

H1: NK
H2: geheel K
H3: zie les
H4,5,6,7: geheel K
H8: zie practicum
H9, 11, 12: zeer belangrijk
H10: blz 148 t/m 151 + 154 K = alles over monoklonale AS + colostrale en maternale immuniteit
H13: alleen globaal en wat in les is gezegd.
H14: structuur, eigenschappen en vermeerderingscyclus van retrovirussen K
H14: NK, alleen wat in les al eerder is gezegd K.

Inhoudsopgave samenvatting virologie

Titel

pagina

Virologie

Examen

Volledig schriftelijk

Secretariaat: 2e verdiep linker vleugel

Hoofdstuk 1 : geen examenstof

Hoofdstuk 2 : Algemene eigenschappen van virussen

Wat is een virus?

Het zijn infectieuze agentia van 15 - 350nm (1nm = 10^{-9} m) grote orde. Kleiner dan virussen zijn nog viroïden die ziekte verwekken bij planten en de prionen die waarschijnlijk niet eens meer een nucleïnezuur bevatten.

Bereik van een lichtmicroscop is vanaf 250-300 nm tot 2 mm en een virus is dus niet zichtbaar. Het bereik van een EM is vanaf ongeveer 1 nm tot 100 μ m (100.000nm).

De voornaamste eigenschappen in vergelijking met een bacterie.

	virus	bacterie
Afmeting in nm	15-400	\geq 1000
Vermeerdering op een syntetische voedingsbodem	N	J
RNA of DNA	N	J
Ribosomen	N	J
Metabolisme	N	J
Gevoelig aan IFN	J	N
Gevoelig aan antibiotica	N	J

IFN = interferon, werkt antiviraal door snel de viruswerking te beëindigen

J = JA en N = Nee

Gevolg een virus is afhankelijk van een andere levende cel, omdat het geen eigen metabolisme heeft. Het virus op zich kan dus pas iets doen als het in een levende cel is binnengedrongen. De infectie is dan het geheel aan processen in de gastheercel die het gevolg zijn op de binnendringing van het virus. Meestal behoort hier de vermeerdering van het virus ook bij. Een virus heeft ook niet altijd ziekte tot gevolg, omgevingsfactoren zijn hiervoor noodzakelijk

Morfologie en structuur van diervirussen

- centraal nucleïnezuur of **nucleoïed**
- Omgeven door een eiwitmantel = **kapsied**
- **Nucleokapsied** = nucleoïed + kapsied
- **Envelop**: is een lipoproteïne membraan die meestal niet aanwezig is naakte verus ommantelde virussen.

Virion: volledig gevormd viruspartikel buiten een gastheercel. Virus kan zowel intra- als extracellulair zijn en het kan gaan om gehele virussen of om deeltjes.

Kapsied: gevormd door aaneenschakeling van identieke polypeptideketens of identieke groepen van polypeptiden. Morfologisch vormt een groep of een keten een subunit of een kapsomeer. Het aantal kapsomeren varieert per virusfamilie en wordt dan ook gebruikt om te classificeren.

Envelop: heeft bij een aantal virussen morfologische eenheden die aan het oppervlak uitsteken. = spikes of peplomeren. Ze bevatten meestal specifieke eiwitten. Bij bv influenzevirussen zijn dit bv de neuramidase en hemagglutinine. Virussen met een envelop zijn minder resistent, omdat verschillende stoffen makkelijk door een lipidemembraan dringen en stoffen als detergenten ze makkelijk afbreken.

Methoden om de morfologie van virussen te bestuderen.

De kennis van nu is eigenlijk allemaal te danken aan de elektronenmicroscopie. Het principe hiervan is dat elektronen dmv een hoog voltage door het preparaat worden gestuurd, zodat er meer scheiding (ongeveer 300.000 maal vergroten) is dan met een lichtmicroscopie. Elektronen hebben echter wel een minder doordringen vermogen, dus moet het glazen plaatje vervangen worden door een metalen gridje.

Negatieve kleuring

Men behandelt het preparaat met fosfotungsteezuur dat elektronen niet goed doorlaat. (let op het preparaat mag maar tot de helft van de hoogte zijn ingebed om mooie beelden te krijgen) Op een coupe is het virus dus wit en de omliggende materialen gekleurd, dus zwart. Hierbij kan je dus grootte en vorm bepalen. En dus bij sommige virussen met een uitgesproken vorm gelijk de diagnose stellen. Zie figuur 4.

Ultra dunne sneden

Idem, maar dan zeer dunne sneden, zodat ook intracellulaire organisatie gezien kan worden.

Schaduwtechniek

Een virussuspensie wordt onder vacuüm in een evaporatietoestel geplaatst. Hierin bevindt zich ook een metaal dat onder een bepaalde en gekende hoek met het staal verdampt. Hierdoor zal het neerslaan op een bepaalde kant van het virus en op de bodem. Waardoor de computer dan dingen als vorm en afmeting kan berekenen. Zie figuur 5.

Cryo-elektronenmicroscopie

Men vriest het preparaat snel in bij -160°C op een gekoeld gridje met een niet kristallijn waterlaagje. Vervolgens wordt het onder de EM bekeken. Bij deze techniek worden geen zware metalen of kleurstoffen gebruikt, dus blijft de virusstructuur beter bewaard. Men kijkt vooral naar verschil in elektronen dichtheid tussen eiwitten en lipiden. Met behulp van veel beelden kan een computer een soort 3D model van het virus maken.

X-straal kristallografie

Is de meest nieuwe techniek om 3D vormen te analyseren tot op atomisch niveau. Virus wordt gekristalleerd en vervolgens met X-stralen bestraald. Ieder elektron zal op een aparte manier de stralen afbuigen die de computer kan omzetten in een 3D beeld, waarop de afzonderlijke virale eiwitten zijn te zien. Men kan dit ook toepassen op een eiwit van een virus. Zo is de structuur van het hemagglutinine van griepvirussen opgehelderd. Een nadeel van deze techniek is wel dat complexere virussen die moeilijk kristalleerbaar zijn nog niet in zijn geheel onderzocht kunnen worden en dus enkele aparte virale eiwitten ervan in kaart gebracht kunnen worden. Zie figuur 6.

De symmetrie van virussen

Er zijn verschillende vormen mogelijk van sferisch tot balk- en kogelvormig. Maar vooral de manier waarop de kapsomeren rond het nucleoïed zijn geordend bepaald de symmetrie. Er zijn 2 soorten: kubische en schroefvormige symmetrie.

Kubische of eicosahedrale symmetrie.

Nucleoïed is in het centrum opgerold tot een kluwe. De kapsomeren zijn in 20 driehoekige vlakken gerangschikt.

Er zijn 60 identieke elementen in de oppervlakte van de eicosahedron (nl 3 per driehoek vlak)

Er zijn 3 soorten spiegelingen of rotatieassen, nl:

- 2-voudige as bovenop een ribbe gekeken en die doorgetrokken over de figuur met 180 graden draaien om dezelfde figuur te bekomen
- 3-voudige as als je als draaipunt een driehoekvlak neemt. Nu moet je 120 of 240 graden draaien voor hetzelfde beeld
- 5-voudige as waar je een hoekpunt als draaipunt neemt en je 72 graden moet draaien.

Symmetrie van virussen

Meestal zijn ze sferisch of bolvormig. Er zijn echter ook balkvormige als de poxviridae of kogelvormig als de rhabdoviridae.

Kapsomeren: zijn identieke morfologische eenheden waaruit het kapsied samengesteld is. Vaak zijn ze op een bepaalde manier gerangschikt, zodat er een symmetrie ontstaat. Daar zijn 2 vormen van nl. **schroefvormige en kubische of icosahedrale symmetrie.**

Kubische of icosahedrale symmetrie zie fig 7.

Kapsomeren rond de kluwen van het nucleoïed als een icosaheder gerangschikt. Zo'n icosaheder heeft 20 driehoekige vlakken. Elk vlak draagt in zijn centrum 3 kapsomeren, wat de eenvoudigste rangschikking is ==> er zijn 60 identieke elementen, maar verschillende kapsomeren in 1 vlak kan ook. Let op de kapsomeren op de ribben en hoekpunten tellen dus niet meer. Die identieke elementen worden via 2-, 3- en 5voudige rotatieassen verbonden. Dat zijn ribben. Bij een 2 voudige as moet je dus 180 graden draaien om een identiek beeld te krijgen. Resp wordt dat dus 120 en 140 graden en 72 graden voor de andere assen. Veel virussen komen niet toe met 60 eenheden en hebben daarom ze er meer. Bv 120, 200, 300, 420 enz. Op een hoekpunt is een kapsomeer door 5 ander omringt ==> hij is een penta-meer. In een vlak of op een ribbe is hij door 6 andere omringt ==> hij is een hexameer.

Triangulatie getal: de hoeveelheid kleine driehoekjes waarin een vlak kan onderverdeeld worden. Is groter naarmate het aantal kapsomeren groter is. Sommige van dit soort virussen hebben een envelop, maar meestal niet.

Schroefvormige of helicale symmetrie zie fig 8.

Nucleoïed is opgerold als een virus en over de ganse lengte omgeven door kapsomeren. Zo zijn er dus een bepaald aantal per draai, maar dit aantal kan verschillend per virus. Dierlijke virussen met deze symmetrie hebben altijd een envelop.

Compexe symmetrie

Sommige virussen hebben niet een van beide structuren. Een vb hiervan zijn de poxviridae zie fig 9. Deze hebben een groot aantal verschillende eiwitten. En 2 membranen of enveloppen. De binnenste is de core envelop en bevat het nucleoïed dat in dit geval een dubbenstrengig DNA is. Het geheel is nog omgeven door een buitenste membraan.

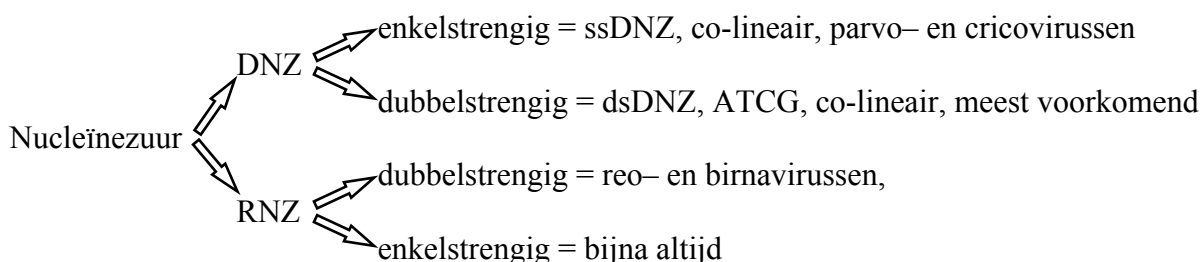
Een andere vb zijn de bacteriofagen of bacteriële virussen. Ze hebben een icosahedraal hoofdje met daaraan een helicale staart met daaraan bepaalde vezels, zodat het geheel een soort injectiespuit voor injecteren van het DNZ in de bacterie cel is.

Envelop: is een lipoproteïne membraan, die meestal essentieel is voor de infectiviteit en ze wordt gevormd met het naar buiten komen van het viruspartikel uit de gastheercel. Dus is gemaakt door de gastheercel.

Chemische samenstelling van virussen

Nucleïnezuur

Of DNZ of RNZ, wat een belangrijk criterium is voor classificatie. Dit is het genoom of viraal nucleïnezuur en staat in voor erfelijkheid. Is als een streng = **co-lineair** of als fragmenten = **gesegmenteerd** aanwezig.



Strengen in DNZ losmaken kan dmv verhitten tot 100 graden en dan snel afkoelen tot vriespunt andere hybridiseren de strengen weer.

Viraal genoom is altijd **haploïd**, er komt dus maar 1 gen voor een bepaalde eigenschap voor, behalve bij de retrovirussen die **diploïd** zijn.

Dmv fenol of detergentia kan men het nucleïnezuur ongedeerd uit een virus halen. Dit is dan nog infectieus en kan nog een volledig virus vormen ==> het nucleïnezuur codeert voor alle genetische informatie.

DNZ: sommige virussen zijn **circulair** nl papova-, crico- en hepadnavirussen. De rest is **lineair**. Het moleculair gewicht gaat van 1,7 tot 200kbp. Sommige zijn wel groter bv de herpes en pokkenvirussen. 1 kbp is ongeveer 1 gen dus 1 eiwit, dus de virussen bevatten 2 tot 200 eiwitten.

RNZ: co-lineair = retrovirussen of gesegmenteerd = reovirussen: 1 segment = meestal 1 eiwit. Meestal zijn ze lineair, circulair is heel zeldzaam zoals bij hepatitis virus. Verdere onderverdeling gebeurt op basis polariteit. **Positief** = polariteit is gelijk aan mRNZ en codeert gelijk voor een eiwit. **Negatief** = zelfde polariteit als RNA, maw moet eerste overgeschreven worden en dan pas coderen voor eiwit. Deze virussen hebben dus een RNZ-polymerase = transcriptase. Moleculair gewicht gaat van ssRNZ: 1,7 tot 21 kbp en dsRNZ: 18 tot 27KBP.

Dus een virus is DNZ of RNZ en ss of ds en co-lineair of gesegmenteerd (alleen als het als RNZ was) en circulair of lineair en positief of negatief (deze laatste keuze alleen bij RNZ)

Eiwitten, zie fig 10.

- **structurele en niet- structurele eiwitten:** de eerste worden in het virus deeltje ingebouwd de laatste niet en worden meestal tijdens de virusvermeerdering gevormd.
- **Interne en externe eiwitten:** binnen structurele eiwitten en bevinden zich resp. rond het nucleïne zuur of aan oppervlakte in kapsied of envelop.
- **Kapsied eiwitten:** enkele verschillende polypeptideketens die zich herhalen, symmetrie
- **Glycoproteïnen:** geglycoseerde eiwitten aan de oppervlakte van een envelop en steken uit als spikes of peplomen.
- **Matrix eiwitten:** bijkomende eiwitlaag onder sommige enveloppen.
- **Eiwitten/enzymen met in functie in de virusvermeerdering:** bv het nucleïne zuur polymerase. Retrovirussen hebben een DNZ-polymerase dat het RNZ omzet in DNZ intermediair tijdens infectie.

Funcities:

- **bescherming van virale nucleïnezuurmoleculen:** ander zeer geringe overlevingskansen.
- **Vasthouden aan specifieke receptoren op gastheercel:** bepaald grotendeels hun tropisme of virus-cel specificiteit = meer affiniteit hebben voor bepaalde cellen dan voor andere ==> bepaald mede waarom een virus alleen op bepaalde dieren of bepaalde organen werkt.
- **Stimuleren van antistoffen:** ze zijn dus een gedeelte van antigene samenstelling van een virus. Het dier ontwikkelt hiertegen antistoffen en zal bv bij herbesmetting hieraan het virus herkennen. Ook interne niet-structurele eiwitten kunnen antistoffen stimuleren, aangezien die na virusvermeerdering uit een geïnfecteerde gastheercel vrijkomen. Externe eiwitten zorgen voor neutraliserende (maken virus onschadelijk) antistoffen en interne eiwitten voor niet neutraliserende antistoffen (het virus is niet onschadelijk gemaakt, want heeft zich vermeerderd, maar werkt als virus zijn inhoud secreteerd).
- **Bepalend voor symmetrie virussen.**

Lokalisatie van eiwitten in het virion

Scheiding: men plaats een hoeveelheid virus op een SDS-polyacrylamidegel en doet electroforese. Zie ook figuur 11a. Ngl de stoffen die men heeft toegevoegd, kan men bepalen waar het eiwit heeft gezeten.

Vb: het vesiculaire stomatitis virus.

Men behandelt het virus eerst voor onder ander door verhitten en mercapto-ethanol waardoor de eiwitten worden ontvouwd, losgemaakt van lipiden, ontdaan van S-S bruggen en negatief geladen, zodat ze geëlectroforeerd kunnen worden.

- 1) een onbehandeld (dus alleen voorbehandeld) virus geeft een electroforetisch beeld met 5 strepen.
- 2) Men behandelt het voorbehandeld virus met fosfolipase C, dat de lipidenmembraan = envelop afbreekt. Men doet weer electroforese en men bekomt geen verschil: dus het oppervlakte eiwit G steekt door de lipiden membraan heen en zit vast op het kapsied.
- 3) Nu behandelt men na fosfolipase nog met trypsine: zodat de eiwitten worden afgebroken en men dus tegen het kale kapsied aankijkt. ==> streepje G ontbreekt in de electroforese.
- 4) Men behandelt nu ook nog met detergenten. Dit verwijderd het kapsied en zo kijkt men dus tegen het nucleïnezuur aan. Na electroforese blijkt dus het streepje M verdwenen te zijn. Dit is dus een matrix (gelegen tussen kapsied en envelop) eiwit, dit ligt dus geheel in het kapsied en steekt er niet doorheen, anders had trypsine het afgebroken.
- 5) Verder heeft men ook nog contrastvloeistof en electronenmicroscopie gebruikt. Men kon dus de bullet-shaped vorm vaststellen. Na verwijderen van de envelop werd er een streping zichtbaar ==> men weet dat het nucleïnezuur als een spiraal zit opgerold. Nu weet men dat het virus eruit ziet als in fig 11b

Vetten en koolhydraten

Meestal alleen in envelop, behalve bij virussen met complexe symmetrie. Deze componenten zijn niet virusspecifiek, omdat ze van de gastheercel afkomstig zijn en liggen dus ook niet op het genoom gecodeerd. Naargelang de gastheercel kan de samenstelling dus ook iets veranderen.

Er zijn oa glycolipiden: zijn gastheer celspecifiek

Glycoproteïne: hierbij komt het proteïnedeel van het virus en is dus virusspecifiek, het koolhydraatdeel komt van de cel en is dus celspecifiek.

Let op!!! Virussen met een lipidenmantel = envelop zijn juist kwetsbaarder, omdat hier allerlei vetoplossende stoffen op in kunnen werken en ook difussie doorheen de membraan kan plaatsgrijpen.

Hoofdstuk 3 classificatie en systematiek van diervirussen

Zo ongeveer alles is gevoelig aan virussen: ook virussen zelf.

Tot op dit moment 800 diervirussen bekend.

