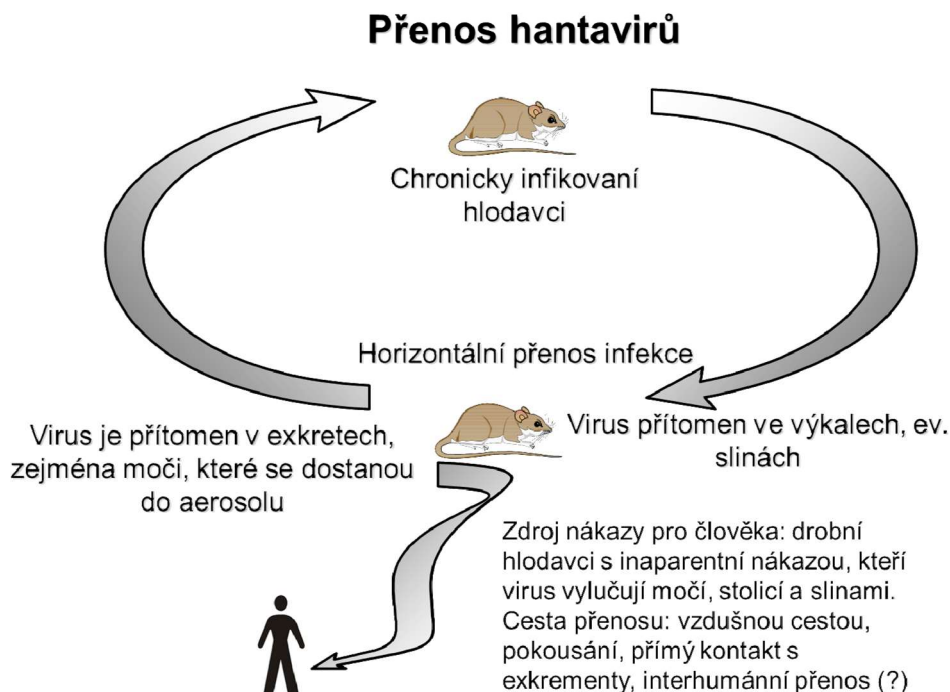
Hantavirový pulmonální syndrom je charakteristický intersticiální pneumonitidou s edémem a infiltrací mononukleárů. Antigen hantaviru je možno naleznout v endoteliu kapilár plic, ale také v řadě dalších orgánů, včetně sleziny a ledvin.

U hantavirových infekcí pozorujeme zvýšenou expresi celé řady zánětlivých cytokínů včetně TNF-beta, IFN-gama a beta. Předpokládá se, že některé z patologických změn jsou následkem působení imunitního systému a přímé interakce virových a buněčných proteinů. Epiteliální buňky, monocyty a makrofágy představují hlavní cíl infekce a šíří virus po těle pacienta.

Laboratorní diagnostika

Laboratorní diagnostika je založena na průkazu specifických IgM protilátek metodou ELISA. Případně je možno virus izolovat v kultuře Vero buněk.

Léčba spočívá v udržování balance tekutin a elektrolytů. U hemoragické horečky s renálním syndromem možno podat ribavirin intravenózně. Vakcína proti hantavirům zatím nebyla vyvinuta.



Arboviry

Arboviry jsou různorodou skupinou virů, kterou spojuje způsob jejich přenosu, tj. jsou přenášeny bezobratlými vektory (arthropod-borne viruses). Do této kategorie virů spadají zástupci několika virových čeledí, z nichž nejvýznamnější jsou *Bunyaviridae*, *Togaviridae*, *Reoviridae* a *Flaviviridae*. Přirozenými rezervoáry těchto virů jsou zvířata, ptáci nebo plazi a vektory krevsající členovci (komáři, klíšťata, blešivci apod.). Infekce člověka jsou často triviální nebo inaparentní, ale v některé z arbovirů způsobují u člověka těžké infekce s vysokou mortalitou.

Vlastnosti arbovirů

Togaviry a flaviviry

Togaviry (resp. rod *Alphavirus*, který jako jediný z této čeledi zahrnuje arboviry) a flaviviry představují malé obalené viry ikozahedrání symetrie (40-90 nm v průměru) s genomem sestávajícím z ssRNA pozitivní polarity o velikosti 11-12 kb. RNA kóduje jeden otevřený čtecí rámec, který je na obou koncích obklopen nekódujícími sekvencemi. Otevřený čtecí rámec kóduje rozsáhlý polyprotein, který je posléze buněčnými a virovými proteázami štěpen na jednotlivé strukturní a nestrukturní proteiny.

Infekce buňky začíná vazbou viru k buněčnému receptoru. Následně virová částice vstupuje do buňky procesem endocytózy. Genom je z virové částice uvolněn do cytoplasmy, kde virová RNA slouží jako mRNA. Komplementární RNA negativní polarity je syntetizována za pomoci virem kódovaných enzymů. Viry se kompletují v endoplasmaticém retikulu a putují přes Golgiho aparát směrem k povrchu buňky.

Bunyaviry

Název čeledi je odvozen od jejího prototypového zástupce, viru Bunyamwera, jenž podobně jako řada jiných arbovirů byl pojmenován po místě, kde byl prvně izolován. Z významných rodů této čeledi jmenujme rod *Bunyavirus*, jehož asi 50% zástupců způsobuje onemocnění u lidí, a *Hantavirus*, který je probírán v jiné kapitole.

Buniviry mají částice o velikosti 90-100 nm sférického tvaru a mají lipidický obal, ze kterého vyčnívají glykoproteinové peplomy. Genom je tvořen RNA negativní polarity, která sestává ze třech cirkulárních segmentů o velikosti 2, 4 a 7 kb.

Po navázání viru na receptor hostitelské buňky dojde k jeho internalizaci procesem endocytózy. Replikace probíhá v cytoplasmě. Virové glykoproteiny se hromadí v Golgiho aparátu, asociují s nukleokapsidy a jsou transportovány v měchýřcích směrem k povrchu buňky odkud pučí.

Reoviry

Z celkového počtu devíti rodů, které tvoří čeleď *Reoviridae*, pouze rod *Coltivirus* řadíme mezi arboviry. Jiné reoviry způsobují gastroenteritidy a jsou popsány v jiné kapitole. Koltiviry mají velikost asi 80 nm a nejsou obaleny. Genom tvoří 12 segmentů jednořetězcové RNA negativní polarity. Replikace koltivirů nebyla doposud detailněji popsána, ale zřejmě odpovídá situaci u jiných reovirů.

Klinické a patologické aspekty arbovirových infekcí

Známe více než 100 různých arbovirů způsobujících onemocnění u člověka. U těch, jež způsobují závažnější infekce, rozeznáváme obecně tři typy klinického průběhu.

Skupina 1: horečnaté onemocnění s vyrážkou a artritidou

Lékaři pracující v Africe přicházejí do kontaktu s velkým množstvím pacientů, kteří si stěžují na horečku a bolesti v kloubech. Pravděpodobně většina těchto onemocnění je způsobena arboviry. V některých případech se ale infekce vyznačuje závažnějším průběhem, kdy pozorujeme artritidu, myositidu a svědivou makulopapulární vyrážku. Názvy jednotlivých virů z této skupiny často odrážejí symptomy infekcí jimi způsobenými, např. O'nyong-nyong („horečka zlomené kosti“), Chikungunya („prohnout se v pase“). Plné uzdravení bývá pravidlem. Epidemie těchto infekcí mohou dosahovat masivního měřítka; např. v roce 1959 onemocnělo horečkou O'nyong-nyong více než 2 miliony lidí v Centrální a Východní Africe.

Skupina 2: meningitida, encefalitida a encefalomyelitida

Postižení centrálního nervového systému arbovirovou infekcí může vést k vážnému onemocnění, případně smrti pacienta. Viry z této skupiny pronikají do CNS během viremické fáze, způsobují lýzu neuronů a jejich infekce vede k obvyklým patologickým změnám pozorovaných obecně u virových encefalitid (perivaskulární lymfocytární infiltrace, aktivace mikroglií, petechiální hemorhagie). Klinicky se infekce projevuje horečnatým onemocněním, ztuhnutím šíje, křečemi, narušenou schopností soustředění a parézami. Zaznamenáváme motorické, senzorické a psychologické potíže.

Skupina 3: hemoragické horečky

Do této skupiny řadíme několik virů způsobujících klinicky podobné onemocnění, které ale nemusí být nutně způsobené arboviry, ale podobné infekce způsobují i někteří zástupci čeledi *Arenaviridae* a *Filoviridae*, kteří jsou probíráni v samostatné kapitole.

Infekce zástupci této skupiny má za následek úmrtí pacienta až v 20% případech. Počáteční horečnatá fáze je následována fází krvácení do pokožky, do gastrointestinálního traktu, z mukózních membrán, z tělních otvorů a je doprovázena hemoragickou vyrážkou. Pozorujeme trombocytopenii a někdy diseminovanou intravaskulární koagulaci. Některé z infekcí jsou popsány podrobněji:

Žlutá zimnice

Jak již název napovídá, infekce virem žluté zimnice vede k žloutence, která nastává následkem středně těžké nekrózy jater. Pacienti zvrací černou krev. Z hlediska počtu úmrtí je virus žluté zimnice historicky nejvýznamnější arbovirus. Svůj původ má zřejmě v Africe, odkud byla spolu s jejím vektorem, komárem *Aedes aegypti*, zavlečena v 17. století do Nového světa námořními výpravami. V současné době je virus endemický v Centrální Africe a Jižní Americe, kde cirkuluje především mezi nonhumánními primáty, ale příležitostně může být přenesena na člověka. Rozlišujeme dvě epidemiologické formy žluté zimnice: městskou (urbánní), pro kterou jedinými hostiteli jsou lidé, a lesní (sylvatickou), která se vyskytuje v zalesněných oblastech a

rezervoárem jsou opice. V historii se odehrály rozsáhlé epidemie ubránní formy žluté zimnice. V 19. století například zastavily několikrát práci na budování Panamského průplavu. V šedesátých letech minulého století se odehrály velké epidemie v západní Africe a Etiopii, během nichž zemřely tisíce lidí. Žlutá zimnice se překvapivě nevyskytuje na Indickém subkontinentu, ač je tam dostatek vnímavých komárů.

Dengue

Virus dengue je podobně jako virus žluté zimnice přenášen komáry *Aedes aegypti*. U dospělých infekce vede k horečnatému onemocnění, někdy s vyrážkou. U těžších případů se objevuje bolest kloubů a svalů. Lymfadenopatie a změny chuťového vnímání jsou časté. U dětí může nastat dengue-hemoragický šokový syndrom, který je vážnou komplikací s mortalitou kolem 4-12%. Onemocnění postihuje každoročně přes 50 milionů lidí. Krátká horečnatá fáze je následována šokovým kolapsem, nízkým tlakem krve a hemoragiemi. Jsou známy čtyři serotypy viru dengue a předpokládá se, že hemoragická horečka či šokový syndrom je výsledkem imunitního zesílení při sekundární infekci heterologním subtypem, kdy virus tvoří komplexy s preexistujícími protilátkami proti prvnímu typu viru, což ovšem vede k snazší vazbě na monotypy přes Fc receptory, ve kterých se začne úspěšně množit. Léčba bývá poměrně úspěšná – spočívá v nahrazení ztrát tekutin, srovnání rovnováhy elektrolytů a pokud je hemorhagie závažnější, transfúzí celé krve.

Virus západního Nilu

Virus západního Nilu způsobuje epidemie v Africe, Asii, Evropě i Severní Americe, kam pronikl v roce 1999. Ptáci a komáři rodu *Culex* představují hlavní rezervoár viru. Virus má endemický výskyt v Africe a na Středním východu a byl pravděpodobně do USA zavlečen nakaženým ptákem. Infekce je přenášena na člověka především komáry *Culex pipiens*, což je komár, který sají jak na ptácích, tak savcích. Dva lidské případy byly zaznamenány v roce 1999 v New Yorku, v roce 2002 to již bylo po celých Spojených státech přes 4000 případů s 284 úmrtími.

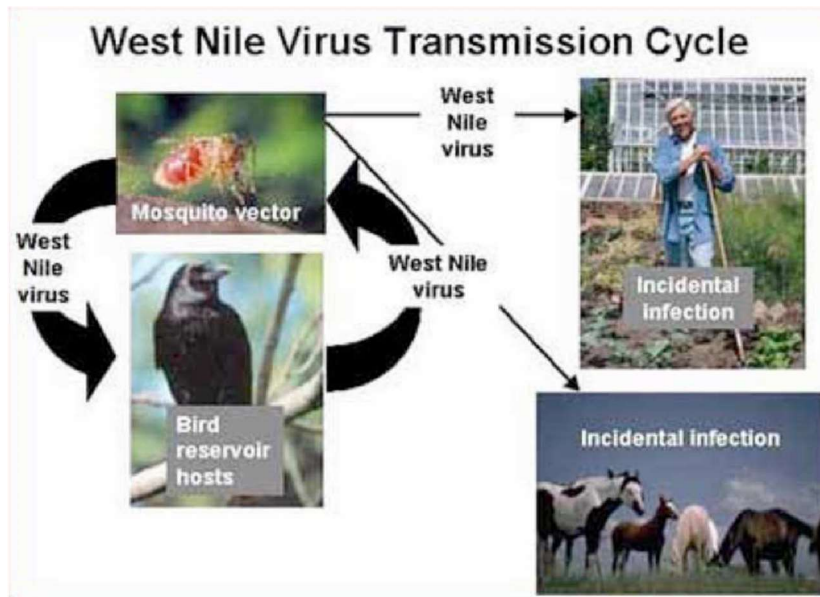
Onemocnění se vyznačuje horečkou s inkubační dobou 1-6 dní. Pacient si obvykle stěžuje na bolesti hlavy, zad a svalů přetrvávající asi týden. Zhruba polovina pacientů má vyrážku na krku, zádech a rukou. Někteří pacienti zvrací a mají průjem. U řady pacientů pozorujeme současně faryngitidu. Většina infekcí ale probíhá bezpříznakově (asi 250 na jeden klinický případ). Mortalita je 1-3%, rizikovou skupinou jsou především osoby vyššího věku.

Epidemiologie

Arboviry u svých přirozených hostitelů vyvolávají vysokou virémii, což umožňuje přenesení viru do těla vektora při sání krve. Schopnost vektora přenést infekci závisí na řadě faktorů, které zahrnují hostitelskou preferenci, mobilitu, schopnost přenést virus do další generace, schopnost viru přezimovat ve vektoru nebo hostiteli, apod. Arboviry své vektory nezabíjí, ba ani je zřejmě nijak nepoškozují, čímž si zajišťují svůj účinný přenos.