Doel: geordende rangschikking maken zodat gemeenschappelijke of verschillende kenmerken tot uiting komen. Gevolg is dat er een nomenclatuur moet zijn. Deze is sinds 200 jaar gebruikt en bestaat uit een binominale nomenclatuur. Om uit te zoeken tot welke groep een virus behoort maakt men gebruik van oa. MG, verhouding nucleotidebasen, nucleïnezuurhybridisatie ea.

Criteria voor classificatie van diervirussen

Voor 1950: indeling op basis van orgaan of weefseltropisme, nadeel is dat zeer verschillende virussen in 1 groep terecht komen en 1 virus kan in meerdere groepen thuis horen.

Na 1950: op basis van morfologische, chemische en fysische eigenschappen. Hiernaast wordt er vaak ook nog bij vermeld of een virus respiratoir of enterisch of arthropood-borne (door insecten) wordt overgedragen.

1965: commissie voor nomenclatuur van virussen opgericht, deze handhaafde de toon huidige indeling en dat men zou proberen hun binominale naam te geven ipv persoonsnamen, letterafkortingen enz. echter tot nog toe wordt dit nog weinig gebruikt en vnl alleen voor families en subfamilies.

Criteria:

- **viriaal nucleïnezuur:** DNZ of RNZ soms ook MG, lineair of cirkelvormig, ss of ds of co-lineair of gesegmenteerd.
- **Virion zelf:** onderscheid op afmeting en symmetrie. Soorten kapsied: kubisch, schroefvormig of complex. Het al dan niet hebben van een envelop. En soms ook de vorm, zeker bij EM speciaal uitzijnde virussen.
- **Bijkomstige criteria:** vaak minder belangrijk, aantal kapsomeren (kubisch), doormeter van nucleokapsied (schroefvormige symmetrie), intracellulaire lokalisatie van virusvermeerdering (cytoplasma of kern) en soort cytopatisch effect in celculturen. Of men gebruikt antigenen verwantschappen, moleculaire eigenschappen (oa nucleotidensequenties).

Tot nu toe 22 families ontdekt in de diervirussen en die eindigen allemaal met viridae. Zie tabel 3.

Familie: eindigt op viridae, omvat een aantal leden (of species) met dezelfde of goed op elkaar lijkende fysio-chemische kenmerken.

Subfamilies: eindigend op virinae, binnen een familie hebben een aantal leden dezelfde kenmerken, maar die zijn duidelijk verschillend van andere.

Genera: is idem voor subfamilies onder de families.

Species: dit zijn de verschillende leden binnen een virus.

Serotypen of typen: groep virussen binnen hetzelfde species die eenzelfde antigene structuur hebben, maar verschillend zijn van antigene natuur dan andere binnen het species. Bv serotypen 1,2 en 3 bij poliovirus. Een infectie met type 2 beschermd niet tegen een infectie met type 3. Dit geldt bv ook voor influenza virussen.

Subtypen: idem voor serotypen binnen een species. bv binnen influenza type A heb je subtypen HxNy: x = 1-16 en y = 1-9

Varianten van virussen: verschillen in bepaalde biologische eigenschappen binnen hetzelfde species, type of subtype en kan zich uiten in virulentie, plaquemorfologie, ontbreken van hemagglutinine, ea. Meestal gaat het om mutaties. In het varkenspest virus is er maar 1 serotype, maar hierin wel verschillende varianten die niet allemaal even infectieus zijn. Sommige veroorzaken een ergere ziekte dan anderen.

Virusisolaat: in een laboratorium tot vermeerdering gebracht, kan in een proefdier zijn.

Virusstam: als men van het virusisolaat inmiddels zijn eigenschappen kent.

Antigene of serologische verwantschap tussen 2 virussen: infectie van het ene virus geeft antistoffen die ook reageren bij infectie met het 2e virus. Let op !! Dit betekent niet altijd kruisbescherming, maar kan wel. Als de antistoffen tegen virus 1 neutraliserend werken tegen virus 2 dan is het kruisbescherming, maar het overeenkomstig antigeen waartegen hetzelfde antistof gemaakt wordt hoeft niet altijd voor virus 2 neutraliserend te werken. Maw men is dus niet beschermd tegen een infectie met virus 2.

Zie ook tabel

1. Familie PARVOVIRIDAE (parvus is klein)

Globaal kennen.

- lineair, ssDNA (uniek) ongeveer 5kb
- Kubisch
- 32 capsomeren
- 16-26 nm
- Geen envelop, zeer resistent
- Vermeerderen in celkern
- Hebben vaak een of meerdere functies nodig van vermenigvuldigende cellen, zodat hun pathogenese daar ook vaak verband mee houdt en er dus overdracht van moeder naar foetus kan zijn.

genus Parvovirus (1 van 3)

- kunnen normaal en onafhankelijk in een cel vermeerderen.
- Zeer diersoortspecifiek, sommige zijn niet pathogeen andere wel en hebben bv een voorkeur voor beenmerg, lymfopoëtisch systeem of epitheel van de darm wat allemaal snel deelt.
- Porciene parvovirus PPV: embryonale en foetale sterfte bij zeugen
- Feline parvovirus FPV: veroorzaakt enteritis, beenmergaantasting en congenitale misvormingen bij katten.
- Caniene parvovirus CPV: enteritis, myocarditis en leukopenie

2. Familie Papovaviridae

- Globaal kennen
- Circulair, ds DNA ongeveer 47-53 kbp
- Vermeerderen in celkern ==> tumorverwekkend
- Kubisch
- 72 capsomeren
- 45-55 nm
- Geen envelop, dus zeer resistent

Subfamilie Papillomavirinae

Genus Papillomavirus (1 van 1)

- meestal tumoren van goedaardige natuur = wratten.
- Komt voor bij mensen, runderen, honden en paarden. Bv equine papillomavirus EPV dat huidwratten veroorzaakt.
- Geen antigenen verwantschappen tussen de species, dus zeer diersoortspecifiek.

Subfamilie Polyomavirinae

Genus Polyomavirus (1 van 1)

- niet oncogeen voor natuurlijke gastheer, maar wel experimenteel bij andere.
- Bv humane polyomavirussen. Blijven blijvend aanwezig na infectie en kunnen gereactiveerd bij immunosuppressie bv AIDS.

3. Familie ADENOVIRIDAE

- Globaal kennen
- Ds DNZ, 30-38 kpb
- Vermeerdering in celkern
- Kubisch
- 252 kapsomeren
- 70-90 nm
- Geen envelop, zeer resistent
- Heeft fibers uit hoekpunten.
- Meerdere serotypen
- Veroorzaken AH en spijsverterings infecties en kunnen lang in klierweefsels aanwezig blijven (adeno = klier)

Genus Mastadenovirus (1 van 2)

- gemeenschappelijk antigeen, maar geen kruisresistentie.
- Adenovirus bij de mens = HAV: 42 serotypen, geen kruisbescherming, veroorzaakt keelontsteking, ademhalingsstoornissen (vnl bij jonge kinderen), orgaanaandoeningen. Meestal subklinische infecties.
- Rund: BAV: ademhalingsstoornissen meestal subklinisch
- Paard: weinig pathogeen
- Varken PAV: idem paard
- **Hond:** CAV: 2 soorten CAV1 = hepatitis en CAV2 = kennelhoest: geen milde besmetting en wel kruisbescherming mogelijk.

Genus Aviadenovirus (1 van 2)

- komt voor bij kip (eend, kalkoen, gans etc)

4. Familie HERPESVIRIDAE

- Goed kennen
- Lineair, ds DNZ 105-255kbp
- Vermeerdering in kern, behalve envelop aanmaak dat gebeurt in golgi.
- Kubisch
- 120-200 nm
- Envelop
- Latent: (vermeerderd niet) kruipt in zenuw, niet bereikbaar voor immuunstelsel en kan zo levenslang (een zenuwcel gaat normaal gezien het hele leven mee) aanwezig blijven. Prikkel als stress en UV kunnen het dan reactiveren.
- Aandoeningen van gevarieerde aard bij veel verschillende diersoorten
- Transplacentaire infecties kunnen voorkomen.

Subfamilie 1: Alphaherpesvirinae (1 van 3)

- Korte vermeederingscyclus van minder dan 24 uur
- Veroorzaken latente infecties
- Herpesvirussen van de mens: HHV.
 - HHV1 en 2 = herpes simplex virus met 2 serotypen
 - Serotype 1: oraal type: koortsblaren maar kan ook oogaandoeningen en encefalitis geven
 - Serotype 2: genitaal type: letsels aan genitale slijmvliezen bij mannen en vrouwen
 - HHV3 of Varicella-zoster of VZV of windpokken - zona: huiduitslag bij kinde-

ren en zona bij volwassenen.

- herpesvirus van het varken SwineHV = ziekte van Aujeszky: CZS stoornissen bij varkens, soms ook AH stoornissen, abortus en mummificatie.
- Herpesvirussen van het rund of BHV:
 - BHV1 of infectieus bovine rhinotracheïtis: veroorzaakt AH, stoornissen, conjunctivitis, abortus, CZS stoornissen, diarree. Pustuleuze letsels in slijmvliezen bij koeien en stieren
 - Er bestaan ook BHV2 en 3
- herpesvirus bij het paard = EHV:

EHV1 of rhinopneumonie virus: AH stoornissen en abortus

Er bestaat ook een EHV3

- herpesvirus bij de kat 1-FHV1 = AH stoornissen bij katten = niesziekte
- Herpesvirus bij de hond 1-CHV1 = veralgemeende ziekte en sterfte bij jonge honden (tot 14 dagen) en letsels in geslachtswegen bij oudere dieren.

Subfamilie 2: Betaherpesvirinae (1 van 3)

- Vermeerderingscyclussen van meer dan 24 uur.
- En vormen reuzecellen in celculturen.
- Ze doen ook latente infecties ontstaan en zijn erg diersoortspecifiek
- HHV4 of cytomegalovirus bij de mens = HCMV: subklinisch bij volwassenen, maar kan koorts, hepatitis veroorzaken na bloedtransfusies of immunosuppressieve therapie. Ook congenitale transplacentaire infecties komen voor.
- Humaan herpesvirus 6 = HHV6: 3-dagen koorts bij kinderen minder dan 2 jaar en is wereldwijd verspreid.
- SHV2 of cytomegalovirus van het varken of inclusion body rhinitis virus: veroorzaakt rhinitis bij biggen en transplacentaire infecties bij zeugen, maar is niet zo belangrijk.

Subfamilie 3: Gammaherpesvirinae

- veroorzaken lymfoproliferatieve infecties en zijn specifiek voor B of T lymfocyten. Sommige veroorzaken tumoren bij gastheren.
- Marek virus: kwaadaardige tumoren bij kippen
- Herpesvirus van de kalkoen: subklinisch en serologisch verwant aan Marek. En gebruikt voor vaccinatie tegen Marek.
- Epstein-Barr virus: kwaadaardige tumoren bij mens in centraal Afrika als het samenwerkt met malaria dat immunosuppressief is. Bij ons is het de oorzaak van infectieuze mononucleose (geeft koorts, keelontsteking, zwelling van lymfeklieren, miltzwelling en evt geelzucht) wordt ook kissing disease genoemd.
- Herpesvirus ovis of jaagziekte bij het schaap: trage progressieve AH stoornissen.

Familie POXVIRIDAE

- geheel kennen
- Ds DNZ 130-300 kbp
- Vermeerderen in cytoplasma = enigste van DNZ die we moeten kennen.
- Complexe symmetrie
- Grootste diervirus 170-260 bij 300-450 nm ==> balkvormig
- >30 structurele eiwitten en vele enzymen
- Zeer resistent
- Uitgesproken tropisme huid
- Kruisimmunitet tussen leden van zelfde genus binnen in de subfamilie Chordopoxvirinae.

Subfamilie Chordopoxvirinae (bij gewervelde dieren)

- karakteristieke oppervlakte structuren die een diagnostische betekenis hebben.

Genus 1 Orthopoxvirus

- baksteenvormig met als oppervlakte structuren onregelmatige filamenten
- Vacciniavirus: mutant van koepokkenvirus of mensenpokkenvirus. Gebruikt bij de mens om tegen mensenpok te vaccineren.
- Variolavirus of mensenpokkenvirus: veroorzaakt erge letsels op huid en slijmvliezen. Sterfte komt voor. Maar is nu uitgeroeid.
- Koepokkenvirus: veroorzaakt letsels bij het rund

Genus 2: Parapox

- ovaalvormig met spiraalvormige oppervlakte filamenten.
- Besmettelijke ecthyma bij schaap of Orfvirus: letsels aan muil = zere bekje
- Ook varianten voor letsels aan muil bij koeien en letsels aan tepels.
- Let op!!! Deze virussen hebben duidelijk antigen verwantschappen en kunnen bij de mens ook huidletsels veroorzaken.

Genus 3: Avipoxvirus

- kippenpokken
- Duivenpokken
- Kanariepokkenvirus: kan uiten als pokken bek, aan ogen of acuut verlopende AH stoornis.

Genus 4: Capripox

- baksteenvormig met als oppervlakte structuren onregelmatige filamenten

Genus 5: Leporipoxvirus

- myxomavirus van het konijn: kwaadaardige tumorachtige aandoening van de opperhuid

Genus 6: Suipoxvirus

- varkenspokkenvirus

Alle RNZ virussen die wij moeten kennen zijn ss en lineair.

Familie: PICORNAVIRIDAE

- Globaal kennen
- kleinste RNA virus: pico = klein, 20-30 nm
- Heeft positieve polariteit
- Kubisch
- 60 kapsomeren
- Geen envelop
- Vermeerdering in cytoplasma
- Vaak zijn het subklinische besmettingen

Genus 1: Enterovirus (1 van 4)

- komt voor in de darm
- Zeer zuur, thermo (optimaal = 37C) en antiseptica stabiel
- Zeer diersoortspecifiek
- Coxsackievirussen: bij de mens en heben 40 serotypen, meestal subklinisch, maar soms ook meningitis, paralyse, spierpijn, hart en hartzakje ontstekingen, huiduitslag, AH stoornissen.
- Poliomyelitisvirussen: 3 serotypen, geen kruisimmunititeit, mens en meestal subklinisch al kan bij kinderen ook meningitis en paralyse voorkomen
- ECHO virussen: (enteric cytopathic human orphan), enterische virussen bij de mens, 34 serotypen zonder kruisimmunititeit, meestal subklinisch, maar soms gastro-enteritis, me-

ningitis en voorbijgaande paralyse en huiduitslag. Deze variant kan ook bij runderen (ECBO) en varkens (ECZO) voorkomen.

Genus 2: Rhinovirus (1 van 4)

- komt voor in de neus
- Zeer zuur stabiel, optimale temp = 33 C
- Zijn diersoortspecifiek
- Rhinovirussen van de mens: 113 serotypen zonder kruisimmunitet en veroorzaken normale ontstekingen van de neusgangen met meestal geen symptomen. Of te wel het zijn gewone verkoudheden.
- Komt bij veel diersoorten voor oa ook het paard en het rund.

((((Genus 3: coronavirus)))

- niet stabiel
- Vnl bij muizen soms een bij de mens en kan myocarditis veroorzaken.

Genus 4: Aphthovirus (1 van 4)

- aphto = blaas
- Bevat het mond en klauwzeervirus. En veroorzaakt dus blaren in de mondslijmvliezen en aan de kroonrand bij spleethoevigen.
- Niet stabiel
- Heeft 7 serotypen: A, O, C, SAT1, SAT2, SAT3 en ASIA1.
- Elk serotype heeft verschillende subtypen alles bij elkaar ongeveer 50 bv A₁, A₂ enz.
- Alleen A, O en C komen bij ons voor.

Genus 5: Hepatovirus (1 van 4)

- bevat het hepatitis virus A van de mens, wordt verspreid via orale-fecale verspreidingsweg en is pas recent op celcultuur gekweekt.

Familie TOGAVIRIDAE

- Globaal kennen
- toga = mantel
- Positieve polariteit
- Kubisch
- Bevat envelop
- Meestal door insecten overgebracht = arbo-virussen van arthropod borne.

Genus 1: Alfavirus (1 van 2)

- hebben antigene verwantschappen op basis van hun hemagglutinatie-inhibitie. Vermeerderen bij vertebraten en bij muggen. Vogels zijn meestal de vertebraat vector.
- Oosterse encefalitis virus
- Westerse encefalitis virus
- Venezolaanse encefalitis virus
- Alle 3 veroorzaken ze zenuwstoornissen bij mens en paard. Het zijn dus zoönosen.

Genus 2: Rubivirus

- geen verwantschap en niet overgezet door insecten
- Rubella of rode hond is voornaamste vertegenwoordiger. Veroorzaakt huiduitslag bij kinderen en jong volwassenen. Aangeboren misvormingen bij besmetting in 1e trimester zwangerschap zoals doofheid, blindheid, hartaandoeningen ea.

Familie FLAVIVIRIDAE

- flavus = geel heeft betrekking op voornaamste lid, dat gele koorts is.

Genus 1: Flavivirus (1 van 3)

- arthropod borne
- Infecteren zeer veel soorten vertebraten
- Gele koorts virus: mens, koorts, soms fatale (5-40%) hepatitis. Overgezet door muggen en transvariële transmissie komt voor.
- West Nijl virus: ook overgedragen door muggen. Vaak zijn watervogels of andere diersoorten een subklinisch reservoir en virusbron voor muggen.

Genus 2: pestivirus (1 van 3)

- niet door insecten overgebracht en zijn embryopathogeen
- Klassieke varkenspestvirus: veralgemeende ziekte bij het varken zoals, koorts, bloedingen, diarree en CZS stoornissen. En congenitale misvormingen.

((Genus 3: hepacivirus))

- hepatitis C bij de mens

Familie ORTHOMYXOVIRIDAE

- zeer goed kennen
- Myxa: slijm, want ze hebben vooral affiniteit voor de slijmvliezen van de ademhalingswegen.
- Gesegmenteerd RNZ, waarvan elk segment de code bevat voor 1 of meer polypeptide
- Schroefvormig
- 80-120 nm
- Wel envelop
- 4 genera
- Meestal sferisch, maar soms ook filamenteus van vorm en daarom worden ze ook wel pleiomorf genoemd
- Vermeerderen in celkern en cytoplasma
- Alle griepvirussen veroorzaken: koorts, hoofdpijn, spierpijn, soms braken, neusloop, keelontsteking en bronchitis (= hoesten). Vooral voor kinderen, ouderen en verzwakte personen (hartlijders, suikerziekten) kan griep fataal aflopen.