Rezervoárovými organismy jsou obvykle malí savci nebo ptáci. Lidé jsou infikováni v okamžiku, kdy se dostanou do kontaktu s nakaženým vektorem. Jedinci, kteří žijí v

endemických oblastech, již často mají následkem subklinických infekcí dostatečnou hladinu protektivních protilátek.



Laboratorní diagnostika

Manipulace s viry uvedenými v této kapitole je nebezpečná a mnoho laboratorních pracovníků se stalo jejich oběťmi. Izolační pokusy či průkaz specifických antigenů je proto většinou prováděn pouze specializovanými laboratořemi. Viry mohou být izolovány buďto intracerebrální inokulací sajícím myškám, buněčných kultur nebo komárů.

Nejčastějšími metodami laboratorní diagnostiky arbovirových infekcí jsou metody serologické, zejména metoda ELISA pro detekci specifických IgM protilátek.

Jedinými dvěma způsoby jak omezit výskyt arbovirových nákaz jsou likvidace vektora a imunizace obyvatelstva. Oba přístupy však mají své problémy. Největší historický úspěch představuje likvidace komárů a vakcinace v boji proti žluté zimnici. Chemický způsob boje proti dospělým komárům vedl ke vzniku rezistentních kmenů; účinnější se proto stalo ošetření nebo eliminace rezervoárů stojaté vody, čili míst výskytu komářích larev. Rozšiřování měst, deforestace a zavlažování jsou záležitosti, které narušují sylvatický cyklus arbovirů a mohou přispět ke vzniku epidemií u člověka.

Vyvinutí vysoce účinné vakcíny proti žluté zimnici Theilerem a Smithem v roce 1937 představuje jeden z milníků infekční biologie. Tato atenuovaná vakcína připravovaná z kmene 17D množeného v kuřecích embryích vedla k drastickému poklesu incidence urbánní žluté zimnice. Imunita po očkování je velmi dlouhodobá, možná i celoživotní. Vakcína je ale teplotně labilní, tudíž je nutno ji udržovat při nízkých teplotách, což je problém zejména v tropických oblastech. Osoby, které by měly být vakcinovány zahrnují ty, kteří žijí či cestují do endemických oblastí a laboratorní pracovníky, kteří s tímto virem pracují. Vakcinování jedinci by měli mít mezinárodně platné potvrzení o očkování, které je platné 10 let po provedeném očkování. U jedinců, kteří cestují z endemických oblastí do míst žluté zimnice prostých je toto potvrzení vyžadováno.

Řada dalších živých nebo inaktivovaných vakcín byla vyvinuta proti dalším arbovirům.

Vzteklina

Toto onemocnění je známo od počátku lidské civilizace. Na starých egyptských freskách z doby asi 3000 let př.n.l. lze nalézt vypodobněné vzteklé psy a lidi. První písemné záznamy nacházíme v babylónských dokumentech, které vznikly v době 2300 let před naším letopočtem. Vzteklna je zmíněna i v Homérově Iliadě, kde egyptský bůh Sirius měl podobu vzteklého psa. Hydrofobie, jako charakteristický průvodní znak vztekliny u člověka, popsal poprvé římský lékař Aulus Cornelius Celsus kolem roku 100 našeho letopočtu. Celsus také doporučil vypalování míst pokousání vzteklým zvířetem horkým železem a ponoření nemocného do studené vody. Toto zůstávalo hlavním způsobem léčby až do roku 1884, kdy Louis Pasteur vyvinul vakcínu proti vzteklině. Ve středověku byl za příčinu vztekliny považován např. mráz, vysoká teplota, konzumace příliš horké potravy, žízeň, hlad, některé atmosférické jevy, kolísání teploty, nebo démonický původ. Řada nemocných končila upálením na hranici.

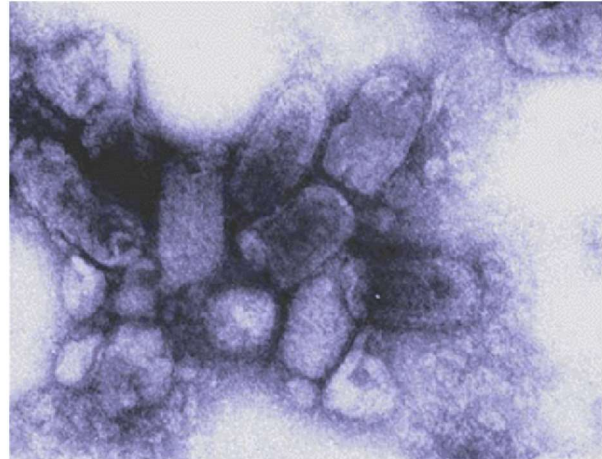
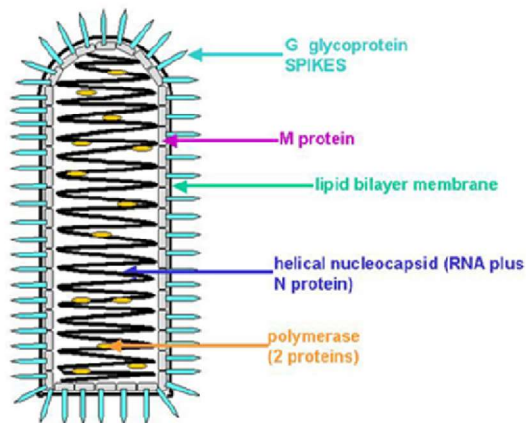
Nákaza, pokud není včas zasáhnuto, je téměř ve všech případech pro člověka smrtelná.

Virus vztekliny (rabies, lyssa) řadíme do čeledi *Rhabdoviridae* (z řečtiny rhabdos = tyč), čeledi, jejíž zástupci jsou charakterističtí projektylovým tvarem virionů, a dále rodu *Lyssavirus* (z řečtiny lyssa = šílenství).

Viriony sestávají z helikálního nukleokapsidu, který je obklopen lipoproteinovou obálkou projektylového tvaru o délce asi 180 nm. Z virionu vyčnívá asi 200 glykoproteinových peplomer, které jsou zodpovědné za interakci virové částice s receptorem na povrchu hostitelské buňky a za následnou fúzi virového obalu s membránou endozomu. Peplomery, resp. tzv. G protein má také hemaglutinační aktivitu a je také významným virovým antigem, který je neutralizován specifickými protilátkami.

Protein M (matrix) je hlavním virovým strukturním proteinem, poskládaným přímo pod obalovou virovou membránou. Nukleoprotein (N) obaluje virovou RNA, čímž ji chrání před degradací buněčnými RNázami. Velký virový protein (L – large) je vázán v těsné blízkosti k RNA a N proteinu. Má několik funkcí, zejména úlohu RNA transkriptázy, ale též 5' čepičkové methylázy, 3' poly(A) polymerázy a proteinkinázy.

Rhabdoviry mají genom tvořený molekulou RNA negativní polarity o velikosti 11-12 kb. V průběhu replikace viru je syntetizováno pět monocistronických mRNA (N, P, M, G a L).