Genus Influenzavirus A (1 van 4)

- eigenlijk gewoon een ander serotype dan B en C. binnen 1 serotype hebben ze allemaal hetzelfde nucleoproteïne Ag, maar is verschillend van de andere serotypen.
- Heeft een hamagglutinine = HA en een neuraminidase = NA externe eiwitten.
- Op basis van hun antigene eigenschappen van HA en NA worden ze nog verder ingedeeld in subtypen als bv H1N1 H1 t/m H16 en N1 t/m N9
- Ze ondergaan gemakkelijk antigene variatie in hun H en N eiwitten. Gevolg is dat de immuniteit van de gastheer die hierop gebaseerd is geheel of gedeeltelijk wordt omzeild. Een kleine mutatie in het segment dat codeert voor bv H1 en een lichte verandering in bv 3D structuur van het eiwit. Noemt men een **antigene drift**. Hierbij wordt er dus niet van subtype veranderd. Als 2 subtypen echter 1 cel binnendringen en gaan vermeerderen kan het ook zo zijn dat er een nieuw subtype ontstaat dat een combinatie is van de 2 vorige. Dit noemt men **antigene shift**. Op deze manier zijn er $2^8 = 256$ combinaties mogelijk. En kan de oorzaak zijn van pandemieën. Zie ook zelf getekend plaatje.
- Ze komen voor bij mens, paard, varken, nertsen, zeezoogdieren en gevogelte.
- De natuurlijke gastheren zijn vnl eenden en wilde watervogels en ze bevatten dan ook alle mogelijke H en N subtypen. Bij deze dieren is de infectie meestal subklinisch. Maar aangezien het virus vrij lang kan overleven kan met de vogeltrek het virus meekomen.
- Bij zoogdieren slechts beperkt aantal typen.

Paard: H7N7 en H3N8
Varken: H1N1, H3N2 en H1N2
Zeehonden: H7N7 en H4N5
Nertsen: H10N4
Mens: H1N1, H2N2 en H3N2
Kip en kalkoen: verschillende subtypen

- sommige type als H5 en H7 worden aangeduid met **hoog pathogeen**, want zij veroorzaken een algemene infectie waarbij de sterfte tot 100% kan oplopen.
- **Laag pathogeen** vermeerderd vnl in het AH stelsel en de infectie verloopt veel milder.
- Meestal zijn deze virussen zeer gastheerspecifiek en als ze al in staat zijn om van varken op mens of vogel op mens over te gaan, dan kunnen ze zich meestal niet binnen die diersoort verspreiden.
- Aanduiden van het virus gebeurt door vermelding van: type/gastheer/plaats van isolatie/evt. stamnummer/jaar van isolatie/subtype. Vb A/Hong Kong/1/68 (H3N2) deze veroorzaakte de pandemie bij de mens in 1968.

Genus Influenzavirus B (1 van 4)

- heeft dezelfde externe eiwitten als influenza A.
- Hoofdzakelijk bij de mens
- Slechts 1 subtype en HA en NA komen niet overeen met dat van influenzavirus A.
- Geen antigene shift en drift niet zo vaak
- Minder ernstig ziektebeeld dan bij type A, toch komen ook hierbij regelmatig epidemieën voor en zit dit dus ook in het griepvaccin.

Genus Influenzavirus C (1 van 4)

- heeft maar 1 extern eiwit = hemagglutinine-esterase of HE
- Hoofdzakelijk bij de mens
- Antigenisch zeer stabiel
- Zeer milde infecties en niet van een verkoudheid te onderscheiden, daarom niet in griepvaccin.

Genus Thogotavirus (1 van 4)

- minder belangrijk

Familie PARAMYXOVIRIDAE

- para = naast
- Niet gesegmenteerd RNZ
- Schroefvormige symmetrie
- Geen envelop
- 2 opp. Eiwitten. NI HN proteïne ipv HA en F van fusie proteïne
- ≥ 170 nm
- Via lucht en druppeltjes over korte afstand verspreid
- Vermeerderen in cytoplasma
- Alle zeer stabiel dus geen shifts of drifts

Genus Paramyxovirus (1 van 3)

- hebben gewoon HA en NA
- Pseudovogelpest of Newcastle disease virus of NCD: veroorzaakt stoornissen van AH en CZS bij gevogelte
- Bofvirus of mumps: veroorzaakt ontsteking van de speekselklieren bij de mens en ook meningitis en orchitis.
- Andere aviaire paramyxovirussen: bij gevogelte en zijn serotypen van pseudo-vogelpest. Hierbij pseudo-vogelpest PMV-1 genoemd en alle andere dus PMV 2t/m8.

Omdat ze allen aviair zijn worden ze ook wel APMV genoemd.

Genus Morbillivirus (1 van 3)

- Hebben geen H of N en zijn verschillend in afmeting. Onderling zijn de wel antigeen verwant en hebben kruisimmunititeit.
- Mazelen virus: veroorzaakt koorts, hoest, neusloop, donkerrode vlekjes in mond en keeluitslag. Ook stoornissen in CZS kunnen voorkomen. Fatale pneumonie kan voorkomen. Ook hersenvliesontstekingen kunnen optreden die dan dodelijk zijn.
- Hondenziektevirus: veralgemeende ziekte bij honden met conjunctivitis, diarree, AH en CZS stoornissen

Genus Pneumovirus (1 van 3)

- tropisme voor longen
- Respiratorisch syncytieel virus = RSV: bij de mens veroorzaakt het pharyngitis, acute bronchitis en kroep. Bij kinderen soms fatale afloop.
- RSV bij het rund: acute AH stoornissen bij jonge runderen van meestel het vleestype en dikwijls met fatale afloop.

Familie RETROVIRIDAE

- In detail kennen
- RNZ is positief
- Integratie in cellulair genoom mogelijk (provirus)
- 80-100nm
- Hebben diploïd genoom
- Enigste RNZ met tumorvirussen
- Gag-gen: codeert voor de interne niet geglycosyleerde eiwitten en zijn hetzelfde voor alle retrovirussen in 1 diersoort.
- Pol-gen: codeert voor het reverse transcriptase, want normaal wordt het DNA afgeschreven tot RNA en dan tot een eiwit. Nu wordt ssRNZ omgezet in ssDNZ en dan in dsDNA dat in het normale DNA is ingebouwd. Gevolg is dat alle nakomelingen van deze cel ook deze provirussen hebben ingebouwd.
- Env-gen: codeert voor de matrix en envelop proteïnen.
- Virusvermeerdering gebeurd in kern en cytoplasma. In tegenstelling tot de meeste DNZ tumorvirussen komt hier wel infectieus virus vrij.
- In vivo worden er vooral kwaadaardige tumoren in het hemotopoëtisch stelsel gemaakt.
- Ingedeeld in 7 genera. Binnen 1 diersoort hebben de retrovirussen een redelijk homologie in nucleïnezuursequentie.

Structuur virus van binnen uit:

- Genoom + nucleoproteïne is complex
- Schroefvormig kapsied
- Envelop en glycoproteïnen

Genus Alpha-retrovirus (1 van 7)

- de alpha, beta, gamma, delta en epsilon virussen zijn de eigenlijke RNZ tumorvirussen. En ondergaan regelmatig recombinatie onderling, maar ook met cellulaire DNZ fragmenten = oncogenen. Vooral die laatste kan nieuwe virussen doen ontstaan, daarbij ontbreekt wel een stuk van het RNZ virus genoom. Hierdoor hebben de meeste van deze virussen een helpervirus nodig om te worden overgedragen.
- RNZ-tumorvirussen van vogels die lymfoïde leukose, reticulo-endotheliose en tumoren van hematopoietische stamcellen veroorzaken.

Genus Beta-retrovirus (1 van 7)

- muis mammair tumorvirus en ook verschillende oncogene retrovirussen van apen.

Genus Gamma-retrovirus (1 van 7)

- leukemievirus van de kat dat leukemie, lymfosarcoma en leukemiegeassocieerde ziekten laat ontstaan.

Genus Delta-retrovirus (1 van 7)

- leukosevirus van het rund: veroorzaakt enzoötische boviene leukemi en persisterende lymfocytose
- Oviene pulmonaire adenomatose of carcinoomavirus. Geeft de zogenaamde jaagziekte. Longtumoren verschijnen 1-3 jaar na infectie. Is de meest voorkomende tumorale aandoening van schapen in Nieuw-Zeeland
- Humae T-cel lymfotrope virussen. Veroorzaken leukemie bij de mens.

genus epsilon (1 van 7)

Genus Lentivirus (1 van 7)

- persisterende infecties, chronisch traag en progressief, altijd fataal
- Ondergaan gemakkelijk antigene variaties
- Als het virus is vermeerderd en ingebouwd als provirus, wordt het in tegenstelling tot de andere virussen niet tot expressie gebracht, maar blijft als latente vorm aanwezig.
- HIV = humaan immunodeficiëntie virus = veroorzaker van AIDS. Heeft 2 serotype nl HIV-1 en HIV-2. Ze worden seksueel, iatrogen of perinataal overgezet. In 1959 was het al aanwezig in Zaïre.
- Simian immunodeficiëntie virus of SIV; bij wilde apen. HIV-2 lijkt meer dan HIV-1
- Feliene immunodeficiëntie virus of FIV: bij zieke en gezonde katten aangetroffen. Ziekte tekens zijn allerlei aandoeningen van de slijmvliezen
- Bovien immunodeficiëntie virus of BIV: pathogene betekenis nog niet bekend.
- Equine infectieuze anemie virus of EIAV: persisterende infectie bij paarden met koortsperiodes en anemieaanvallen.
- Alle IV varianten gaan niet over van diersoort op diersoort.

Genus Spumavirus (1 van 7)

- spuma = foam
- Syncytium vormende virussen of foamy virussen.
- Mens, kat rund, aap en nog een paar andere.
- Voor zover bekend niet eens pathogeen laat staan oncogeen.

Familie CORONAVIRIDAE

- globaal kennen
- Positief
- Envelop met spikes
- Meestal gastheer specifiek
- Infecties luchtwegen en spijsverteringsstelsel

Genus coronavirus (1 van 2)

- groep 1: infectieuze bronchitis virus IBV bij de kip: veel varianten, maar geeft AH stoornissen, legdaling en aantasting van de eileider en nieren.
- Groep 2: veroorzaakt bij de kalkoen de blauwe kam ziekte
- Groep 3: - humaan coronavirus HCV: AH stoornissen
 - Transmissiebel gastro-enteritis virus TGEV: diarree met hoge mortaliteit bij biggen.
 - Caniene coronavirus CCV: oorzaak van diarree bij honden
 - SARS corona virus: severe acute respirat syndroom

Groep 4: NK

Genus torovirus (1 van 2)

vergeet de prionen niet. Zie blz 46 van deze samenvatting

Hoofdstuk IV

Virusinactivatie: door toedoen van allerlei fysische en chemische factoren, hetzij natuurlijk of door de mens gepland, verliezen van vermogen tot vermeerdering van het virus in gevoelige cellen. = virucidale werking, want buiten de cel virus vernietigd
≠ chemotherapie die het virus intracellulair verhinderd te vermeerderen.

- vernietiging envelop: nucleokapsied zal ontrollen ==> inactief
- + vernietiging kapsied ==> geen adsorptie meer mogelijk ==> inactief
- + vernietiging nucleïnezuur ==> geen vermeerdering meer mogelijk

Nut: desinfectie, bij productie geïnactiveerde entstoffen, bewaring en gebruik verzwakte entstoffen, bij verhandeling materiaal voor virusisolatie, bij diagnose en beoordeling van gedragingen van virussen. Zie verder door de cursus waarom.

I: algemeen verloop van inactivatie van virussen zie fig 12

Meestal via een exponentiële groeicurve van eerste rang = in eenzelfde tijdsbesef neemt de concentratie van actief virus telkens met 90% af.

De tijdseenheid is afhankelijk van het soort agens (snel dodend of niet) en de concentratie en de resistentie van het virus.

De steilheid van de curve kan op afh zijn van de verticale as. NI effectiviteit en concentratie van het agens, de gevoeligheid van het virus voor het agens en het milieu waarin het virus zich bevind.

Voorafgaande reiniging:

- een **eerste voordeel** is dat de beginconcentratie van het virus lager is en er dus minder tijd nodig is voor inactivatie.
- Een **tweede voordeel** is dat het virus zich niet kan “verstoppen” in organische stoffen, want dan krijg je meer een ontsmettingscurve in fig 12b waarbij op het laatst de inactivatie zeer langzaam verloopt. Bv bij het poliomyelitis virus is het een keer fout gegaan en zijn mensen ziek geworden.
- Een **derde voordeel** is dat je inactiverend agens niet aan bepaalde stoffen kan binden, waardoor het zijn effectiviteit ook niet kan verliezen. Dit geeft ongeveer ook de curve uit fig 12b.

Het is zeer nuttig om de tijdsduur te weten voor inactivatie bij entstofproductie. Veiligheids-halve neemt men 2 tot 3 keer de tijdsduur die nodig is om ziek worden bij vaccinatie te vermijden, bv doordat er niet genoeg gezuiverd was voordien.

II: inactiverende of preserverende agentia

A: fysisch

A1: temperatuur

Meestal vlotte inactivatie bij temperaturen van 60 (na 30 min) tot 100 (na 1 min) graden C.

Er zijn wel enkele uitzonderingen zoals prionen en hepatitis B virus. Normaal afh van:

- hittegevoeligheid van de kapsiedeiwitten van het virion
- Hittegevoeligheid van het nucleïnezuur
- Warmtegraad en duur van inwerking
- De samenstelling van het medium waarin het virus aanwezig is. Als virus beschermd wordt door bv eiwitten dan duurt het langer.

Algemene tijdsduur:

- bij 100 graden: binnen 1 minuut
- 55-60 graden: langer dan 1 minuut tot een uur
- 37 graden: van enkele uren tot dagen
- 22 graden: enkele dagen tot weken
- 4 graden: enkele weken

- -40 graden: enkele jaren ==> ideale temperatuur om te bewaren (-70 graden), maar herhaaldelijk invriezen en ontdooien vooral als het langzaam gebeurt kan nadelige gevolgen hebben.

A2: drogen

Drogen boven het vriespunt is nadelig voor de meeste virussen ongeacht of het gebeurt onder normale of verminderde druk. Uiteraard zijn er uitzonderingen. Het is minder nadelig voor de infectiviteit als het drogen gebeurt door lyofilisatie. Dit is het water uit de virusstock verwijderen bij lage temperatuur en onder vacuüm. ==> poedervormig virus. Gemiddeld dan 2 jaar houdbaar. Vooraleer men kan lyofiliseren voegt men meestal stabiliserende stoffen toe zoals colloïdale stoffen, eiwitpreparaten, polysacchariden of oligosacchariden.

Op deze manier worden de meeste levende virale entstoffen bewaard. Na het opnieuw in oplossing brengen moet de stof nog diezelfde dag worden gebruikt, omdat het virus dan weer gevoelig is aan thermo-inactivatie ea.

A3: ultrasonicatie

Is een mechanische manier. Werkt vnl bij virussen die niet worden beschermd door beschermende stoffen. Virussen zijn hier minder gevoelig voor dan bacteriën.

A4: ioniserende stralen

Door alfa, beta en Xstralen verandert het viraal nucleïnezuur, dus niet de Ag eigenschappen. Men gebruikt dit vnl voor sterilisatie van voedingsstoffen die door virussen zijn besmet.

A5: niet-ioniserende straling

Vnl UV licht. Het werkt doordat bepaalde chemische groepen in het viraal nucleïnezuur het licht absorberen, waardoor er dan veranderingen worden veroorzaakt door energieoverdracht. De gevoeligheid is afh van de golflengte de hoogste gevoeligheid ligt bij 260nm. Normaal is dit proces een curve van 1e rang, maar als er UV absorberende stoffen in het mengsel zitten die dezelfde golflengte absorberen, zijn dit virusbeschermende stoffen.

Veel virussen worden echter goed geïnactiveerd, en daarom wordt dit soms nog als extra veiligheid gebruikt bij de productie van geïnactiveerde entstoffen.

Ze worden ook nog gebruikt voor de sterilisatie van lokalen, werktafels, voorwerpen die niet in de autoclaaf mogen (plastiek).

==> in de zomer worden veel virussen sneller geïnactiveerd door inwerking van zonlicht (UV fractie en warmte). Bv luchtweginfecties komen meer voor in de winter, omdat de vloeistofdruppeltjes in de zomer sneller geïnactiveerd worden (bovendien leven de mensen in de winter veel binnenshuis en opeengepakt)

Let wel op: UV straling heeft geen groot doordringend vermogen, dus is er alleen sterilisatie aan het oppervlak.

Opm: ook virussen overgedragen door insecten komen meer in de zomer voor.

B: chemische

B1: pH van virushoudend medium

De meeste virussen zijn stabiel bij pH van 5-8. Alleen sommige virussen zijn zuurstabiel zoals enteritische virussen die via de maag in de darm komen en dan vermeerderen. Vooral virussen die in het AH-stelsel leven zijn zuurgevoelig.

B2: zoutgehalte en ionensamenstelling van het medium

Meestal niet zo kritisch, maar best bewaard in fysiologische zoutoplossing. Sommige virussen hebben echter de eigenschap om te stabiliseren bij bv toevoeging van Mg²⁺ ionen en

kunnen dan bv ineens wel tegen warmte, terwijl ze anders geïnactiveerd zouden worden door warmte.

B3: organische en anorganische stoffen

Weinig eenvormigheid in deze groep. Algemeen is wel dat bacteriën gevoeliger zijn aan de werking van desinfectia.

Chloor en derivaten:

- werken meestal goed, vnl gebruikt om water te desinfecteren. Vooral enterovirussen zijn resistent. Materialen die een sterke reducerend of bindingseffect hebben zoals oa zware metalen en organische stoffen, benadelen het effect ernstig.

Joodhoudende preparaten:

- vaak goed werkzaam, vnl jodoforen (jood + detergentium) gebruikt, soms bij virussen zonder envelop hoge concentraties nodig

Oxiderende en O₂ producerende middelen:

- bv Ozon. Worden sterk beïnvloed door organische materiaal

Antiseptische zuren:

- perazijnzuur is het meest actief. Enterovirussen (die aan veel andere zaken stabiel zijn) worden hier zeer gemakkelijk geïnactiveerd. Het wordt vooral gebruikt voor de desinfectie van materialen als plastic, roestvrij staal en glas.