Virus vztekliny se připojuje svým G proteinem k buněčnému acetylcholinovému receptoru, a vstupuje do buňky procesem viropexe (pinocytózou), podobně jako je tomu v případě infekce virem chřipky. Vytváří se obalený měchýřek, který posléze fúzuje s lysozómem. Replikace virové RNA probíhá v jádře hostitelské buňky. Pozitivní mRNA migrují z jádra do cytoplasmy, kde jsou na ribozómech translatovány na virové proteiny. Negativní ssRNA rovněž putují z jádra do cytoplasmy, kde interagují s M proteinem a pučí přes plasmatickou membránu v místech, kde jsou již v membráně integrovány G proteiny. Buňka většinou nehyne, ale kontinuálně produkuje nové virové částice. V infikovaných buňkách se často tvoří charakteristické cytoplasmické inkluze, známé jako Negriho tělíška (pojmenované po italském lékaři, který je jako první popsal).

Klinické aspekty

Člověk se obvykle nakazí vzteklinou při pokousání vzteklým zvířetem, ale i samotné lízání zvířetem může vést k přenosu nákazy. Virus může být přenesen i aerosolem, nejčastěji v netopýřích jeskyních. V literatuře byly popsány případy přenosu viru vztekliny z člověka na člověka v případě transplantace orgánu nebo tkáně (oční rohovky, plic, jater, ledvin). Inkubační doba u člověka je poměrně variabilní délky, od 10 dní i po několik let, obvykle ale 1-3 měsíce. Délka inkubační doby je závislá na velikosti inokula a na vzdálenosti od místa brány vstupu a mozku. Období prodromálních příznaků (únava, horečka, bolesti hlavy, hypersalivace) trvá 1-10 dní. Mohou se objevit i psychologické příznaky, jako úzkost nebo nadměrná agresivita. Z literatury možno uvést případ, který byl původně mylně pokládán za akutní záchvat schizofrenie. Místo, kde virus vstoupil do organismu pobolívá, někdy se objevují trhavé pohyby postižené končetiny. Následně může onemocnění probíhat dvěma formami.

1. Zuřivá forma. Pacient prochází fází vzrušení, kdy je neklidný, úzkostlivý, má zrychlený tep a rychlé dýchání. Paralýzy jsou časté. Dále pozorujeme zvýšenou aktivitu autonomního nervstva a hyperpyrexii (vysoká horečka nad 41°C). Klasickým příznakem pozorovaných ve většině případů je hydrofobie (pacient by potřeboval pít, ale jakýkoliv pokus přijmout trochu tekutiny vede k prudkým spasmům dýchacích a jiných svalů, doprovázený extrémním pacientovým pocitem hrůzy či utrpení). Období jasnějšího vnímání je vystřídáno zhoršeným vědomím a asi za týden pacient umírá na kóma s generalizovanou paralýzou a na kolaps kardiovaskulárního systému.

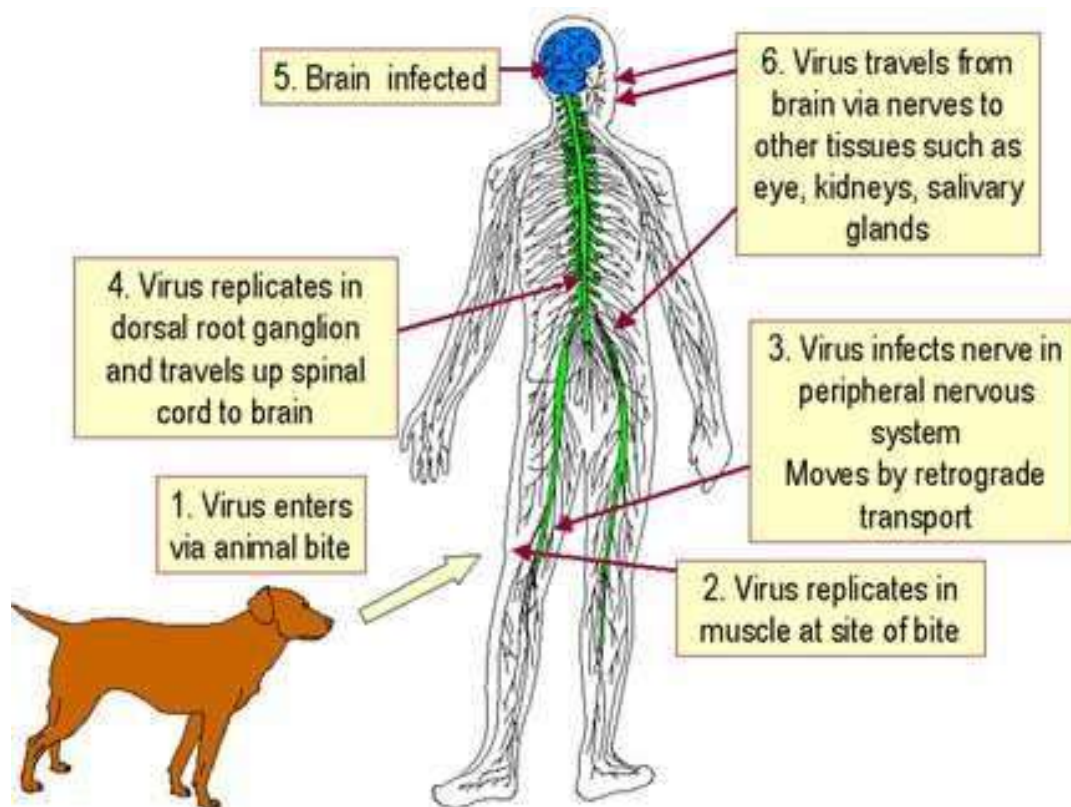


2. Paralytická forma. Tato forma onemocnění nemá tak dramatický průběh, i když pacienti bezvýhradně umírají, jako v prvním případě. K paralytickému průběhu onemocnění dochází spíše po pokousání netopýrem, nežli jiným živočichem. Onemocnění v takovém případě trvá asi měsíc a je charakteristické narůstajícími paralyzami. Hydrofobie není prominentním znakem. V těchto případech je postižena mícha a prodloužená mícha spíše než mozek, jak je tomu v prvním případě.

U zvířat (psi, kočky) pozorujeme paralytickou formu infekce. Inkubační doba u psů může být až 8 měsíců. Prvním příznakem obvykle bývají změny v chování. Ne vždy se ale zvíře chová tak, že v amoku zběsile běhá a kouše do všeho kolem něho; v určitých fázích infekce je zvíře naopak abnormálně přátelské a pokouší se jedince v okolí přátelsky olizovat. Určité procento psů se může ze vztekliny uzdravit. U koček infekce přechází v paralytickou formu charakteristickou zuřivým kousáním a škrábáním.

Patogeneze

Po pokousání virus migruje do centrální nervové soustavy po periferních nervech. Jedná se o klasický případ centripetálního šíření viru, které je následována centrifugálním šířením z CNS. Virus se nejprve množí v epitelálních buňkách nebo či v buňkách příčně pruhovaného svalstva (eventuelně v slizničních buňkách dýchací traktu v případě infekce respirační cestou). Na zakončení periferních nervů se virus dostává přes neuromuskulární vřetenka. Rychlost centripetálního postupu viru byla testována na laboratorních myši a bylo pozorováno, že virus urazí asi 3 mm za den. Jakmile se virus pomnoží v CNS, putuje centrifugálně podél periferních nervů do dalších tkání, včetně slinných žláz.