Antiseptische alkaliën zoals NaOH of natronloog

- wordt veel gebruikt voor de ontsmetting van hokken, schoeisel, voertuigen enz. maar het nadeel is dat het ook een invretende werking heeft. Maar het werkt tegen alle virussen en snel.

Aldehyden zoals formaldehyde etc.

- talrijke commerciële desinfectantia bevatten dit en de meeste virussen zonder envelop worden hierbij snel geïnactiveerd. Behalve parvovirussen en enterovirussen die resistent zijn.

Formaldehyde = formol

- veel gebruikt bij doden van virussen bij productie van geïnactiverde vaccins, want het werkt in op het nucleïnezuur, zonder dat het de virale eiwitten verandert (dat gebeurt pas in later stadium, dit is ook de reden waarom soms het formol ook weer verwijderd wordt). Het gebeurt het liefst bij kamertemperatuur en op een zo zuiver mogelijk medium, toch vaak nog 3-4 keer langer tijdsduur genomen dan strikt noodzakelijk. Het wordt ook gebruikt voor de ontsmetting van stallen en lokalen en dan meestal onder gasvorm en in een nat lokaal, pas wel op de dampen zijn irriterend voor ogen en AH-wegen.

Fenol:

- werkt in op kapsied eiwitten, zonder het nucleïnezuur aan te tasten, maar werkt slecht bij sommige virussen.

Ethanol en methanol:

- sterk afh van concentratie en temperatuur, en werken meestal onvoldoende

Oppervlakte-actieve en tensio-actieve stoffen:

- veel gebruikt in was-, reinigings-, en dispersiemiddel. Vnl werkzaam door vetoplossende eigenschappen (envelop).

Ethyleenoxide:

- soms gebruikt onder gasvorm, maar is dan ook zeer explosief. Bovendien is de werking twijfelachtig. Wel verdacht van cancerogene eigenschappen.

Bêta-propiolactone:

- werkt oa goed op herpes simplex virus. Is werkzaam bij verschillende pH waarden. Mechanisme echter nog niet gekend. Veel gebruikt bij bereiding geïnactiverde ent-

stoffen ==> aantasting van viraal nucleïnezuur, maar niet van de Ag. Voordeel is dat de stof zelfvernietigend is en dus niet verwijderd hoeft te worden. Maar men vermoet wel cancerogene eigenschappen.

Mutagene stoffen:

- sommige vaak gebruikt. Korte inwerking = geen inactivatie, maar mutatie. Langer toepassing = verliezen van infectiviteit. Vnl salpeterigzuur gebruikt die oa mutaties die zorgen dat adenine, guanine en cytosine kunnen muteren, uit de laatste ontstaat uracyl. Als alleen het uracyl ontstaat heb je een puntmutatie. Dit kan gebruikt worden als je mutanten van virussen wil hebben bv bij viruskweek.

Hoofdstuk V Vermeerderingscyclus van virussen

Zeker een examenvraag.

Gebeurt slecht in aanwezigheid van levende cellen.

Normale vermeerderingscyclus van virussen

One step experimenten: hebben de groeicurve zie fig 13 bepaald. Ze worden in een labo op een celcultuur losgelaten in zo'n grote hoeveelheid dat alle cellen ineens besmet worden. Later wordt dan intracellulair = celgebonden of extracellulair de virushoeveelheid bepaald.

Eclips fase: fase waarin men bijna geen virus terugvindt, omdat alles geïnoculeerd in de cellen zit. De duur van deze fase is virus afhankelijk>

Latente fase: hierbij is het aantal intracellulair virus al wel aan het stijgen, maar is er nog niets uit de cel en bijgevolg dus nog geen extracellulair virus.

Plateau-fase: de cellen zijn structureel en metabolisch niet meer in staat om meer virus te vormen.

Vermeerderingscyclus: wordt in verschillende stadia ingedeeld, maar in 1 cel kunnen meerdere stadia tegelijk doorgaan. Het gaat om 1) aanhechting of adsorptie, 2) opname of penetratie, 3) ontmanteling = vrijstellen van genetisch materiaal, 4) biosynthese van virale componenten en 5) rijping en vrijkomen van nieuw gevormde viruspartikels uit de cel.

Adsorptie of aanhechting

Virus komt louter toevallig een cel tegen. Contact treedt op als de cel gevoelig is. Gebeurt dmv een specifieke ligand (virus) receptor (cel) binding. Dit is een snel verlopend proces dat ook bij lage temp plaatsvindt. Door de specificiteit van de binding is een virus niet infectief voor alle diersoorten en vaak zelfs niet voor alle organen, omdat op die cellen de juiste receptor ontbreekt. Natuurlijk heeft de primaire functie van deze receptoren niets met de virussen te maken. Soms is de binding nog niet genoeg om binnen te dringen en moeten er ook bepaalde co-receptoren aanwezig zijn.

Enkele voorbeelden zie ook eigen getekende figuren.

- humaan rhinovirus subtypen gebruiken de intercellulaire adhesie molecule 1 of ICAM-1 als receptor. Deze is veel aanwezig in epitheelcellen en veel andere lichaamscellen. Ze vermeerderd in aantal bij ontsteking zodat leukocyten en monoccyten beter vasthechten en de weefsels makkelijkere infiltreren. Niet alle rhinovirussen herkennen echter deze receptor en zullen bijgevolg andere gebruiken.
- HIV: heeft als receptor de CD4 molecule die aanwezig is op T helpercellen. Gevolg is tropisme voor deze cellen van HIV. Normaal bindt deze CD4 molecule op MHC-II met antigeen op antigeen presenterende cellen. Echter voor HIV is alleen de CD4 receptor niet genoeg en is er hulp nodig van bv beta-chemokinen receptor, die normaal cytokinen binden.
- Voor influenza is een terminaal siliaalzuur molecule op de oligosaccharide zijketen van een glycoproteïne. Dit komt natuurlijk in veel cellen voor ==> influenza kan in veel cellen infiltreren. Als ligand op het virus aanwezig op iedere HA.

Meestal zijn de bindingen tussen een ligand en een receptor reversibel. Bij influenza bv zal het NA de binding tussen HA en de receptor verbreken. Het virus komt dan los van de doelwitcel. Dit proces heet **elutie**.

Penetratie of opname

Dmv endocytose zie ook fig 14

Meest frequent gebruikt. Normaal gebruiken de cellen dit proces al veel met de bedoeling macromoleculen op te nemen. Gevolg is dat virus in zijn geheel en ommanteld door de cytoplasmamembraan in de cel komt. Dit is een endosoom. Verzuring van het endosoom zal ervoor zorgen dat een van de kapsied of envelop eiwitten een porie vormt in de endosoommembraan. De virale en endosoommembraan versmelten en het nucleokapsied komt vrij in het cytoplasma.

Dmv fusie

Kan maar door sommige virussen en ze moeten een envelop hebben. De envelop versmelt met de cytoplasmamembraan en het nucleokapsied komt in het cytoplasma terecht. Het komt oa voor bij paramyxovirussen en pokkenvirussen.

Artificieel = transfectie

Men brengt geïsoleerd RNZ in de cel. Deze cel zal dan infectieus virus vrijgeven, maar dit kan niet de omliggende cellen beïnvloeden. Er moeten voor zulke proeven wel speciale voorwaarden voldaan worden en het is nooit zeer efficiënt.

Ontmanteling

Bij de fusie komt het nucleokapsied direct in het cytoplasma. Bij de endocytose zullen cellulaire enzymen de eiwitomhulsels afbreken. Ze doen dit door in het endosoom de pH te laten dalen en de fusie-eiwitten op de virale membraan te activeren hiermee.

Biosynthese van virale componenten

Voor dat er vermeerdering is zal er nieuwe nucleïnezuren aangemaakt moeten worden. Ook nieuwe virale structurele en niet-structurele eiwitten moeten aangemaakt worden. Bij de meeste DNZ virussen gebeurt de synthese van het DNZ in de kern. Maar zie hiervoor eerder. Bij de meeste RNZ virussen gebeurt bijna alles in het cytoplasma.

Het gevolg hiervan is dat DNZ gebruik maken van de cellulaire enzymen, die toch al in de kern zitten. RNZ moet echter zijn eigen enzymen meebrengen.

De productie van nieuwe eiwitten gebeurt echter bij alle 2 in het cytoplasma, omdat daar ook de cellulaire structuren een rol in spelen.

Er zullen bij sommige virussen ook eiwitten gevormd worden die de normale synthese van de cel onderdrukken, zodat de productie van viraal eiwit maximaal kan doorgaan. ==> deze virussen hebben meestal een duidelijk pathogeen effect, in ieder geval op de cel.

Conclusie alle virussen moeten mRNZ synthetiseren om aan viraal eiwit te komen. Op basis van het aantal stappen die eraan voorafgaan tot je mRNZ hebt, worden de virussen in 6 categorieën ingedeeld. Zie fig 16. Alle virale nucleïnezuren worden dus voorgesteld als + als ze gelijk in eiwit zonder overschreven vertaald kunnen worden en - als dit niet mogelijk is. Een ds molecule is dus voor de helft + en voor de helft - .

	DNZ	RNZ	
Plaats synthese NZ	kern	cytoplasma	wel paar uitz.
Enzymen voor synthese NZ (polymerase)	cellulair	virus-gecodeerd	
Plaats synthese eiwitten	cytoplasma	cytoplasma	

Replicatie van DNZ virussen zie ook figuur 16a

Viraal dsDNZ wordt mbv cellulaire RNZ-polymerasen of transcriptasen overgeschreven naar mRNZ.

Viraal ssDNZ wordt mvc cellulair DNZ polymerase om dsDNZ te vormen en dan door transcriptase overgeschreven naar mRNZ. Zulke virussen vermeerderen dan ook liever in cellen met hoge mitotische activiteit.

Opvallend is dat bij alle DNZ virussen de transcriptie in een strikt gecontroleerd volgorde gebeurt. Zo zijn er 2 groepen:

- vroege genen: die transcriptie en translatie ondergaan voordat de DNZ wordt gerepliceerd. Daarom zijn dit meestal niet-structurele eiwitten die belangrijk zijn bij transcriptie en replicatie.
- En laten genen waarbij dit gebeurt tijdens de replicatie. Coderen daarom meestal voor structurele eiwitten. Vaak gaat dit gelijktijdig door met het verpakken van de nieuwe viruspartikels.

Bij RNZ virussen is er niet zo'n onderscheid en gaat alles gelijktijdig door.

Replicatie van RNZ virussen

- Positief strengige RNZ virussen binden direct op ribosoom en worden direct vertaald. ==> enige virussen waarbij het naakte RNZ als dusdanig infectieus is. zie ook fig 16b
- Enkelstrengige negatieve RNZ virussen dragen een RNZ-afh. polymerase dat een + enkelstrengig RNZ maakt. Dit dient dan als mRNZ, maar ook als matrix om nieuw -RNZ genoom te maken. Zie ook fig 16c
- RNZ virussen met een gesegmenteerd genoom maken uitgaande van de - streng afzonderlijke RNZ fragmenten die individuele mRNZ fragmenten vormen mbv het viraal transcriptase.
- Retrovirussen hebben mRNZ met + polariteit, maar hiervan wordt mbv reverse transcriptase een enkelstrengig DNZ gemaakt. Er is dus nu een hybride van RNZ-DNZ. Dat dan omgezet wordt naar een dsDNZ. Dit wordt dan in het genoom van de gastheer cel ingebouwd als provirus. En hiervandaan wordt dan viraal RNZ gevormd mbv vorming van mRNZ. Zie fig. 16d

Synthese van virale eiwitten

Aan membraan-gebonden ribosomen voor membraan eiwitten en in vrij ribosomen voor niet structurele eiwitten. De eiwitten moeten dan meestal nog post-translationele wijzigingen ondergaan. Ook moeten ze nog naar het intracellulaire compartiment gebracht worden waar ze hun functie uitvoeren.

Rijping en vrijkomen van virussen uit de cel

Dit mechanisme wordt bepaald door de plaats waar de virusvermeerdering plaatsvindt en het al dan niet bezitten van een envelop.

- DNZ en RNZ zonder envelop: rijping gebeurt resp. in de kern of cytoplasma. En bestaat eruit dat gevormde eiwitten de virale nucleïnezuur molecule gaan omgeven en zo een nucleokapsied vormen. Dit hele proces is ongeordend en niet altijd efficiënt. Er kan een overschot zijn van een van beide onderdelen. De deeltjes stapelen zich in desbetreffend compartiment op en komen vrij als de cel autolyse ondergaat.
- als het wel een envelop bezit zullen de nieuwgevormde nucleokapsieden de kern verlaten. Of direct vanuit het cytoplasma via een omgekeerde invaginatie de cel verlaten en zo dus door celmembraan omkapseld zijn. Dit proces heet ook wel **budding**.

Gedurende de virusvermeerdering zullen reeds bepaalde virale eiwitten in de celmembraan geïncorporeerd worden en deze komen dan zo in de envelop terecht. ==> envelop heeft deels niet en deels wel virusspecifieke resp eiwitten en lipiden.

Conclusies

- virussen zijn voor vermeerdering volledig aangewezen op de cel ==> en dus geen vermeerdering buiten de cel. Ook precursoren als AZ, nucleotiden ea zijn uit de cel afkomstig.
- Er kunnen 10^6 deeltjes vrijkomen uit 1 cel ==> vaak nadelige gevolgen voor de cel, en vooral als er celmetabolisme inhibitoren gevormd worden. ==> mogelijke pathogene effecten.
- Omdat de rijping niet altijd efficiënt gebeurt zullen naast volledig infectieuze virussen ook onvolledig gevormde virussen en zelfs vrij virale eiwitten en vrij nucleïnezuren vrij komen.
- De duur van het vermeerderingsproces is sterk afh van de virussoort. Picornavirussen doen er maar 5-6 uur over, terwijl andere virussen als papovavirussen en 24 uur over doen.

Hoofdstuk 6

Zie slides

Hoofdstuk 7 Kweken van virussen en nagaan van virusvermeerdering

Soorten gastheren

- proefdieren
- Bebroede eieren
- Cel- of weefselculturen

Proefdieren

Gebruik van oorspronkelijke of natuurlijke gastheer: noodzakelijk voor studie pathogenese, immunologische reactie, bepaling virulentie van virus, effect van omgevingsfactoren bestuderen, controle van entstoffen op werkzaamheid en onschadelijkheid en voor primaire isolatie van sommige virussen. Maar soms is het onmogelijk om ethische redenen, ruimtegebrek, kosten etc.

Daarom gebruikt men ook wel laboratoriumdieren, zoals apen, konijnen, muizen, cavia's en hamsters. Voor diagnose, nagaan van tumvorming etc. primaten worden gebruikt om menselijke ziektes te bestuderen die niet in andere dieren of op celculturen groeien. Konijnen worden veel gebruikt voor productie van entstoffen. Etc.

Nadelen:

- intact dier is erg gecompliceerd en gevoeligheid varieert van soort tot soort en vaak erbinnen de soort en zelfs met leeftijd.
- dieren kunnen een besmettingbron vormen voor de onderzoeker
- Ze kunnen antistoffen bezitten tegen het virus en ook subklinische of latente infecties kunnen aanwezig zijn van andere virussen.==> daarom specifiek kiemvrije of SPF = specific pathogen free dieren gebruikt.

Bebroede eieren

Voor het eerst door Goodpasture in 1931. En kon gebruikt worden voor bijna alle virussen die toen waren gekend.

Er zijn 4 verschillende plaatsen voor injectie, zie ook fig 17:

- dooierzak
- Amnion, allantoïs of chorio-allantoïs membraan

Vooraleer men een ei inoculeert zal men het eerst schouwen in een kwikdamplamp om te zien of hij bevrucht is en dus leeft. Men kijkt dan na bloedvaten in de chorio-

allantoïsmembraan.

Effect van virus:

- kan zichtbaar zijn: sterfte, dwerggroei, haardvormige necrotisch letsels op chorioallantoïsmembraan, verdikking of oedeem in de membranen. Enz
- Geen zichtbaar effect: soms, men doet dan virusspecifieke antigenen opzoeken in ei-vloeistoffen. Bv hemagglutinatie met griepvirussen.

Voordelen:

- goedkoop
- Gemakkelijk verkrijgbaar
- Gemakkelijk bruikbaar om grote volumes virus te verkrijgen voor opzoekingswerk of bv entstofproductie

Nadelen:

- aantal virussen dat erin gekweekt kan worden is relatief gering
- Maternale antistoffen kunnen in de dooierzak aanwezig zijn
- Of eieren zijn besmet met transvariële virussen en bacteriën ==> eieren uit SPF kippen.

Celculturen

in 1949 voor het eerst het poliovirus gekweekt. Tegenwoordig kunnen bijna alle soorten weefsels op celcultuur zetten. ==> veel nieuwe virussen ontdekt.

Celculturen hebben het mogelijk gemaakt om routinematig diagnose te stellen, virussen afzwakken of mutanten laten ontstaan voor entstofproductie en biochemische aspecten van virusvermeerdering goed te onderzoeken.

Toch nog een gespecialiseerd werk ivm hoge eisen aan aseptie, glaswerk en samenstelling van media en het is nog steeds kostelijk.

Vereisten:

- **medium**: isotoniciteit, pH tussen 7-8, glucose (een van de chemische bestanddelen die nodig zijn voor de groei van cellen), kalfsserum (noodzakelijk om cellen te doen uitgroeien), AZ, vitaminen, NZ precursoren, deze laatste 3 kunnen gebruikt worden om het medium te verrijken. Ook nog een kleurindicator als fenolrood toegevoegd.
- **Recipiënten** = glaswerk en plastic (dit laatste gebruikt men nu meestal): zuiver, steriel en niet toxisch. Cellen groeien niet als er nog ouder celresten of detergenten achterblijven. Zouten uit het normale water zorgen ervoor dat cellen niet vasthechten.
- **Steriliteit**: ultrafiltratie medium om het te steriliseren, antibiotica, antimycotica in medium, want bacteriën, gisten en schimmels kunnen interfereren met de celuitgroei en zo worden lichte contaminaties ontstaan door de manipulaties van de bereiding van het virus geëlimineerd. Of ze vernietigen of zorgen voor een gecontamineerde virusoogst. Deze stoffen kunnen afkomstig zijn uit het orgaan waar de cellen uit komen of uit het kalfsserum of bv uit het trypsine dat uit varkenspancreassen wordt gewonnen.

Verder kweken gebeurd in een broedstoof. Belangrijk is dat er CO₂ aanwezig is om een buffer te vormen. Als er dus geen hermetisch gesloten kweken zijn, dan dit toevoegen.

Soorten culturen

orgaanculturen of weefselkweek

Kleine stukje = explant uit een orgaan of weefselverwijderd, dmv plasma of collageen aan glas vastgehecht, overspoelt met vloeibaar medium. Cellen groeien uit aan periferie weefselstukje. Kunnen soms dagen tot weken hun orginele functie in vitro bewaren. Vaak gedaan met epitheelweefsel. Als het bij trachea weefsel goed lukt kan men zelfs de ciliën slag nog zien. Ook zenuwweefsel en kraakbeen en ander moeilijke weefsel worden zo gekweekt.

Celculturen

Orgaan of orgaandeel in kleine stukjes gesneden. Die worden behandeld met trypsine, zodat de intercellulaire verbindingen worden afgebroken en er losse cellen ontstaan. Die cellen worden gewassen en geteld en in een bepaalde concentratie aan medium toegevoegd. Het geheel in een broedstuf geplaatst en de cellen zullen zich ongeveer 1 keer per dag delen tot de bodem geheel is bedekt. = **monolaag**. Als je de cellen in suspensie wil houden moet je voortdurend roeren. = **celculturen in suspensie**.

Voordeel monolagen:

- regelmatig en gemakkelijk onder microscoop onderzocht ==> virusvermeerdering goed te volgen

Voordeel in suspensie

- grote hoeveelheden virus te verkrijgen, maar regelmatige controle is moeilijk
- Sommige cellen overleven maar enkele deling bv immunocellen. Andere kunnen vele delingen blijven leven. ==> 3 verschillende soorten cellen in monolaag.

1) Primaire celculturen

Rechtstreeks afkomstig uit orgaan mens of dier of embryo (liefst SPF). Als je dit behandeld met trypsine komen de cellen terug los. Dit kan je in een nieuw recipiënt platen. Dit is dan een secundaire cultuur. In beide soorten hebben de cellen nog hun diploïd aantal chromosomen. Nog verder kweken geeft meestal degeneratie.

2) diploïde celstammen

Als men toch nog verder kweekt krijgen bepaalde cellen een overhand. Deze cellen zijn licht gewijzigd op oa morfologisch vlak. Wel hebben ze nog hun diploïd aantal chromosomen.

3) continue cellijn

Nog verder kweken leidt weer tot afsterven of tot het overgaan op een continue cellijn. Deze cellen hebben de eigenschappen van getransformeerde cellen of kankercellen. Het is veroorzaakt doordat de normale cellen in tumorcellen zijn gedifferentieerd en de overhand in de celcultuur hebben gekregen. Je kan ze ook verkrijgen door rechtstreeks kwaadaardige cellen uit tumoren te kweken.

Voordeel

- ze groeien altijd en het snelst van allemaal

Nadeel

- ze zijn gedifferentieerd en lijken dus minder goed op de oorspronkelijk cellen
- Ze zijn aneuploïd.

Bij continue cellijnen is de contactinhibitie weggefallen, bij de andere 2 soorten is die er nog wel.

Van de meeste diersoorten zijn er vele continue cellijnen beschikbaar.

Over celculturen in het algemeen: is er nog geen uniforme nomenclatuur beschikbaar.

Continue cellijnen mogen niet gebruikt worden om humane vaccins te produceren, omdat er in die vaccins nog tumorresten aanwezig kunnen zijn. Bij dieren mag dit wel, omdat die toch minder lang leven dan een mens. Bij voorkeur gebruikt men bij vaccins voor mensen diploïde celstammen. Een cultuur behoort nog tot deze groep als 75% van de cellen nog diploïd is. Diploïde celstammen en continue cellijnen kan je in een labo invriezen om te bewaren, dit moet echter wel op een bepaalde manier gebeuren (= stoffen toevoegen) om schade aan de cellen te voorkomen. Voordeel

- hiervan is dat je bij afsterven of overgang naar continue cellijn of bij contaminatie weer een oude eerst bereide diploïde stam uit de vriezer kunt halen en je experiment verder kunt zetten.
- dat je celculturen niet meer hoeft te onderhouden als je ze even niet gebruikt

	primaire	diploïd	continu	
Gevoeligheid virus isolatie	zeer hoog	hoog	lager	afh van soort virus

Geschiktheid vaccin productie	ja	ja	nee	mogelijkheid van achterblijven kan kerzellen
Kostprijsbereiding	duur	goedkoper	goedkoopst	
Mogelijkheid tot subculturen	neen	beperkt	onbeperkt	
Risico besmetting	hoog	iets lager	laagst	

Zie ook tabel 6.

Keuze van gastheer voor het kweken van virussen

Sommige virussen zijn weinig virus-cel specifiek en laten zich daarom makkelijk kweken. Andere zijn dat niet en eisen een speciale celsoort. Hierdoor moet er in een labo verschillende culturen aanwezig blijven, waardoor de diagnose mbv een kweek moeilijk en duur wordt. Ook zijn er nog steeds virussen zoals het hepatitis virus van de mens dat helemaal nog niet gekweekt kan worden in vitro en waarvoor nog steeds labodieren nodig zijn. Voor primaire isolatie van een virus, moet men een kweek aanwenden die goed gevoelig is. Voor vaccin productie bij mensen gebruikt men het liefste diploïde cellen, omdat die niet in kanker kunnen ontaarden, maar wel voldoende stof produceren.

Nagaan en/of aantonen van intracellulaire vermeerdering in celculturen

Het resultaat van vermeerdering verschilt per virussoort, maar ook binnen een virus per celsoort. Het resultaat is afhankelijk van:

- symbioose: zowel virus als vereiste cellulaire componenten worden gevormd ==> geen zichtbaar effect.
- Wel remming celmetabolisme, maar geen vernietiging ==> geen duidelijk effect
- Degeneratie van de cel ==> wel zichtbaar
- Transformatie van de cel zonder vorming van virusdeeltjes ==> zichtbaar

Overzicht

Virus intracellulair	virus extracellulair
- hemadsorptie	- hemagglutinatie
- immunofluorescentie	- ELISA
- immunoperoxidase	
- EM	

Meest gebruikte methoden

A. cytopathisch effect of CPE = cytocidaal effect

Duidelijk zichtbare (micro) celveranderingen die vaak verschillend zijn per virussoort. Belangrijkste vormen zijn:

- lyse of celnecrose bv enterovirussen
- Vorming van veelkernige cellen of syncytia zoals respiratorisch syncytieel virus
- Vacuolisatie van cellen bij mucosal disease virus
- Vorming van groepen cellen die aan elkaar kleven bij bv adenovirussen

Tijdstip waarop dit verschijnt verschilt per diersoort. En soms ontstaat het pas na seriepassages waarbij de infectiedruk of selectiedruk wordt verhoogd. Er bestaat geen verband tussen CPE en pathogeniteit bij dieren.

B. inclusielichaampjes

Kan optreden en ook al dan niet als gevolg van CPE. Het zijn bepaalde delen van kern/ en/of cytoplasma van de cel en zijn vaak van virale oorsprong. Ze worden zichtbaar na kleuren.

Het kan op de plaats van virusvermeerdering aanwezig zijn, maar kan ook ergens anders .

C. hemadsorptie

Verschijsel waarbij sommige virussen toegevoegde RBC aan hun oppervlak kunnen adsorberen. Het kan al dan niet in combinatie met CPE optreden. Het is het gevolg van inbouwen van virale componenten als hemagglutinine in de celmembraan.

D. immunofluorescentie zie ook fig 26

Kan direct of indirect.

Direct.

Men maakt eerst een conjugaat door een specifiek antiserum te fluoriseren. Dit antiserum bestaat uit Ig die gericht zijn tegen de virusantigenen dat men wil aantonen. De fluoriserende stof is meestal FITC = fluoresceïne isothiocyanaat. Deze stof zet UV licht om in een hogere golflengte, zodat het een geel/groen licht is dat voor ons zichtbaar is.

De celcultuur met het virus wordt gefixeerd met aceton, waarna het antiserum wordt toegevoegd. Als het virus aanwezig is zal het conjugaat binden. Onder de microscoop wordt dan het licht waargenomen, nadat de cultuur is bestraald met UV licht.

Er ontstaat geen fluorescentie als er geen Ag zijn of als het antiserum niet specifiek is voor het virus.

Indirect

Hierbij worden aan de celcultuur bepaalde virusspecifieke niet gemerkte As (Ig van een bepaalde diersoort) toegevoegd die aan de virusantigenen zullen binden. Hieraan worden dan gemerkte (met FITC) As (verkregen door de eerste As in te spuiten bij een andere diersoort) die gericht zijn tegen de eerste As toegevoegd. Het gevolg is dat er een fluoriserend complex ontstaat, mits de eerste en tweede As kunnen binden.

Deze technieken worden ook wel gebruikt om tumorvirussen aan te tonen waarbij geen volledig virus wordt gevormd.

E. immunoperoxidase of immunohistochemie

Gelijkt op de vorige test. Alleen wordt nu niet gewerkt met een fluorescerende stof, maar met een enzyme zoals peroxidase. Dit enzyme reduceert H₂O₂ om tot H₂O waarbij een kleurstof als diaminobenzidine DAB wordt geoxideerd en neerslaat. Ook deze test kan zowel direct als indirect gebeuren. Het is maar net waar het enzyme aan vast zit. Met immunohistochemie wordt bedoeld dat er ook nog andere enzymen dan alleen peroxidase gebruikt kunnen worden.

F. elektronenmicroscopie

Kan zowel voor virussen in cellen als in extracellulaire vloeistof. Cellen worden gecentrifugeerd, gefixeerd en in ultra dunne sneden gesneden en bekeken. Vloeistof wordt geconcentreerd en eveneens onderzocht. De methode is echter tijdrovend en worden enkel toegepast als andere technieken niet werken of als moet nagegaan worden in een kweek of een virus vermeerderd en dit niet op een andere manier gaat. Hierbij blijft nog steeds gespecialiseerd personeel noodzakelijk.

G. opsporen van het resultaat van de virusvermeerdering nl virus of antigenen in ei- of cellulaire vloeistof

Hemagglutinatie zie fig 27

Deze test berust op het feit dat sommige virussen hemagglutinine in hun kapsied of envelop. Dit hemagglutinine is in staat RBC te binden en zo kan een virus een brug vormen tussen meerdere RBC en zo een deel van een netwerk vormen. Dit uit zich doordat toegevoegde

RBC niet naar het diepste deel van het recipiënt zullen begeven, maar als een netwerk tegen de kant aan kleven.

Sommige virussen kunnen dit ook maar hebben andere membraanproteïnen.

Niet alle RBC zijn hiervoor geschikt ze moeten nl bepaalde receptoren hebben. Mens type O, kippen en cavia's zijn geschikt voor griepvirussen.

Bij influenzavirussen en paramyxovirussen is er nog een ander verschijnsel. Deze virussen hebben nl ook nog neuraminidase in hun membraan zitten. Dit eiwit maakt de binding tussen het HA en de RBC weer los, zodat het effect weer verdwijnt.

Met deze test kan men ook nagaan of een cultuurmedium hemagglutinerende eigenschappen bevat. Hiermee wordt intracellulaire vermeerdering niet rechtstreeks aangetoond, maar wel het feit dat er nieuwgevormd extracellulair virus is, wat een gevolg is van nieuw intracellulaire virus.

Ook kan men eiwloeistoffen op deze manier testen.

ELISA zie fig 28

Enzym linked immuno-sorbent assay. Dit kan virions en virale Ag aantonen in de vloeistof rond de cellen. Het kan ook gebruikt worden om As aan te tonen. Principe

- op bodemoppervlak (microtiterplaat) wordt een As geadsorbeerd die gericht is tegen het aan te tonen virus.
- De te onderzoeken vloeistof wordt toegevoegd. Bv celcultuurvloeistof
- Nu zelfde As als in eerste stap toegevoegd, maar nu wel gemerkt met enzyme. Dit zal op zijn beurt weer aan het Ag binden dat als op de As zit als het Ag aanwezig was in de vloeistof.
- Substraat toevoegen. Als het enzyme aanwezig is (na wassen) zal het substraat worden omgezet en krijg je een kleurverandering die met het blote oog of met de spektrofotometer is te zien.

Vb van enzymen: peroxidase en alkalische fosfatase. Vb van substraten zijn 5 aminosalicylzuur of orthophenyldiamine.

Op de hierboven vermelde techniek die ook wel sandwich ELISA of directe ELISA wordt genoemd zijn verschillende variaties mogelijk.

Hoofdstuk 8: kwantitatie van virussen in een orgaansuspensie op celcultuur vloeistof

Zie ook practicum

Nuttig voor:

- infectiviteitstiter moet bekend zijn bij productie entstoffen voor dosis en verdunning
- Bestudering van effectiviteit van inactiverende agentia
- Groeicurve bepaling
- Bij sommige serologische testen moet men een bepaalde hoeveelheid Ag gebruiken
- Pathogenese studies

Onderscheid nodig tussen aantal infectieuze virussen en totaal aantal virussen.

I: bepalen van het aantal infectieuze virussen

A: titratie

Eerst een serie van 10-voudige verdunningen gemaakt. Deze worden ingebracht in een gevoelige gastheer (cultuur, eieren of proefdier). Dan kijkt men naar ontstaan van oa

Cellculturen: CPE, hemadsorptie ea

Eieren: embryonale sterfte, embryonale afwijkingen, membraanletsels ea.

Proefdieren: klinische symptomen en/of dood

Effect: de verdunning heeft nog infectieus virus.

50% eindpunt: de hoogste verdunning die in 50% van je buisjes/eieren nog effect geeft.

Infectiviteitstiter: omgekeerde van het 50% eindpunt.

Vb

Men wil de hoeveelheid van virus X in een suspensie weten. Zie ook tabel 8.

Effect: CPE in primaire biggeniercellen.

Men inoculeert 0,1 ml van iedere verdunning in 10 buisjes ==> dus 80 buisje geïnoculeerd.

Bij 10^{-5} heeft 50% CPE en 50% niet ==> deze verdunning is 50% eindpunt. Gevolg 10^5 TCID₅₀ (tissue infectious doses 50% eindpunt) is de infectiviteitstiter. Dus de suspensie bevat ongeveer 100.000 virussen per 0,1 ml = 1.000.000 TCID₅₀ per ml.

EID₅₀: egg infectious doses 50% eindpunt ==> letsels veroorzaakt

ELD₅₀: egg lethal doses 50% eindpunt ==> embryo gestorven

PID₅₀: pig infectious doses 50% eindpunt enz.

Vb 2 zie tabel 9

TGE hoeveelheid weten per gram + darminhoud van zieke big.

Men neemt 1 gram darm + darminhoud en maakt een 20% suspensie door toevoegen van 4ml fysiologische zoutoplossing.

Titratie bij jonge biggen nodig, omdat er in celcultuur geen CPE zichtbaar is.

10-voudige verdunningsreeks gemaakt en van elke verdunning 1 ml geïnoculeerd in 6 biggen. Nagegaan hoeveel ziek en gezond er waren zie tabel.

50 % eindpunt ligt tussen 10^{-5} en 10^{-6} . Dus de titer zal zijn $10^{5,5}$,... Per ml

Infectiviteitstiter bepalen:

$$\frac{\% \text{ zieke boven } 50\% - 50\%}{\% \text{ zieke boven } 50\% - \% \text{ zieke onder de } 50\%} = \frac{75 - 50}{75 - 25} = \frac{25}{50} = 0,5$$

De titer is $10^{5,5}$ PID₅₀ per ml suspensie ==> $5 \times 10^{5,5}$ per ml

Als je bv maar 0,1 ml suspensie hebt geïnoculeerd moet je nog maals x 10 doen.

B: plaque forming units PFU fig 29

Tienvoudige verdunningen van een virussuspensie in een bepaald volume toegevoegd aan een monolaag van een celcultuur. Normaal gelachtig medium hierna nog toevoegen ==> nieuwe virusdeeltjes kunnen zich niet verspreiden over de monolaag en dus alleen vermeerdering op de plaatsen en directe omgeving waar oorspronkelijk virus is terechtgekomen. Op deze plaatsten is celdegeneratie ==> plaquevorming. Een plaque is afkomstig van 1 virus (zoals 1 kolonie van 1 bacterie). ==> tellen voor aantal infectieuze virussen. Dan verrekenen met verdunning en antwoord is aantal PFU.

Ook virussen zonder CPE kan men tellen, maar dan immunofluorescent kleuren.

Voor tumorvirussen telt men het aantal haardvormige woekeringen en noemt dit focus forming units FFU

C: pockmethode

Voor virussen die goed afgelijnde necrotische letsels = pock op de buitenzijde van een chorioallantoïsmembraan, dus tussen membraan en schaal vormen. Aangezien daar geen vloeistof zit is er geen verspreiding over de membraan. Men kan deze haarden tellen

II: bepalen van het totaal aantal virussen in een suspensie

A: EM

Tellen van de virussen meestal op basis van negatieve kleuring. Men telt zowel infectieus als niet infectieus, want als die een verandering in hun nucleïnezuur hebben zie je dat niet altijd aan de buitenkant. Kost veel tijd, dus niet routinematig gebruikt.

B: hemagglutinatie zie fig 30

Zie ook eerder. Het is gekend dat er een bepaald aantal virussen nodig is om hemagglutinatie zichtbaar te maken. Dit aantal varieert per virus. Men maakt dus een 2-voudige verdunningsreeks (1 druppel van elke verdunning + 1 druppel van RBC) en kijkt zo hoeveel virus er ongeveer aanwezig is. De eigenschap van hemagglutinatie wordt bepaald door kapsied en envelop, dus men telt ook niet infectieuze virussen.

Hemagglutinatie: tapijtvorming die ook tegen de wanden zit, dus geheel troebel.

Geen hemagglutinatie: RBC zakken uit naar diepste punt: rode stip op bodem.

Vb:

HA nog bij 1/64 verdunning ==> HA-titer = 64 per 50µL of 1280 per ml = 1280 HAE

HAE = hemagglutinerende eenheden 1 = de hoogste verdunning die nog net HA heeft

Deze methode kan gebruikt worden om vermeerdering aan te tonen, bepalen hoeveel virus aanwezig is, virus in zuivere toestand krijgen.