Epizootologie

Virus vztekliny existuje ve dvou epidemiologických formách. Zatímco u městské formy je pes domácí rezervoárem a přenašečem viru, lesní (sylvatická) forma se vyznačuje zapojením řady různorodých živočichů. Virus vztekliny je schopen napadnout jakékoliv teplokrevné živočichy. Rezervoárové druhy se liší podle geografických oblastí. Psi a kočky jsou nejčastějším zdrojem infekce člověka. U sylvatické formy jsou rezervoáry ve východní Evropě především vlci, v západní Evropě lišky, v Karibiku a Jižní Americe vampýři, v USA a Kanadě skunci a mývalové. S výjimkou Velké Británie, Austrálie, Norska a Nového Zélandu je vzteklina přítomna ve všech oblastech světa. Každoročně je zaznamenáno celosvětově asi 700 případů lidských úmrtí na vzteklinu; tyto ale pravděpodobně představují jen malé procento ze skutečného počtu případů, které se odhadují až na 100 tis., zejména v rozvojovém světě. V USA bývají zaznamenány zhruba 2 případy ročně. Asi 40% případů tvoří děti ve věku 5-14 let, spíše chlapci.

Na území Čech a Moravy byla vzteklina pozorována již na sklonku 19. století u psů, koček a jiných zvířat. Počty nakažených zvířat dosahovaly několika stovek ročně. Ve dvacátých letech minulého století bylo ročně laboratorně potvrzeno 400 - 600 případů vztekliny. Z toho připadalo 86 % na psy. V padesátých letech narůstal význam lišek a liška obecná se stala hlavním šířitelem vztekliny. V lednu 1953 byla nařízena povinná a bezplatná vakcinace všech psů proti vzteklině na celém území státu. Vzteklina domácích masožravců poté ustoupila a roční výskyt vztekliny u psů se snížil na minimum. U lišek bylo naopak diagnostikováno až několik set případů ročně. V osmdesátých letech dosáhla vzteklina největšího geografického rozšíření. S výjimkou několika okresů byla rozšířena na celém území ČR. Výrazný posun v tlumení vztekliny volně žijících zvířat přinesla orální imunizace lišek zaváděná v osmdesátých letech v řadě západních

evropských zemí. Princip spočívá v podání očkovací látky ukryté v plastické ampulce uvnitř vhodné návnady. Při konzumaci návnady a prokousnutí plastického obalu přichází živý očkovací virus do styku se sliznicí dutiny tlamy a hltanu a navodí stav imunity. Očkovací návnady se vykládají 2x ročně na jaře a na podzim v množství 18 - 30 dávek na km². Očkovací návnady kladou buď myslivci manuálně, nebo se shazují z letadel a vrtulníků. Poslední případ vztekliny byl diagnostikován u lišky v dubnu 2002 v okrese Trutnov a od této doby se již nákaza na našem území nevyskytla. Česká republika tak nadále plní kritéria statutu „země vztekliny prostá“.

Laboratorní diagnostika

Izolace viru pro diagnostické potřeby je potřeba jen vzácně. Pokud se provádí, tak se vzorky mozku, slin, mozkomíšního moku a moči injikují intracerebrálně novorozeným myškám. Nejčastějším způsobem laboratorní diagnostiky je průkaz virového antigenu v buňkách získaným otiskem rohovky nebo v buňkách kůže, či post mortem v mozkové tkáni člověka nebo živočichů. Histologicky lze většinou nalézt v mozkové tkáni charakteristická eosinofilní Negriho tělíčka.

Profylaxe u člověka

Od konce 19. století, kdy Louis Pasteur vyvinul první vakcínu proti vzteklině, se způsob imunizace proti tomuto onemocnění změnil jen nepatrně. Kmen viru, který byl použit Pasteurem pro imunizační experimenty, byl izolován z mozku vzteklé krávy. Po pasážování v laboratorních podmínkách virus ztrácí svou virulenci. Pasteurův virus byl pasážován mnohonásobně v mozcích králíků, u kterých se postupně zkracovala inkubační doba a zafixovala se na 6-7 dnech. Míchy králíků byly posléze sušeny na vzduchu při pokojové teplotě. V roce 1885 byl devítiletý chlapec Joseph Meister mnohočetně pokousán vzteklým psem. Po následujících 10 dní mu Pasteur podal celkem 13 injekcí se suspenzí mích infikovaných králíků. Bez léčby by chlapec zemřel, ale v tomto případě přežil. O rok později Pasteur udával již 350 léčených případů, přičemž pouze v jednom případě očkování selhalo (jednalo se o čtyřletého chlapce, u kterého ale vakcinace byla zahájena až 4 týdny po pokousání). Do roku 1898 bylo již léčeno Pasteurovou vakcínou kolem 20.000 pacientů s mortalitou kolem 0,5%. Vzhledem k tomu, že Pasteur neuspěl s kultivací bakterií z míchy králíků, postuloval, že toto onemocnění je způsobeno mimořádně malým mikrobem, nemajícím podobu ani bacilla ani mikrokoka.

Inaktivovaná vakcína proti vzteklině vytvářená z nervové tkáně infikovaných laboratorních živočichů (králíci, ovce, kozy) je sice dodnes používána, ale pozorované neurologické komplikace asi u jednoho z tisíce vakcinovaných vedly k jejímu omezení. V 50. letech minulého století byla vyvinuta vakcína založená na kultivaci viru v kachních embryích. Tato vakcína byla ale relativně neúčinná, proto byla posléze stažena.

Moderní vakcína je založená na kultivaci viru v lidských diploidních buňkách a následné inaktivaci β -propylaktonem. Touto metodou je vytvářena potentní vakcína, která je méně reaktogenní v porovnání s vakcínami dřívějšími. Tato vakcína je ideální pro profylaktické i terapeutické užití. Vakcína je podávána preventivně veterinárním lékařům, ošetřovatelům zvířat a dalším rizikovým skupinám obyvatel ve třech dávkách v měsíčních intervalech s přeočkováním po dvou letech. V Asii je produkována vakcína založená na kultivaci viru v křeččích ledvinových buňkách, která je levnější v porovnání s výše uvedenou.

Pokud je osoba pokousána podezřelým zvířetem, je nejprve nutno ránu důkladně vypláchnout mýdlovou vodou, alkoholem, jódovou tinkturou nebo jinou desinfekcí obsahující jód. Správné ošetření rány může snížit riziko propuknutí onemocnění až o 90%. Léčba je shrnuta v následující tabulce. Vakcína je podána v šesti dávkách intramuskulárně v intervalech 0, 3, 7, 14, 30 a 90 dní po expozici. Vzteklinu je tedy jednou z mála infekcí, u kterých zabírá postexpoziční vakcinace během inkubační doby. Přes 1,5 milionu pacientů je každoročně vakcinováno ještě původní vakcínou derivovanou z nervové soustavy infikovaných laboratorních zvířat (v tomto případě se podává vakcína subkutánně v 21dních intervalech).

Kontakt se zvířetem	Zvíře	Léčba u pacienta
Nepřímý kontakt	Buď zdravé nebo i s připomínajícími vzteklinu	Není potřeba příznaky
Lízání kůže	Buď zdravé nebo i s příznaky připomínajícími vzteklinu	
	a. v pozorování po nejméně 10 dní	Zahájit ihned vakcinaci. Ukončit pouze v případě, kdy je zvíře bezpříznakové po min 10 dní
	b. uniklo	Zahájit ihned vakcinaci. Kompletní vakcinace nutná.
	c. usmrceno	Zahájit ihned vakcinaci. Ukončit v případě, kdy laboratorní testy ukáží, že zvíře bylo negativní.
Pokousání		Totéž jako u lízání kůže, plus podání lidského imunoglobulinu proti vzteklině (20 mezinárodních jednotek/kg tělesné hmotnosti; z toho polovinu podat v okolí pokousání, druhou polovinu normálně intramuskulárně).