Maar de methode is niet erg gevoelig, omdat veel virus nodig is om zichtbare HA te krijgen.

Vergelijking van de resultaten van de verschillende methoden die gebruikt worden bij het bepalen van een hoeveelheid virus.

Afh van:

- gevoeligheid van gastheer (celcultuur tov dieren) bij titratie
- Gevoeligheid van de methode zelf
 - een is meer nauwkeurig bv PFU tov ID
 - een telt infectieuze de ander totaal aantal virussen

III: bepalen van hoeveelheid Ag in een suspensie

Dmv ELISA.

Men maakt 2-voudige verdunningen en gaat na tot wanneer er nog verkleuring is.

Deze methode toont echter ook niet ingebouwde polypeptide-Ag aan, maar dit is slechts een minderheid. Wel wordt het totaal aantal virussen geteld, en dus niet alleen de infectieuzen.

Hoofdstuk 9: pathogenese van virale infecties

Subklinische infectie: Als een virus wel een dier besmet en vermeerderd, maar als er geen celdegeneratie en dus ook geen ziekte tekens ontstaan. Let op. Het virus wordt wel uitgescheiden en kan dus toch overgaan op andere dieren.

- Een virus kan ook de cel niet vernietigen, maar wel het celmetabolisme remmen, met als gevolg dat sommige organen niet goed ontwikkelen vooral bij foeti. Is een oorzaak van congenitale misvormingen.
- Celdegeneratie veroorzaakt pathologische letsels, ontstekingsreacties en malfunctions met als gevolg ziekte tekens.
- Celtransformatie kan ook ontstaan en kan een aanleiding zijn tot goed- of kwaadaardige gezwellen.

α. Pathogenese en virulentie van virussen

Pathogenese = opeenvolging van gebeurtenissen die zich afspelen tussen binnenkomst van

het virus in de gastheer en tot het moment van sterfte of herstel.

Pathogeniciteit = mogelijkheid van het virus om in een bepaalde diersoort ziekte te verwekken (ook als niet alle individuen van de diersoort ziek worden na infectie)

Virulentie = graad van pathogeniciteit van verschillende virusstammen van een virussoort voor 1 diersoort. Of graad van pathogeniciteit van 1 virusstam voor verschillende diersoorten.

Vb

- hondenziekte is pathogeen voor de hond, maar niet voor de mens
- TGE is pathogeen voor het varken, ook al is de infectie vaak subklinisch
- H5 van aviaire influenza is hoog pathogeen voor kip en kalkoen, maar laag pathogeen voor duif.

A. factoren die virulentie bepalen bij virale infecties

1. Wordt bepaald door virus zelf en door de resistentie van de gastheer.

Virus zelf

- virulentie wordt meestal genetisch bepaald en is afhankelijk van meerdere genen.

Gastheer

- resistentie of graad van gevoeligheid is multifactorieel en kan binnen een diersoort per individu verschillen. Genetisch (bv door een snellere of betere immunrespons op te bouwen), maar ook leeftijd, voedingsstatus, stress = niet specifieke resistentie enz spelen een rol. Specifieke resistentie = immunologische reactie gericht specifiek tegen de aanvaller.

Conclusie:

- om de virulentie te bepalen moet men een proef opstellen waarbij men bv op een zelfde manier en in dezelfde hoeveelheid het virus toedient en dan gaat kijken naar morbiditeit = hoeveel dieren worden ziek, mortaliteit = hoeveel dieren sterven of naar de graad van ziekte = koorts, gewichtsverlies, AH-frequentie, hoest, diarree enz. Bij zulke onderzoeken mag er maar 1 factor wijzigen. Je kan leeftijd wijzigen of werken met verschillende stammen van het virus of bv verschillende diersoorten proberen.

2. Virulentie geassocieerd met genetische make-up van et virus

Moeilijk karwei, want dit is op meerdere genen gelegen. Men heeft een aantal soorten testen uitgevoerd:

Genetische samenstelling virulente en avirulente stammen vergeleken en gekeken naar verschillen.

- is gedaan bij poliovirussen en er is gebleken dat er verschillend verschillen waren over de ganse lengte van het RNZ.

Bij deletiemutanten kijken wat de gevolgen zijn.

- vb van influenza virus: hierbij is de virulentie multigenisch. Essentieel is dat HA gesplitst moet worden dmv een enzym uit virus of gastheer. Bij niet-pathogenen is de binding door arginine verzorgd, bij pathogenen door verschillende AZ met als gevolg dat er dus meer kans is op splitsing en dus op meer cellen te infecteren en dus pathogener te zijn. Een puntmutatie in een avirulente stam kan hiervan dus een virulente stam maken.

Bij virussen met gefragmenteerde nucleïne-zuren door reassorting nagaan op welk fragment of fragmenten de virulentie genen zijn gelegen.

- vb van reovirussen: hieruit bleek dat er 4 genen coderend voor 4 polypeptiden die zicht aan de buitenkant van het kapsied bevinden de virulentie bepalen.

Conclusie

- kennis over de virulentie is noodzakelijk om een goed vaccin te kunnen maken. Bv bij

het vaccinia virus bleek de virulentie multigenisch te zijn en afh te zijn van 7 virale niet essentiële (zonder deze eiwitten is er toch vermeerdering van het virus) eiwitten, waarvan het belangrijkste het thymidine kinase TK gen was. Gevolg het virus vermeerderd na vaccinatie, zodat de immunologische reactie op gang komt, maar er is geen virulentie meer. Kortom een goed vaccin.

3a. Resistentie van de gastheer: genetische aspecten

Ook dit is gebaseerd op meerdere genetische aspecten. Wat te zien is aan het feit dat de meeste virussen gastheerspecifiek zijn, of minder virulent zijn bij hun natuurlijke gastheer en dus meer virulent zijn bij hun exotische gastheer. Bovendien spelen ook fysiologische en omgevingsfactoren een rol. Uit studies is gebleken dat voor de genetische aspecten de resistentie van de gastheer afhangt van:

Cellulaire receptoren: bepaalde receptoren zijn nodig, zodat het virus kan binden en binnen kan geraken. Geen receptoren = niet gevoelig en dus resistent. Dit is het mechanisme dat zit achter de gastheerspecificiteit en het feit dat zoönosen weinig voorkomen.

Genen die immunologische reactie controleren: ze zijn gelokaliseerd op verschillende chromosomen. En verschillende defecten zijn geconstateerd. Gaande van afwezigheid van bv IgA tot totale afwezigheid van B en T-cellen. Hoe meer het defect interfereert met een normale immunologische reactie, hoe minder resistent natuurlijk.

Macrofagen: Hun taak is enerzijds het viraal Ag presenteren en anderzijds ze op te ruimen. Voor beide functies moet het Ag dus eerst opgenomen worden en daar zijn receptoren voor nodig. Het gevolg is dat een virus dus makkelijker in een macrofaag terecht komt dan in een andere cel, omdat het de functie van een macrofaag is om het op te nemen. Als het virus dus een weg vindt om na opname te vermeerderen in een macrofaag is het hier niet resistent.

3b. Resistentie van de gastheer: fysiologisch aspecten

Een van de belangrijkste is de immunologische reactie, als een van de onderdelen hierin is beschadigd, dan is er een verminderde immuniteit. Bv de macrofagen of HIV virussen die inweken op lymfocyten etc. Maar zie hiervoor later.

Leeftijd: Zeer jonge en oude individuen zijn minder resistent. Jonge dieren kunnen wellicht minder goed niet-specifieke afweerfactoren als bv interferon maken, waardoor er minder goed gereageerd kan worden op functionele stoornissen als diarree en er ook een minder goede immunologische reactie is. Oudere dieren zijn fysiologisch en immunologisch een beetje achteruit gegaan en zijn daarom dus minder resistent.

Celdifferentiatie: Sommige virussen vermeerderen bv alleen als een macrofaag differentieert naar een monocyt. En andere vermeerderen alleen in sneldelende cellen. Conclusie: de vermeerdering gebeurt in op een of andere manier geactiveerde (door lichaam zelf als reactie, natuurlijk zoals vernieuwing darmcellen of als reactie op mutagene stoffen) cellen.

Voedingstoestand: Malnutritie kan tot gevolg hebben dat er een verminderde natuurlijke weerstand is thv huid en slijmvliezen, of doordat er meer verspreiding van het virus door het lichaam is, of doordat de immunologische reactie minder goed optreedt of doordat de fagocyten minder actief zijn.

Hormonen, zwangerschap en stress: Veel mechanismen nog niet bekend, maar bij stress zou er onderdrukking zijn van bijnierschors hormonen, wat de gevoeligheid opdrijft. Bij zwangerschap zouden er hormonen zijn die immunodepressief werken wat een functie heeft in behoud van de foetus.

Koorts: wordt geïnduceerd doordat het interleukine 1 of IL-1 inwerkt op het thermoregulerend centrum van de hypothalamus. Het wordt gesecreteerd door macrofagen die hier meer reageren op een ontsteking en daarmee de immunologische respons in gang zetten. Koorts heeft als effect: thermo-inactivatie van het virus, verhoging van de metabo-

le activiteit van de fagocyterende cellen en doordat ontstekingsreacties sneller ontstaan. Interferonen: zie ook vroeger. Worden al vroeg na infectie door bijna alle soorten cellen van de gastheer geproduceerd, maar het meest door lymfocyten. Ze spelen een rol bij herstel van bepaalde virale infectie. Doordat cellen die interferonen produceren niet geïnfecteerd kunnen worden door het virus ==> minder cellen geïnfecteerd. Ook een ander virus kan moeilijker aanslaan. Dit speelt vooral een rol in ziekten die ontstaan door menginfecties.

Secundaire infecties: vaak kunnen bacteriën thv AH en darmslijmvliezen makkelijker binnendringen als de slijmvliezen als zijn verzwakt door virusinfecties.

B. virusintrede in het organisme

Noodzakelijk natuurlijk om ziekte te veroorzaken.

Slijmvliezen:

- AH stelsel: aërosol virus (virus in vloeistofdruppeltjes na niesen of hoesten ontstaan) wordt ingeademd. Opname door cellen in bovenste of diepere of beide luchtwegen, gevolgd door vermeerdering in deze cellen. Zoals rhinovirussen, orthomyxovirussen ea. Van hieruit kan er verspreiding zijn naar andere organen zoals oa bij mazelen en rode hond virussen.
- Spijsverteringsstelsel: het virus komt vnl binnen via opname van geïnfecteerd voedsel of drinken. Het virus moet zuur stabiel zijn, want moet door de maag. Heeft meestal geen envelop, want moet weerstaan aan inwerking van galzouten. Ze kunnen de tonsillen aantasten, het spijsverteringsstelsel zelf aantasten zoals transmissiebele gastroenteritis bij het varken of kunnen verspreiden door het lichaam zoals bv polio.

Conjunctiva: ingetreden virussen, via direct contact met materiaal, water of stof, kunnen de bovenste luchtwegen gaan aantasten, zoals rhinovirussen of kunnen oogaandoeningen geven, zoals adenovirus type 8 bij de mens.

Geslachtswegen: gaat via de slijmvliezen en kunnen soms besmetting geven aan een passende foetus. Denk oa aan AIDS, wratvirus en herpes simplex virus type 2.

Huid: Huid is over het algemeen een goede barrière en er moet dus een defect zijn, wil er infectie zijn.

- toevallige schaafwonde: pseudo-koepokken bij rund en mens en wratvirussen
- Steekwonden van arthropoden: pokken bij varken
 - mechanisch: insect steekt, neemt virus op, steekt weer en geeft virus af, zonder vermeerdering. Zoals bij varkenspokken. Gevolg: korte overlevingstermijn in het insect.
 - biologisch: in insect wel vermeerdering zoals bij gele koorts. Hier wel lange overlevingstermijn.
- Bijtwonden: razernij
- Parenterale injectie: AIDS bij drugsverslaafden

Veel virussen met huidandoeningen worden bijgevolg bv via de AH wegen besmet.

Placenta: kan via de eicel, gameten of gewoon via het bloed. Kan aanleiding zijn voor sterfte of niet in combinatie met mummificatie, abortus, congenitale misvormingen of gewoon een immunologische reactie.

C. infectiotype

1. Gelokaliseerd (oppervlakkige) type van infectie:

Virusvermeerdering en evt de celdestructie gebeurt direct op plaats van virusopname ==> directe ziektesymptomen.

Enkele voorbeelden:

2. Veralgemeend type van infectie:

Algemeen	AH-stelsel Bv griep	Spijverteringska- naal Bv gastro-enteritis	Slijmvliezen van geslachtswegen Bv wratvirus	Wratvirussen thv de huid
virusopname	inhalatie	Per os	coïtus	huidletsel
↓	↓	↓	↓	↓
Bereiken van ge- voelige cellen, vi- rusvermeerdering, celdegeneratie en letsels	Beide in epitheel luchtwegen	In epitheelcellen ==> dunnedarm- vlokken degenerere- ren	In epitheel ge- slachtswegen,	Vermeerderingin epidermis = traag
↓	↓	↓	↓	↓
ziektesymptomen	Neusloop, hoest Graad afh van: in- fectiedruk	Diarree (malabsorptie), evt dehydratatie (na 2- 4d)	met evt letsels of celproliferatie	wratten
↓	↓	↓	↓	↓
Evt IIe virusver- spreiding via bloed of IIe bacteriële in- fecties	en afh van evt bij- komende bacteriële infecties	evt. IIe bact. infec- ties		
↓	↓	↓	↓	↓
Herstel of dood	Herstel of dood	Herstel of dood (na 6-7d)	Herstel of regressie	Meestal spontane regressie (na maan- den)

Meestal eerst een primaire vermeerdering op plaats van intrede, maar meestal zonder letsels. Dan spreiding via lymfe en bloed (viraemie) naar andere weefsels, waar dan uitgebreide ziekte tekens ontstaan.

Viraemie

- virus vrij in plasma rondgevoerd
 - Geabsorbeerd aan RBC of WBC
 - Binnenin RBC: meestal gebeurt dit in een lymfoid orgaan dat de primaire vermeerderingshaard is of draineert. Zoals tonsillen. Gevolg is dat As er niet bij kunnen, want die zitten in het bloedplasma.
- overdracht van moeder naar foetus gebeurt meestal via viraemie, maar hoe is nog niet goed gekend.
- secundaire viraemie kan optreden nadat er in een gevoelig orgaan al uitgebreide vermenigvuldiging is geweest. Iedere keer dat het virus via het bloed verspreid kan er koorts zijn, dus bij sec. viraemie kan er sprake zijn van bifasische koorts. Primaire viraemie is noodzakelijk voor ontstaan ziekte tekens, secundaire soms, maar is meestal gewoon een gevolg van massa-productie.
- soms is er geen primaire vermeerderingshaard, als het virus dan niet gelijk doorheen de huid of slijmvliezen komt (mechanisch via spuiten bv) kan het zijn diep gelegen doelwitcellen niet bereiken en is er geen infectie. Een voorbeeld hiervan is AIDS.

2 onderdelen nu nader toegelicht:

Algemeen	Polio	Mazelen	hondenziekte	Varkenspest
opname	Oraal	inhalatie	inhalatie	inhalatie
↓	↓	↓	↓	↓
Primaire vermeerdering	Tonsillen en dunne darm (geen letsels)	Voorste luchtwegen en regionale lymfeklieren	Tonsillen en regionale lymfeklieren	Tonsillen en regionale lymfeknopen
↓ = Ie viraemie	↓	↓	↓	↓
Secundaire vermeerdering met letsels	Via bloed naar evt CZS met dan paralyse	Inwendige organen met voorkeur voor lymfoïde	Interne lymfoïde weefsels	Reticulo-endotheliaal stelsel = endotheelcellen in milt, wat leidt tot bloedingen
↓ = IIe	↓	↓	↓	↓
Algemene ziektesymptomen, evt secundaire viraemie		Slijmvliezen van AH, mond en conjunctiva. Huid en evt hersenen	Verschiedende slijmvliezen en organen als conjunctiva, datm, longen en hersenen.	Hersenen, longen, darm en baarmoeder met diarree, CZSstoornissen en transplacentaire infectie
↓	↓	↓	↓	↓
Herstel of dood		Fatale pneumonie mogelijk, ontsteking van de hersenen bij 0,1% en hiervan in 10% dodelijk. 50% heeft permanent CZS stoornissen.		
	Al of niet bereiken van CZS is afh van leeftijd, neurovirulentie van de stam => infectie kan subklinisch blijven, maar zelfs dan zit het in de darm, dus uitscheiding en contaminatie aan water en voedsel mogelijk.	Het kan jarenlang latent in de hersenen overleven en heel soms later opflakkeren en is dan fataal.	Jonge honden gevoeliger. Hoe meer een dier As opbouwd, hoe milder het verloop. Als hersenen bereikt worden ontstaan meestal CZS stoornissen. Infectie van slijmvliezen alleen als er genoeg virus is.	Ziekte afh van virulentie virus en leeftijd individu. As in bloed, toch nog primaire vermeerdering mogelijk => verspreiding via lymfocyten => toch nog placentaire overdracht mogelijk => afwijkingen aan foeti.

Infecties van CZS

Kan gebeuren langs het bloed na vermeerdering in andere weefsel, zoals het geval was bij polio. Meestal gebeuren deze infecties per toeval en niet als algemene regel en ook de symptomen kunnen pas weken na vermenigvuldiging in het CZS optreden.

Soms komt het virus in het CZS via de zenuwen na vermeerdering in andere weefsels, zoals bij razernij bv. Aangezien er geen bloed-hersenbarrière overwonnen moet worden zal het CZS altijd aangetast worden als de perifere zenuwen zijn aangetast. Het effect is meestal zenuwceldegenererend.

	Ausjeszky virus varken	Razernij vb hond
Contact met virus	inhalatie	Wonde na bijten door besmette hond, wolf ea (trage verspreiding, dus nog vaccinatie mogelijk)
↓	↓	↓
Primaire vermeerdering	Neusslijmvlies en tonsillen	Lokale spiercellen en bw
↓	↓	↓
Gevoelig orgaan	Hersenen met encephalitis bereikt via de n. trigeminus en n. glossopharyngeus - en baarmoeder en andere organen bereikt via viraemie	Hersenen met encephalitis tot gevolg waar het via centripetale zenuwen terecht komt. Na de hersenen kan het via centrifugale zenuwen in speekselklieren en andere organen komen.