Viry a nádory

První perioda výzkumu vztahu virů k nádorovým onemocněním (onkogenní viry; z řečtiny onkos = nádor) proběhla v letech 1910-1960. Vše začalo zjištěním Peytona Rouse, že drůbeží sarkom může být přenesen na další slepice/kuřata i v případě, kdy je jim inokulována bezbuněčná suspenze z původního nádoru, filtrovaná přes bakteriologický filtr (objev roku 1911, Nobelova cena udělena však až v roce 1966). O čtvrt století později J.J. Bittner pozoroval, že nádor mléčné žlázy myši byl přenesen na potomky při sání mateřského mléka. Následně Ludwig Gross a C. Friend objevili dva viry myši leukémie, které byli po nich i pojmenovány. Mnoho podobných agens bylo posléze objeveno u nejrůznějších savců a ptáků, způsobujících obvykle leukémie nebo sarkomy. Bylo dokonce období, kdy se věřilo, že viry jsou zodpovědné za všechny případy nádorového bujení.

Další fáze výzkumu onkogenních virů byla započata triumfálním objevem struktury DNA Watsonem, Crickem a spolupracovníky (1962), což umožnilo výzkum molekulární podstaty

nádorového bujení způsobeného virem. V roce 1963 Vogt a Dulbecco pozorovali, že normální buňky kultivované in vitro začaly po infekci polyomavirem nekontrolovatelně růst a vykazovaly i další znaky buněk nádorových. Tento jev, kdy virus změnil biologické vlastnosti buňky směrem k nádorovému bujení se označuje jako transformace. Zanedlouho byly identifikovány další viry, které jsou schopny transformace buněk (adenoviry, papillomaviry, herpesviry a virus hepatitidy B). Ze skupiny RNA virů měly tuto schopnost pouze retroviry (tehdy označované jako onkornaviry), proto se pozornost začala směřovat ke studiu jejich způsobu replikace a transformace buňky. To vedlo k objevu enzymu reverzní transkriptázy, která má schopnost katalyzovat přepis RNA na DNA, tedy směrem proti centrálnímu dogmatu molekulární biologie. Tento objev Davida Baltimore, R. Dulbecca a H. Temina byl oceněn Nobelovou cenou. Vzhledem k unikátnímu přepisu RNA na DNA pomocí enzymu reverzní transkriptáza byla tato skupina virů přejmenována na retroviry.

Virus Nádor Pravděpodobné kofaktory DNA viry

Lidské papillomaviry (HPV)	Karcinom kůže a genitálií, larynxu	sluneční záření, kouření
Virus Epstein-Barr (EBV)	Burkittův lymfom	malárie
	Nasofaryngeální karcinom	Nitrosaminy ve stravě, šňupání tabáku
		genetické faktory
	B-buněčný lymfom	imunosuprese
Lidský herpesvirus 8 (HHV8)	Kaposiho sarkom	infekce virem HIV
		cirhóza - alkoholismus, jídlo
Virus hepatitidy B	Hepatocelulární karcinom	kontaminované aflatoxiny
RNA viry		
Virus T-buněčné leukémie (HTLV1)	T-buněčná leukémie	
	B-buněčný lymfom, invazivní cervikální karcinom	imunosuprese
HIV	Hepatocelulární karcinom	cirhóza
Virus hepatitidy C		

Obecné rysy virové onkogeneze

Růst, diferenciace a množení buněk je regulováno řadou komplikovaných molekulárních pochodů. Tyto mechanismy jsou obecně zprostředkovány chemickými signály pod genetickou kontrolou. Vyřazení těchto genů z činnosti, či naopak nežádoucí zvýšení jejich exprese může mít dramatický dopad na regulaci růstu a množení buněk, včetně iniciace jejich nekontrolovatelného nádorového růstu. Takové změny mohou být vyvolány různými karcinogeny (radiace, určité chemikálie a mykotoxiny). Byť minimální poškození daných genů může mít dramatické následky. Například bylo pozorováno, že záměna jediného nukleotidu v genu *c-onc* vedla k maligní transformaci buňky. K transformaci buňky směrem k malignitě však nedochází většinou působením jen jednoho elementu, ale většinou kombinací různých mechanismů. Onkogeneze má obecně více jak jednu fázi. V první iniciační fázi dojde k nějaké ireverzibilní změně buňky, která však nemusí nutně hned znamenat vznik nádoru. Takovým příkladem může být třeba inserce onkogenu nebo jiné virové DNA do hostitelského chromozómu. V další fázi ale musí dojít k aktivaci, čili musí nastat něco, co buňku postrčí k jejímu nekontrolovatelnému množení.

Integrace virové DNA

Obecným rysem virové onkogeneze je integrace celé nebo alespoň části virové nukleové kyseliny do DNA hostitele. Z toho plyne, že pouze DNA-viry či retroviry (které svou RNA přepisují na DNA v průběhu replikace) mohou být onkogenní. Je nutno však poznamenat, že samotná integrace virové NK do genomu hostitele ještě nemusí nutně znamenat transformaci buňky.

Onkogeneze retrovirů

Jednoduchý prototypový retrovirus má tři základní genetické domény. Gen *gag* (group specific antigen) kóduje čtyři proteiny, které tvoří jádro virionu. Gen *pol* kóduje tři enzymy – proteázu, která štěpí polyprotein *gag*, reverzní transkriptázu, která katalyzuje přepis virové RNA na cDNA, a integrázu, která katalyzuje integraci virové dvouřetězcové DNA do hostitelského chromozómu. Gen *env* kóduje dva obalové proteiny. Dále v genomu viru nacházíme různá místa, která hrají krucální roli při virové replikaci, jako např. primer vázající místo pro zahájení reverzní transkripce, balící místo (packaging site) pro inkorporaci virového genomu do kapsidy, a místo pro 3' polyadenylaci rodičích se molekul mRNA. Enzym reverzní transkriptáza nevykazuje opravný mechanismus, tudíž tento proces vede k produkci velkého množství mutantních genomů, což viru poskytuje také nemalé výhody. Během reverzní transkripce DNA získá na obou koncích dlouhé koncové repetitivní sekvence (LTR, long terminal repeats). LTR představují transkripční kontrolní elementy pro expresi proviru (promotory, enhancery). Transkripce proviru vede ke vzniku jednak mRNA pro translaci virových proteinů, jednak vznikají nové virové RNA genomy. Integrace virové DNA poskytuje viru nemalé výhody – jednak si tímto virus zajišťuje to, že zůstává spolu se svým hostitelem (respektive danou buňkou a jejím dceřiným potomstvem) až do konce jeho života, jednak v některých případech díky integraci se může virus dostat i do dalšího jedince (potomka) přes zárodečné buňky. Integrace proviru může proběhnout v místě, kde se vyskytuje nějaký gen, čímž je daný gen vyřazen z produkce. Exprese dalších hostitelských genů může být pozitivně či negativně regulována díky přítomnosti promotorů a enhancerů ve virových LTR. Integrace může také zvýšit pravděpodobnost různých rekombinací s buněčnými sekvencemi. Pokud provirus přijde rekombinací o některé ze svých esenciálních genů, pro další replikaci bude potřebovat přítomnost nedefektního replikačně kompetentního viru („helper“), jehož vlastní replikace poskytne tomu defektnímu viru chybějící proteiny. Retroviry obecně nejsou cytotoxické. Jejich maturace probíhá pučením přes cytoplasmatickou membránu, což nemusí nutně narušit vitální funkce hostitelské buňky. Nezdá se ani, že by některý z retrovirových proteinů měl schopnost indukovat apoptózu buňky.

Některé, ale ne všechny, retroviry kódují speciální gen, onkogen (*onc*), který má schopnost způsobit nádorovou transformaci hostitelské buňky. Účinek onkogenu může být ilustrován na příkladu replikace viru Rousova sarkomu. V tomto případě je virovým onkogenem gen *src* (dle „sarcoma“). Replikace tohoto viru probíhá v následujících krocích: 1. virus se přichytí na specifický receptor na povrchu hostitelské buňky, 2. dojde k rozbalení virionu v cytoplasmě infikované buňky a uvolnění virové RNA, 3. virová jednořetězcová RNA je pomocí enzymu reverzní transkriptáza transkribována do jednořetězcové DNA, 4. virová DNA je cirkularizována a v dvouřetězcové formě integrována do buněčné DNA. Pokud dojde jen ke

klidné chronické infekci buňky, jsou exprimovány virové geny *gag*, *pol* a *env* a jsou produkovány nové virové částice, které jsou uvolňovány z buňky pučením na plasmatické membráně. Za určitých okolností ale může být aktivována exprese i onkogenu, který v tomto případě kóduje proteinkinázu, která fosforylací posléze modifikuje řadu proteinů majících úlohu v regulaci růstu a množení buňky. Tato modifikace může vést k transformaci buňky, která vyústí v nekontrolovatelné buněčné množení a vznik nádoru.

Od okamžiku infekce k její transformaci může uplynout různě dlouhá doba. Rychle transformující viry mohou mít onkogen, který nahradil ve virovém genomu některý jiný virový gen. Takový virus je pak defektní a pro svou replikaci potřebuje helpera (viz výše).

Buněčné onkogeny

Výzkum virového onkogenu *src* vedl k překvapivé identifikaci podobného genu, který však byl přítomen v genomu obratlovcích hostitelů (ptáků, ryb, savců). Později byly nalezeny buněčné analogy (protoonkogeny) i dalších virových onkogenů. Z toho důvodu bylo zavedeno značení onkogenů v podobě *v-onc* pro onkogeny virové a *c-onc* pro protoonkogeny buněčné. Zdá se tedy, že v průběhu evoluce si některé viry přivlastnily hostitelské geny, které v jejich buněčné podobě se účastní normálních fyziologických pochodů buňky.

Samy buněčné protoonkogeny mohou být za určitých patologických okolností zodpovědné za nádorové bujení nebo mohou být aktivovány insercí proviru, který sám ani nemusí onkogen kódovat. V takovém případě LTR, jak je popsáno výše, může zesílit expresi protoonkogenu; pak mluvíme o inserční mutagenezi.

Jiným mechanismem, kdy může být iniciováno nekontrolovatelné buněčné množení, je situace, kdy dojde k poškození tumor-supresorových genů. Produkty takových genů (p53, Rb) mají tu funkci, že se váží na DNA v jádře a slouží jako transkripční regulátory brání buněčnému množení. Produkce p53 může vést k apoptóze, čili programované buněčné smrti, která má v tomto případě zabránit nechtěnému, nekontrolovatelnému buněčnému množení. Tedy poškození tumor-supresorových genů může vést k proliferaci postižené buňky a vzniku nádoru.

Onkogeneze DNA-virů

DNA-viry většinou nekódují onkogeny, které by byly odvozeny od protoonkogenu hostitele, jako je tomu u retrovirů. Takové onkogeny jsou povětšinou nezbytné pro normální virovou replikaci, kdy například indukují vstup buňky do S-fáze buněčného cyklu, či prodlužují životnost buňky za účelem zvýšení/udržení produkce nových virových částic. Tyto virové onkogeny fungují na principu blokace normálních buněčných růstových faktorů, včetně tumor-supresorových proteinů. Velké onkogenní DNA-viry nekódují identifikovatelné onkogeny, ani neblokují buněčné tumor-supresorové proteiny, ale spíše immortalizují buňky tím, že interagují s extracelulárními růstovými faktory a intracelulárními signálními kaskádami, které reagují na růstové faktory, což vede k neustálému buněčnému dělení. Případně mohou kódovat homology buněčných proteinů, které aktivují buněčný cyklus nebo interferují s intracelulárními signálními drahami vedoucími buňku k apoptóze.

Viry způsobující nádorové bujení u člověka Papillomaviry

V nedávné době bylo zjištěno, že papillomaviry a nikoliv herpesviry, jak se uvažovalo dříve, jsou původci nádorů děložního čípku a zřejmě jsou zodpovědné i za nádory penisu, či za nádory vyskytující se v perianální oblasti.

Lidské papillomaviry jsou široce rozšířené malé DNA-viry, mající tropismus k epiteliálním buňkám v různých částech těla. Dodnes bylo identifikováno více jak 100 různých genotypů. Zejména genotypy 16 a 18 řadíme mezi ty nejvíce rizikové. Jiné genotypy indukují vznik například benigních nádorů (např. bradavic, kondylomat apod.), které jsou drženy na uzdě imunitním systémem hostitele. Virové proteiny E6 a E7 se zřejmě váží na proteiny Rb a p53, což vede k iniciaci nekontrolovatelného buněčného množení.

Virus zprvu infikuje bazální buňky epidermis, kam se dostane přes drobná poranění epitelu. Jak je poranění hojeno a obnovuje se epitelium, buňky ze spodní vrstvy se množí a některé z jejich dceřiných buněk cestují směrem k povrchu, během čehož se také diferencují. V různě diferencovaných epiteliálních buňkách probíhají jednotlivé kroky virového replikačního cyklu. Nově vzniklé virové částice se začínají objevovat až v nejvrchnějších vrstvách umírajících a mrtvých buněk. Tato závislost viru na postupné diferenciaci buňky znemožnila kultivaci viru v podmínkách *in vitro* v běžných buněčných kulturách. Dnes se již podařilo virus množit v speciálních keratinocytových raftech nebo organotypických kulturách.

U benigních nádorcích (bradavice, kondylomata, papilomy) bývá virová DNA přítomna v cytoplasmě infikovaných buněk v cirkulární podobě ve formě episomu, zatímco v případě maligního karcinomu nebývají infekční částice produkovány a virová DNA bývá integrována do genomu hostitele.

Virus Epstein a Barrové

Tento virus je značně rozšířen v populaci, většinou však nezpůsobuje závažnější onemocnění. Vyznačuje se tropismem k B-lymfocytům a dále se množí v epiteliálních buňkách ústní dutiny. Infikované B-lymfocyty však ale produkují jen malé množství viru, pokud vůbec; tudíž nejsou zřejmě zodpovědné za šíření viru. Po vstupu viru do buňky je rozložena virová kapsida a uvolněna virové DNA, která v lineární podobě putuje do jádra. Tam DNA zůstává v lineární formě do okamžiku, kdy proběhne dělení buňky, pak se cirkularizuje a zůstává v jádře ve formě cirkulárního episomu, který se množí před nebo během buněčného dělení a může být posléze tedy přítomen v buňce ve více kopiích (10-400).