Congenitale infecties

Meeste virussen doen het niet, en als ze al in de uterus terecht komen doen ze dat meestal via het maternaal bloed. Via de genitaaltractus is dit zeer zeldzaam. Veel infecties die overslaan na de foetus zijn subklinisch bij de moeder.

Gevolgen van transplacentaire infectie:

- in vroege fase: resorptie van embryo
- Abortus door aantasting placentair weefsel door bv rhinopneumonie bij et paard.
- Congenitale misvormingen zoals bij rode hond
- Afsterven en mummificatie zoals bij parvovirus varken.
- Geen zichtbare letsels meer creëren van immunotolerantie, dus van dragers, die later een besmettingsbron van andere kunnen zijn. Gebeurd als virus tijdens de selectie van de B-cellen als eigen Ag wordt beschouwd.
- Immunologische reactie uitlokken bij foeti in grosso modo besmetting tijdens laatste trimester dracht. Foetus produceert vnl IgM antistoffen tegen bv parvovirus bij het varken.
- Al dan niet ontstaan van ziektesymptomen korte of lange tijd na geboorte.

Verticale transmissie: via de placenta van moederdier naar foetus. Kan ook bij kippen via het ei.

β. Interferonen en andere vroege cytokinen

Cytokinen = peptiden of glycoproteïnen die een rol spelen als signaalmoleculen tussen cellen. Zijn essentiële componenten van de niet-specifieke afweer. Ze worden massaal en snel na infectie : **vroege cytokinen**, geproduceerd. Hiervoor is alleen Ag contact nodig. Belangrijke zijn: interferonen IFN, tumor necrosis factor- α TNF- α en interleukinen-1, -6 en -8 IL-.. Ze zijn ook betrokken bij de ontstekingsreactie en worden daarom **pro-inflammatoir of inflammatoir** genoemd.

Productie moet snel voorbijgaan zijn, want anders schadelijk voor gastheer. ==> specifieke ziektesymptomen.

Ze spelen een rol bij activatie specifieke immuunrespons, want ze activeren oa B en T-cellen en een ontwikkeling van een mucosale immuunrespons stimuleren.

Meeste effect van cytokinen is lokaal op productieplaats als oa neutrofielen influx. Toch gaan er ook signalen naar de hersenen zodat er inductie is van koorts, sufheid, spierpijn, anorexie en nausea.

1. Interferonen

Belangrijkste van alle cytokinen.

Historiek: was de stof die ontstond na inoculatie van geïnactiveerd virus en die interfereerde met het actief virus.

Tot nu toe zijn er 3 klassen. IFN- α , - β , - γ . IFN- α , - β vaak samen in een soort mengsel geproduceerd. Ze zijn dan ook samen type I interferonen, die direct geïnduceerd worden tijdens een virale infectie en dus behoren tot de niet-specifieke immuunrespons. Alle subtype hierbinnen lijken goed op elkaar en vertonen kruisreactiviteit (varkens IFN- α werkt ook in rundercellen).

Type II, is dus IFN- γ : behoort tot de specifieke afweer, want wordt alleen geproduceerd als een vreemd Ag bindt en de cel aanzet tot proliferatie en deling. Geen kruisreactiviteit, want veel meer specifiek.

	IFN- α	IFN- β	IFN- γ
Producterende cel	Leukocyten vnl monocyt en lymfocyten, maar ook door andere.	fibroblasten	Hoofdzakelijk door lymfocyten. (T en NK)
induceerder	virusinfectie	virusinfectie	Binding van vreemd Ag
Aantal subtypen	Mens +/- 20 zoals IFN- α_1 enz. Gecodeerd door een aantal sterk gelijkende genen => sommige subtypen verschillen maar op 1 AZ en zijn alleen met monoklonale As te scheiden. Ook bij andere dieren meerdere subtypen.	Bij mens maar 1 => ook maar 1 gen. Bij sommige huisdieren meer genen, dus meer subtypen.	1 gen => 1 subtype bij alle dieren.
glycosylatie	nee	ja	ja
Functionele vorm			
Voornaamste effect	Antiviraal, want niet-specifiek	Antiviraal, idem, zie ook eerder.	immunostimulerend
werkingsmechanisme	Inhibitie eiwitsynthese	idem	Verhoogde expressie MHC eiwit en activatie cytoT en NKcellen en macrofagen
receptor	Type I IFN-receptor, op het oppervlak van IFN gevoelige cellen	idem	Type II IFN-receptor.

Synthese van interferonen:

-alleen als bepaalde cellen geactiveerd worden om dat te doen.

Virusinfectie

- opstapeling van ds RNZ lokt IFN productie uit.
- Door productie RNZ en virale eiwitten eigen celmetabolisme geremd => minder IFN repressoren aanwezig ==> meer RNZ.
- Bepaalde structurele eiwitten van virussen zelf lokken een IFN respons uit.

Gewoon aanwezigheid van ds RNZ dat zelf een krachtige IFN productie uitlokker is.

Ook verschillende metabole inhibitoren lokken IFN synthese uit. Het virus produceert die of laat ze produceren zodat de cel geremd wordt in eigen eiwitproductie, zodat ze veel virale eiwitten kan maken.

Effecten van interferon (zie ook fig 31)

IFN bindt aan de IFN receptoren die bijna op alle cellen aanwezig zijn en lokt dan een effect uit.

Antiviraal effect: is vnl voor de IFN- α , - β type. Het effect zelf is niet virusspecifiek, alhoewel het op bepaalde virussen beter werkt. IFN zelf is niet antiviraal, maar ze binden op receptoren van naburige cellen, waardoor die antivirale eiwitten als proteïne kinase R en 2',5'oligo adenylaat synthetase gaan produceren. Dan raakt deze buurcel geïnfecteerd met dsRNZ, waarna de 2 eiwitten de eiwitsynthese remmen.

Proteïne kinase R: IFN bindt => toename concentratie inactief PKR => dsRNZ komt binnen ==> activatie PKR ==> maakt enzyme voor starten eiwitsynthese aan ribosomen inactief ==> remming eiwitsynthese.

2',5'oligo adenylaat synthetase: IFN bindt ==> toename inactief OAS ==> activatie door binnengedrongen dsRNZ ==> activeerd Rnase ==> breekt RNA af (viraal, cellulair en ribosomaal) ==> onderdrukking eiwitsynthese.

Sommige virussen inhiberen de activatie van PKR en OAS ==> tegenwerken van IFN

Andere effecten van IFN

- remming celproliferatie
- Verhoogt capaciteit Nkcellen of geïnfecteerde cellen te lyseren
- Vermindering biosynthese AZ
- Wijziging transcriptie van MHC genen in niet geïnfecteerde cellen.

==> IFN is potentieel lethaal, omdat het de transcriptie van zoveel gevaarlijke genen induceerd. ==> IFN heeft effecten als koorts, slaperigheid, nausea en malaise ==> IFN is een krachtige antivirale molecule, maar wordt in de geneeskunde niet vaak gebruikt.

2. andere vroege cytokinen zie oof fig 32

TNF en IL. α en β

TNF- α : product van geactiveerde monocyt/macrofagen

TNF- β : product van lymfocyten na antigene stimulatie ==> specifieke afweer

IL: kleine homologie, maar toch identieke werking.

Mechanismen: veel minder goed gekend, kan door virusinfectie, maar ook door andere stimuli als lipopolysacchariden uit de Gr- bacteriën en celschade. Ze kunnen dus net als de IFN direct worden vrijgesteld, maar IFN- α kan ook de productie van TNF- α en IL-1 stimuleren. En TNF en IL ook elkaar.

Antivirale eigenschappen: kunnen IFN versterken, maar beperkt.

Ontstekingsreactie: helpen de ontstekingsreactie activeren, doordat ze de expressie van neutrofiële adhesiemoleculen op het vasculair endotheel verhogen. Het IL-8 zorgt dan dat de neutrofielen het weefsel ingaan. Ook bestaan er chemotactische vroege cytokinen die macrofagen aantrekken. Eenmaal in de weefsel stimuleren de vroege cytokinen de

macrofagen en neutrodielen tot een verhoogde fagocytose activiteit en vrijstellen van enzymen.

Andere effecten: koortsverwekkend of pyrogeen (slechtere vermeerdering van virussen bij hogere temp.), inductie van slaperigheid en remming eetlust, vrijstellen van acute fase eiwitten door de lever die nodig zijn om weefsel te herstellen en infectie op te ruimen. En ook activatie van de hematopoëse.

Ook hier hebben virussen ontduikingsmechanismen bedacht, zo produceren ze valse cytokinen receptoren die geen werking hebben.

==> vroege cytokinen zijn zowel positief en negatief.

γ. De incubatieperiode ivm het type van infectie

Incubatieperiode: tijd tussen infectie en ontstaan 1e ziekte tekens.

Gelokaliseerd type: kort 1-3 dagen, want primaire vermeerdering zorgt al voor letsels.

<u>Virale infectie</u>	<u>duur incubatieperiode</u>
Griep	2-3 dagen
Rhinovirussen	1-3 dagen
Coronavirussen	1-3 dagen
Rotavirusinfectie bij kalf	1-2 dagen
Wratten	50-150 dagen = uitzondering, door zeer trage vermeerdering

Veralgemeend type: langer, want eerst verspreiding nodig voor letsel

<u>Virale infectie</u>	<u>duur incubatieperiode</u>
Polio	5-20 dagen
Mazelen	9-12 dagen
Rode hond	17-20 dagen

En natuurlijk zijn er ook ziekte met een uitzonderlijk lange incubatieperiode zoals razernij met 30-100 dagen.

δ. Ziekte tekens, virus excretie en verspreiding im type van infectie

Gelokaliseerd type:

- virus excretie start meestal gelijktijdig met eerste specifieke ziekte tekens en gebeurd langs aangetast orgaan.
- Ze is meestal van korte duur gemiddeld 8 dagen ==> snelle uitbreiding mogelijk via horizontale transmissie

Veralgemeend type:

- virus excretie meestal van zodra primaire virus vermeerdering ontstaat en ook tijdens primaire viraemie ==> dus voordat specifieke ziekte tekens ontstaan.
- Specifieke ziekte tekens worden meestal voorafgegaan door niet-specifieke als koorts, sufheid, geen eetlust, hoofdpijn, moeheid etc.
- Uitscheiding gebeurd langs alle mogelijke wegen van excretie en secretie en duurt gemiddeld 3 weken.
- Verspreiding kan dus ongemerkt gaan en gaat meestal via horizontale transmissie en al dan niet via rechtstreeks contact
- ook **vertikale transmissie** mogelijk: tijdens viraemie
- Ook **iatrogene transmissie** mogelijk: door toedoen van een geneeskundige ingreep. (sommige ziektes hebben na herstel van het dier nog blijvende viraemie. Zo kan je dus

besmet serum van subklinische infecties overbrengen of bv dmv een besmette slokdarmsonde)

- **Blind eindigende ziekte:** als er bij besmetting geen natuurlijke primaire vermeerderingshaard wordt gebruikt, zoals mogelijk is bij AIDS (als dit niet diep doordringt wordt het door de huid tegengehouden). Of door leefgewoonten niet overgezet (een mens met razernij zal niet bijten), of de hoeveelheid uitgescheiden virus is niet genoeg om soortgenoten te besmetten.

ε. Uitzonderingen op het klassieke verloop van virale infecties: persisterende infecties

1. Normaal verloop zie ook fig 33

Besmetting individu = dag 0, met begin virusvermeerdering in 1 of meerdere weefsels
Ziektetekens: ontstaan als hoeveelheid virus ongeveer op een hoogte punt is, dus na incubatieperiode van 2 dagen tot 3 weken.

Reactie van gastheer: via niet-specifieke en specifieke afweerreacties, wat leidt tot eliminatie van het virus, tenzij de ziekte fataal verloopt.

Isolatie van virus: enkele dagen voor tot enkele dagen na ziektetekens periode.

2. Persisterende infecties

A. latente infecties zie fig 34

Bij bv herpes simplex virus (koortsblaren op lippen, mondslijmvlies, oog en encephalitis bij type I en genitale slijmvliezen aantasting bij type II) en varicella zostervirus (windpokken bij kind en zona of gordelroos bij oudere individuen). Zie voor beide aparte figuren

De primaire infectie verloopt acuut of subklinisch, maar na herstel blijft het virus latent in het organisme aanwezig. Na jaren kan nog reactivatie zijn, met uitscheiding van het virus tot gevolg. Dit kan zelfs meerdere malen gedurende het leven. ==>

virusuitscheiding is intermitterend.

Manier van persisteren: het virus (als stukje ingebouwd DNA) kan in het genoom van bv neuronen achterblijven (geen productie van Ag) na primaire infectie: het zit dan intracellulair, dus niet bereikbaar voor het immuunsysteem. Met speciale testen kan het wel altijd aangetoond worden.

Reactivatie: vorming nieuw en geheel virus dat via de zenuwen de huid en slijmvliezen bereikt. Dit gebeurt na stress of bv bij inspuiten corticosteroiden. Of op oudere leeftijd, door bv immunocompromised local injury (varicella). Ook vermoeidheid kan soms een rol spelen. Bij herpes kan ook menstruatie, overdreven blootstelling aan zonlicht of warmte, emotionele stoornissen, zwangerschap en rol spelen.

Vb: Aujeszkyvirus bij varken, rhinotracheïtisvirus bij kat etc.

B. chronische infecties zie fig 35

Na acuut stadium wordt het virus nog lang en **continu** uitgescheiden. Ook hier kan de primaire infectie subklinisch blijven of aanleiding geven tot ziektetekens. In beide gevallen nog jarenlang aantoonbaar.

Verskillende vormen mogelijk als:

Niet herkend worden van virus of bepaalde virale Ag door het immuunstelsel

Vb hepatitis B: geeft geelzucht, meerdere virale infecies aan grondslag mogelijk

Infectie: parenterale injectie door virushoudend bloed of biologische producten. Oorzaak transfusies, nierdialyse, hart-long machines, besmette injectienaalden, scheermesjes,

tandenborstels etc.

Meestal subklinisch, incubatie periode 50-180 dagen, geeft koorts, braken, diarree en geelzucht.

Persisterend bij 0,1-10% van de gevallen, bepaald Ag in serum terug te vinden. Want niet alle besmette individuen maken As tegen een oppervlakte antigeen. Alz ze dit wel doen, wordt al het virus opgeruimd en is er geen drager. Doen ze dit niet, dan wordt niet al het virus opgeruimd en is er wel een drager en heb je een persisterende infectie. Waarom sommige individuen wel en andere niet deze As maken tegen dit oppervlakte Ag is niet gekend.

Vorming van Ag varianten

Vb is infectieuze anemie bij paard

Infectie: subklinisch of acuut en alle dieren blijven na eerste aanval viraemisch en dus persisterend besmet.

Mechanisme: dier bouwt As op, maar virus ondergaat spontane mutatie door deze As druk, zodat de eerste As het virus niet meer uitschakelt. Enz. Natuurlijk zijn er wel veel As-Ag complexen aanwezig die na jaren in glomeruli neer kunnen slaan en zo immunopathologische aandoeningen kunnen geven als ontsteking van de glomeruli, lyse van de RBC enz.

Ook zwoegerziekte van het schaap is hier een voorbeeld van.

Aantasten van immuunstelsel

Vb AIDS veroorzaakt door een HIV infectie waarbij het virus bindt op de CD4 receptor van de T-cellen en hierin vermeerderd. Gevolg deze T-cellen zullen niet meer in staat zijn een goede immunoreactie op te roepen en de patiënten zijn persisterend besmet.

Immunotolerantie

Vb is varkenspestvirus

Wanneer in bv 2e trimester van de dracht de moeder besmet raakt en dit overslaat naar de foetus, die dan nog geen eigen afweerreactie kan opstarten, zal de foetus het zijn als eigen eiwitten en dus alle afweercellen afdoden die het virus af zullen doden. Gevolg als het dier geboren is zal het nooit As maken tegen dit virus en is dus tolerant.

C. Trage progressieve infecties zie fig 36

Lange incubatieperiode van maanden tot jaren, maar steeds verergerend en meestal dodelijk. Ook immunopathologische aandoeningen lijken hier wel op, want Ag blijven ook levenslang aanwezig en ze verergeren ook gelijdelijk.

Vb is een laattijdige nerveuze vorm van hondenziekte.

Infectie leidt bij een klein aantal honden tot persisteren (onder de vorm van nucleokapsieden, maar geen volledige virussen) van virus in de neuronen in de hersenen. Hier is trage vermeerdering en een progressieve ontstekingsreactie. Het gevolg is demyelinisatie en verergerende zenuwstoornissen.

Een ander voorbeeld is subacute scleroserende panencefalitis SSPE bij de mens, waar ook een soort degeneratie van het hersenweefsel optreedt.

Bij beide is het mechanisme niet goed gekend.

Een ander goed vb zijn prionen, maar zie even verderop.

D. infecties met tumorvirussen

Veel tumorvirussen veroorzaken een persisterende infectie, al dan niet met tumorvorming na verloop van tijd. Dit is dikwijls afh. van genetische resistentie, immunologische reactie, hormonale toestand ea.

Leukose bij kippen: komt voor bij tomen conventioneel gehouden kippen die zichzelf horizontaal via feces en speeksel en vertikaal via het ei kunnen besmetten. Het virus

bouwt viraal DNZ in in de cel. Bij een onvolledige immunologische reactie en/of op gemedieerd vlak onvolledig, zullen niet alle cellen met DNZ worden afgedood en blijft het virus persisterend aanwezig.

Jonge kuikens die zich besmetten reageren vaak immunologisch niet goed genoeg en behouden levenslange viraemie en zullen later vaak klinische leukemie vertonen.

Kuikens van 4-5 weken bouwen wel een goede immunologische reactie op en hebben later geen leukose

Bij verticale transmissie krijg je immunotolerante kuikens die hun leven lang virusuitscheiders blijven.

Ook leukemie bij de kat en de ziekte van Marek bij kuikens zijn hier voorbeelden van.

Prionen

Zie ook laatste blad H3 (blz 55) en stukje op blz 140 van H9

Vb van een echte trage progressieve infectie, behalve dan dat het geen virussen zijn.