Onkogeneze tohoto virus spočívá spíše v imortalizaci, nežli transformaci hostitelské buňky. Virus Epstein a Barrové nemá zřejmě schopnost způsobovat nádory přímo, ale spíše funguje jako kokarcinogen v několikastupňovém procesu. Mezi nádorová onemocnění indukovaná tímto virem řadíme Burkittův lymfom, nasofaryngeální karcinom a B-buněčný lymfom. Burkittův lymfom se vyskytuje v oblastech rovníkové Afriky. Byl prvně popsán dr. Dennisem Burkitem jako fatální lymfom krku a hlavy u dětí. Vzácně se toto onemocnění vyskytuje i u dětí v jiných částech světa nebo u pacientů s AIDS. EB virus byl detekován v přibližně 95% nádorech. Sekvence viru je v celém nádoru identická, což naznačuje, že vznikl klonální expanzí z jediné infikované a transformované buňky. Onkogenní účinek tohoto viru v případě tohoto onemocnění je příkládán translokaci onkogenu *c-myc* z chromozómu 8 na chromozóm 14, čímž se dostane do blízkosti enhancerů pro řetězce imunoglobulinů. Časté jsou i mutace přímo v *c-myc*. Tyto změny vedou ke konstantně zvýšené overexpresi *c-myc*, který normálně funguje jako

transkripční faktor významný pro buněčný cyklus, což vede B-lymfocyty k nekontrolovatelné proliferaci. Významný kofaktorem pro vznik Burkittova lymfomu je onemocnění malárií způsobené *Plasmodium falciparum*. Chronická malárie pak může vést ke snížení imunitní obranyschopnosti organismu. Mechanismus vzniku Burkittova lymfomu u oněch zbývajících 5% osob negativních na virus Epstein a Barrové zůstává neznámý.

Nasofaryngeální karcinom se vyskytuje po celém světě, zvláště ale často v Číně a jihovýchodní Asii. Jde o nekeratinizující nediferencovaný nasofaryngeální karcinom. Pro jeho vznik je rozhodující množení viru Epstein a Barrové v nosohltanových epitelích. U jedinců s normální imunitou je množení EBV regulováno a nedojde k objevení se tohoto nádoru.

B-buněčný lymfom se objevuje u imunosuprimovaných pacientů, včetně těch, kteří jsou nakaženi virem HIV. Lymfom vzniká nekontrolovatelným množením B-buněk, které jsou latentně infikovány virem Epstein a Barrové a které díky imunopresi unikají likvidaci cytotoxickými T-lymfocyty.

Lidský herpesvirus 8 (HHV8)

HHV8 (také nazývaný jako herpesvirus asociovaný s Kaposiho sarkomem) je nejnověji objeveným herpesvirem (roku 1994); sice nebyl izolován, ale jeho DNA byla zjištěna v nádorech pacientů s Kaposiho (čti „Kapoših“) sarkomem. Tato forma nádoru je nacházena zejména u pacientů s AIDS. Samotný Kaposiho sarkom byl popsán zhruba před více než sto lety maďarským lékařem Mauricem Kaposim, jako relativně vzácný sarkom kůže starších mužů ve východní Evropě a Středomoří. V 60. letech minulého století, ještě před šířením pandemie HIV, více agresivní forma Kaposiho sarkomu byla zaznamenána u jihoafrických dětí. V osmdesátých letech nabyl tento nádor na významu v souvislosti s AIDS. Incidence tohoto nádoru u homosexuálních mužů se Spojených státech je více jak 10.000x vyšší než v normální populaci a desetkrát vyšší oproti jiným AIDS pacientům (např. narkomani). Histologicky je Kaposiho sarkom charakteristický tím, že zahrnuje řadu buněčných typů. Buňky nabývají charakteristického vřetenovitého tvaru. Nádory jsou infiltrovány buňkami zánětu a obsahují velké množství nově vytvořených vaskularizací.

Kaposiho sarkom se může objevit na kůži, v ústní dutině i na jiných sliznicích, u pacientů s AIDS je agresivní, viscerální, která se objevuje i na plicích a v ostatních vnitřních orgánech. Nádor se jeví jako zarudlá nebo až nafialovělá skvrna, která se plošně šíří. Vznikají uzly tvořené nepravidelnou, ale hustou sítí cév a okolním vazivem. Někdy se objevují i otoky, ložiska se mohou rozpadat. Většinou je nebolestivý, kožní sarkomy jsou víceméně neškodné. U viscerální formy je riziko smrtelného krvácení.



Virus hepatitidy B

Hepatocelulární karcinom, který vzniká následkem chronické infekce virem hepatitidy B, je jednou z nejčastěji se vyskytujících forem nádorů. Statistika udává více jak 300 milionů lidí chronicky infikovaných tímto virem, přičemž každým rokem přibývá dalších 250 tisíc případů. Mechanismus transformace je málo prozkoumán. Vznik nádoru je dáván do souvislosti s cirhózou jater. Je možné, že nádor je prostě výsledkem proliferace buněk při regeneraci poškozené jaterní tkáně. Virová DNA bývá integrována náhodně na různá místa chromozomální DNA.

Virus T-buněčné lidské leukémie (HTLV-1)

HTLV-1 je retrovirus, který způsobuje maligní proliferaci $CD4^+$ T-lymfocytů. $CD4^+$ Tlymfocyty infiltrují kůži a vnitřnosti. Pacienti umírají zhruba za jeden rok po propuknutí onemocnění. HTLV-1 je přenášen nejrůznějšími mechanismy, které zahrnují sání mateřského mléka, sexuální kontakt, nebo přenos kontaminovanou krví (transfúze, krevní produkty, kontaminované jehly a stříkačky). HTLV-1 způsobuje zpravidla asymptomatickou infekci; jen asi 1%-5% infikovaných jedinců onemocní po uplynutí inkubační doby, která trvá 20-30 let. Virus infikuje $CD4^+$ T-lymfocyty s tím, že využívá $CD4$ molekuly na jejich povrchu jako svůj receptor. Provirus se integruje na náhodná místa v hostitelském genomu. Virový *v-onc* obsahuje geny *tax* a *rex*, které kódují dva fosfoproteiny *tax* a *rex*, které mají funkci transkripčních a post-transkripčních regulátorů. *Tax* trans-aktivuje řadu genů, což zřejmě vede k nádorové transformaci.

HIV

HIV neobsahuje žádné onkogeny, a ač jejich nukleová kyselina bývá integrována do hostitelského chromozómu, nezdá se, že by způsoboval nádorové bujení přímo. Imunosuprese otevírá dveře vzniku nádorů, které by byly normálně zachyceny a zlikvidovány imunitním systémem.

Virus hepatitidy C

Virus hepatitidy C je dáván do souvislosti s hepatocelulárním karcinomem, byť tento virus není příkladem zrovna učebnicového onkogenního viru. Tento virus není schopen svou nukleovou kyselinu integrovat do hostitelského chromozómu. Mechanismus onkogeneze v tomto případě je spíše výsledkem chronické infekce, která vede k cirhóze. Nádory v případě infekce virem

hepatitidy C nevznikají dříve než až za 30 let po infekci. Koinfekce s virem hepatitidy B a delta agens jsou poměrně časté.