Veroorzaken: subacute spongiforme encefalopathieën zoals scrapie bij schaaap, boviene spongiforme encefalopathie bij rund, encefalopathie bij nerts, kuru en mens, Creutzfeldt-Jacobziekte en Gerstman-Straussler syndroom bij de mens.

Letsel: vacuolisatie van de neuronen ==> sponsachtig uiterlijk bij histologie.

Oorzaak: prionen, zijn zeer klein (30nm), niet te zien met EM, zeer resistent aan chemische en fysische agentia (UV, γ -stralen of hitte), niet herkend door immuunsysteem ==> geen ontstekings of immuunrespons, persisteren het ganse leven in de gastheer, zijn infectieuze eiwitten, bevatten geen nucleïnezuur, doen niet aan vermeerdering, zeer lange incubatieperiode, unieke letsels beperkt tot CZS.

Veroorzaken in de hersenen opstapeling van eiwitten, doordat ze oiv prionen niet meer worden afgebroken, wat in normale hersenen dus wel gebeurt (dus normaal ook aanwezig, maar de rol van de eiwitten is niet gekend)

Historiek: waren vroeger in diermeel aanwezig, maar dit werd nog zeer zorgvuldig geproduceerd, door te verhitten en te bewerken met allerlei agentia. Gevolg was dat de prionen toch onschadelijk waren. Men wilde goedkoper werken en deed een aantal stappen niet meer. Gevolg was actieve prionen in diermeel. Pas een paar jaar later ontdekte men meerdere rare ziektegevallen (lange incubatieperiode meer dan 18 jaar mogelijk), maar tegen de tijd dat het verbod op prionen houdend weefsel in diermeel erdoor was, waren heel veel koeien besmet, ook die nog geen tekens vertoonden en zag men dat het ook werd overgedragen naar de mens.

Uiteindelijk is de ziekte dodelijk.

Spreid zich alleen door opname van de schadelijke prionen door soortgenoten, andere dieren of de mens. Kan peroraal zijn via beendermeel, maar ook door hersenchirurgie met besmette instrumenten of inspuiten van groeihormonen gemaakt uit de hypofyse van besmette individuen.

Ze worden apart geklasseerd als niet-conventionele infectieuze agentia

PrPc = normale cellulaire prioneiwitten, nog wel afgebroken

PrPsc = aangetaste eiwitten (scrapie) door prionen niet meer afgebroken. Ze hebben een veranderde tertiaire structuur.

PrPc + PrPsc => PrPcPrPsc => PrPscPrPsc => 2x Pr Psc enz.

Hoofdstuk 10

Immunologische reactie bij virale infectie

Virus komt binnen ==> macrofaag fagocyteerd en presenteerd op MHCII ==> herkenning door CD4+ lymfocyten = Th1 cellen, ze vermeerderen en produceren lymfokinen ==>

- die trekken monocyten aan die prolifereren en differentiëren tot geactiveerde macrofagen ==> ontsteking

- die Th2-lymfocyten ook lymfokinen laten produceren ==> trekken geschikte B-cellen aan die daarop differentiëren en delen tot plasmacellen

De virus geïnfecteerde cellen presenteren virale peptiden op MHCI dit wordt herkend door Tc die daarop geactiveerd worden.

Tc piek: 1 week na infectie

As piek: 2-3 weken na infectie

NK piek: 2 dagen na infectie

Interferonen piek: kort voor vorming nieuwe virussen

As: geproduceerd in milt, regionale en interne lymfeklieren, darm-geassocieerd lymfoïed weefsel (GALT) en bronchus-geassocieerd lymfoïed weefsel (BALT).

Virale Ag komen hierin terecht via bloed en lymfevaten tijdens de viraemie. Die reactie is productie van As van vnl IgM en IgG type.

In de slijmvliezen (BALT en GALT) is er vnl direct contact en produceren vnl IgA As. De As kunnen eventueel ook na productie in het bloed geraken.

Humorale immuniteit

Actieve opbouw

Besmettings hoeveelheid Ag klein, maar na vermeerdering hoog.

Virussen meestal goede Ag.

Bij vermeerdering komen meestal meerdere soorten Ag vrij ==> meerdere soorten As gevormd oa tegen interne en externe eiwitten. Soort As vaak volgens functie benoemd:

- neutraliserende
- Hemagglutinatie inhiberende
- Complement bindende
- Precipiterende
- Indirect immunofluorescerende, enz
- ELISA-AS

B-cel epitopen: meestal op buitenkant van virale eiwitten gelegen en kunnen zeer variabel zijn.

Specifieke As: kunnen binden op elk bereikbaar epitoom, maar enkel die genen met een grote aviditeit voor bepaalde epitopen kunnen de infectiviteit van het virus neutraliseren. De voornaamste As voor neutralisatie is die die bindt op de plaats op het virus dat bindt aan een receptor van de doelwitcel.

Neutralisatie: als alle virale Ag bedekt zijn met As kan er geen adsorptie meer plaatsvinden, dus geen infectie. Maar als er nog 1 Ag over is kan de neutralisatie ook na adsorptie en penetratie in de doelwitcel plaatsvinden. Mechanisme ongekend.

Kinetiek van As vorming: zie ook fig 38

Soort Ig geproduceerd hangt af van soort virus en vooral van de pathogenese van infectie.

- 1e soort geproduceerde As = IgM: beschermend, maar slechts enkele dagen aanwezig.
- IgA en IgG: beschermend, maar pas na 7-10 dagen geproduceerd met hoogtepunt op 3-5 weken.

Oppervlakkige infectie:

- lokaal IgA As inductie, maar ook IgG in bloed. Toch zal IgA moeten zorgen bij herinfectie voor directe neutralisatie, zodat er niet of zeer weinig vermeerdering zal zijn.

Algemene infectie:

- vnl de IgG in serum zijn belangrijk voor neutralisatie, alhoewel ook de lokale IgA in de primaire vermeerderingshaard een rol spelen. Het virus zal toch doorbreken naar de bloedbaan, maar hier zullen dus de IgG's zorgen voor neutralisatie. Bij vaccinatie is het voldoende om bij zulke types van infectie, alleen IgG op te wekken.

Bij afwezigheid van herinfectie, zullen IgG's verschillende jaren in het serum aanwezig blijven. De IgA's slechts enkele maanden tot 1 jaar aantoonbaar zijn.

Maar immuniteit niet alleen afhankelijk van tijdsduur bestaan Ig's, want algemeen type van infectie is meestal gebaseerd op stabiele Ag, dus weinig mutatie van nature uit, dus ook 2 jaar later wordt het virus nog herkend. Bij het oppervlakkig type komt veel meer mutatie voor in de Ag, waardoor het virus na een tijdje toch niet meer herkend wordt.

Levenslange immuniteit bestaat dus niet, maar voor veel virussen kom je later na je vaccinatie nog geregeld wild virus tegen, wat dan zorgt voor een nieuwe booster van je vaccinatie.

Ondanks humorale immuniteit, kan er toch nog uitzaaing van het virus naar bv de baarmoeder zijn, zonder dat de moeder ziek wordt. Het virus komt nl binnen in zijn primaire vermeerderingshaard bij algemeen type van infectie. Het zal dan niet voor ziekte zorgen, omdat bij viraemie de IgG's in het serum dat voorkomen. Toch zullen een beperkt aantal virussen vermeerderen in bv lymfoctyen en zo in de bloedbaan terecht komen. De IgG's kunnen er dan niet aan en vervolgens kunnen de virussen oiv diapadese de baarmoeder bereiken, eenmaal als ze in de foetale weefsels zitten, kunnen ze ongestoord hun gang gaan, omdat de Ig niet transplacentabel zijn.

Maternale immuniteit

Is de meest bekende vorm van passief verkrijgen van As. Elke pasgeboorne komt met veel infectieuze agentia in aanraking en zelf is hij nog niet genoeg beschermd. Daarom geeft de moeder direct As via maternale immuniteit die de boorling enkele weken tot maanden beschermen. In tussentijd wordt de foetus zelf immuno-competent.

Er zijn 2 soorten:

Colostrale immuniteit

As in hoge mate in colostrum aanwezig, die passeren de eerste uren nog ongeschonden door de darm van het jong. Het zijn vnl IgG's, maar ook IgA en Ig M. Bij de mens kunnen de IgG wel via de placenta. De pasgeboorne zal zo beschermd worden tegen algemeen type van infectie.

Ook zijn in het colostrum IgA en IgM aanwezig. IgA zullen vooral lokaal in de darm bescherming bieden. Dit kan een oorzaak zijn waarom vroege vaccinaties niet aanslaan. De Ag in het vaccin worden door de lokale IgA's vernietigd. Deze vorm van colostrale immuniteit stopt als er niet meer wordt gezogen. Deze vorm is eigenlijk al lactogene immuniteit.

Bij rund en paard: 5 maand colostrale As aanwezig in bloed

Bij schaap: 4 maand

Bij varken: 3 maand.

Lactogene immuniteit

Treed op zodra colostrumfase voorbij is. Vnl IgA's zullen in de melk bij monogastrale diersoorten aanwezig blijven. Ze beschermen zoals hoger beschreven tegen lokaal aanslaan van het virus. Dus bij het spenen houdt deze immuniteit in een keer op en krijg je bij biggen dus ineens speendiarree.

Een probleem licht bij de slijmvliezen van de AH-wegen. Deze worden dus niet lokaal door de IgA van de melk beschermd en ook de IgG uit het bloed komt niet in voldoende maten toe om langdurig en genoeg immuniteit te bieden.

Hoofdstuk XI: laboratoriumdiagnose van virale ziekten.

Diagnose noodzakelijk, want

- klinische diagnose betreffende virale ziekte is niet altijd betrouwbaar
- Voor een goede behandeling is een goede, liefst snelle diagnose noodzakelijk
- Preventie van niet/besmette individuen op bedrijven en het economisch rendabel houden van de teelt.
- En diagnose van aangifteplichtige ziekte.

Daarom is het fijn dat de laatste decenia de methode om de virale diagnose te stellen veel betrouwbaarder, minder omslachtig, dus in praktijk uitvoerbaar, goedkoper en veel sneller kunnen gemaakt worden.

Vereisten voor het materiaal voor een goede virologische diagnose

- verzameling op een optimaal tijdstip, zodat er een zo groot mogelijk concentratie is.
- Onder goede omstandigheden bewaard zijn en aan labo verzonden, zodat het niet gecontamineerd is, verdwenen is, beschadigd is etc.
- Voorzien zijn van goede anamnese, zodat het labo een juiste test al naargelang het soort monster, diersoort, aan te tonen virus en bv mogelijke contaminatie kan inzetten om toch een juist resultaat te krijgen. Men moet de juiste celsoort kiezen, want virussen zijn meestal zeer specifiek.

Moelijkheid hierbij is dat het virus ook nog eens gemaskeerd kan zijn doordat het is gebonden aan cellen, of als er nog geen goed systeem bestaat om het aan te tonen.

Diagnose moet ook altijd gezien worden in verband met de klinische symptomen. Sommige virussen komen bv ook niet pathogeen altijd al voor. En ook een negatieve test hoeft niet te zeggen dat er totaal geen virus is of was.

1. Methoden gebruikt voor diagnose van virale ziekten

Kan op twee manier. Ag aantonen of As aantone. Een ideale test is: snel, gebruiksvriendelijk, gevoelig, specifiek en goedkoop.

A. rechtstreekse detectie

Virus aantonen of virale Ag of viraal nucleïnezuur. Zie tabel 13

a. Aantonen van virus zelf

A1: elektronenmicroscopie EM

- kan direct (na negatieve kleuring) op excreties, secreties of uit material van huiduitslag biopten etc.
- Wordt vaak toegepast als eerste screening om bv makkelijk herkenbare virussen als pokken aan te tonen en daarop dan een meer gespecialiseerde test te doen.

Voordelen

- snelle uitslag mogelijk door directe visualisering
- Er is geen kweek nodig, dus ook moeilijk of niet kweekbare virussen aan te tonen

Nadelen

- groot aantal virussen (10^6 - 10^7 partikels per ml) nodig, wat je meestal alleen in feces en blaarvloeistof \implies materiaal moet verzamelt worden kort na ontstaan klinische symptomen op ogenblik van meeste virusuitscheiding. Vanwege dit nadeel wordt er soms eerst geconcentreerd en gezuiverd. Dit nadeel is te weiten aan de lage gevoeligheid van de EM als diagnostische techniek.

- Virus moet een specifieke, gemakkelijk herkenbare morfologie bezitten om het te kunnen onderscheiden van andere.
- sterk gespecialiseerd personeel en dure micro nodig

A2: hemagglutinatie

- Principe: sommige virussen veroorzaken agglutinatie van RBC
- rechtstreeks mogelijk op excreties, secreties, weefselsuspensies, mits voldoende virus aanwezig.

Voordelen

- virus hoeft niet eerste te kweken

Nadelen

- voldoende virus aanwezig 10^7 voor directe hemagglutinatie, want weinig gevoelige test

β. Detectie van virale Ag

Voor al deze test moet er voldoende viraal Ag aanwezig zijn ==> er moet een goede zorg zijn voor verzamelen van het materiaal, maar zie ook eerder. Voordeel voor al deze testen is wel dat ze snel zijn.

A3: immunofluorescentie

- aantonen van virale Ag intracellulair in weefsels of organen
- Kan op materiaal van levende dieren als drukpreparaten, uitstrijkjes, biopsies, bloedcellen afkrabsels etc. maar ook op weefselsneden van allerlei organen
- Voor principe zie hoofdstuk VII

Voordelen

- geen kweek nodig
- Snel (enkele uren)
- Virus opsporen en identificeren
- Extra voordeel van indirecte IF test is dat niet voor elk virus een apart conjugaat gemaakt moet worden, want het conjugaat moet gericht zijn tegen de Ig van de verschillende diersoorten.
- 2e extra voordeel: gevoeliger, want meer FITC moleculen gebonden per viraal Ag.

Nadelen

- virale Ag intracellulair in voldoende maten aanwezig. En met extracellulaire Ag kan men niets beginnen. ==> cellen moeten nog in tact zijn, dus bv geen postmortale lyse.
- Van te voren bepalen welk virus op te sporen en voor elk virus moet er een apart conjugaat worden gemaakt
- Extra nadeel indirecte IF test je moet wel monoklonale As/Ig in je serum hebben die nergens anders mee reageren, anders weet je nog niet welk virus je hebt

A4: immunoperoxidase of immunohistochemie

- zie voor principe weer hoofdstuk VII
- Intacte cellen zijn nodig

Voordeel

- deze techniek kan toegepast worden op snedes die al zijn verwerkt voor normaal histopatologisch onderzoek.
- Immunohistochemische kleuringen kunnen met een normale microscoop bekeken worden = minder duur.
- Deze kleuringen zijn permanent ==> fluorescentie is dat niet
- Rest van voor en nadelen zie IF-test

A5. ELISA

- is secreties of excreties
- Zie weer hoofdstuk VII
- Ook weer direct en indirect mogelijk zie ook fig 41
- Variatie op de indirecte manier is dat de detector As is geconjugeerd met biotine en dat daaraan het enzym gelinkt avidine en substraat voor het enzyme wordt toegevoegd

Voordelen

- gevoelig
- Specifiek (bepaald door mono of polyklonale As)
- Snel
- gebruiksvriendelijk

A6: immunoblotting (western blotting)

- zie fig 42
- Eerst worden de eiwitten met evt de virale eiwitten gedenateerd en negatief geladen ==> gescheiden op basis van grootte door electroforese op een polyacrylamide gel (neg geladen eiwitten migreren naar positieve pool) ==> negatief geladen eiwitten overgebracht op nitrocellulose membraan (blotting) dmv een elektrisch veld ==> enzymgemerkte As tegenover het op te sporen Ag toevoegen ==> substraat kleurreactie maakt de eiwitband duidelijk.
- Materiaal: excretie, secretie, weefselsuspensies

γ. Detectie van virale nucleïnezuuren = hybridisatie methoden

- rekening houden met natuur van het virale genoom (DNZ of RNZ)
- Principe: ssDNZ of RNZ zal binden (hybridiseren) aan een andere DNZ of RNZ streng op voorwaarde dat de nucleïnezuuren complementair zijn
- Probe of sonde = een gemerkt stukje ss DNZ of RNZ met een nucleïnezuursequentie die complementair is aan deze van het virale nucleïnezuur dat men wil detecteren.
- De probe is dus gemerkt en wordt opgespoord
- In geval van dsDNZ zal men eerst verhitten = scheiden alvorens de probe toe te voegen
- Specificiteit bepaald door: condities als temperatuur en de probe zelf.
- De probe hoeft niet persé het hele virale genoom te bevatten, maar kan ook slechts een stukje. De samenstelling bepaald of het tegen een specifieke virusstam (zeer specifieke code) of juist tegen vele stammen is gericht.
- Merkers van de probes zijn bv fluoresceïne, peroxidase, biotine en digoxigenine.

Voordelen

- virussen die moeilijk te kweken zijn doen het hier goed
- Te gebruiken voor stalen waar virus werd geïnactiveerd tijdens bewaren of transport
- Te gebruiken bij latente infecties waar het virus zich in het genoom heeft ingebouwd en er geen infectieus virus of virale Ag aanwezig zijn.

A7. In situ hybridisatie

Zie ook fig 43

- tegenhanger van immunofluorescentie of immunohistochemie, maar dan op nucleïnezuur niveau.
- Intracellulair in weefselcoupes of uitstrijkjes het nucleïnezuur aantonen

Ook blottechnieken worden toegepast, maar ipv de As, voegt men nu de probe toe.

A8. Polymerase kettingreactie (PKR) zie ook fig 44

- eigenlijk geen diagnostische techniek, maar een methode om in vitro een bepaalde doelwit DNZ-sequentie kan worden vermeerderd. Dit geamplificeerde fragment moet dan nog worden opgespoord
- Men gebruikt 2 oligonucleotiden primers, die tegenover gesteld zijn, een voor elke DNZ streng en die het gen dat vermenigvuldigd moet worden flankeren. Ze worden soms forward en reverse genoemd
- Voor RNZ fragmenten moet men eerst de complementaire streng maken
- Vereiste: men moet het doelwit DNZ kennen
- Principe: Verhitten van het DNZ = denaturatie ==> primers in overmaat toevoegen ==> DNZ-polymerase en deoxynucleotiden wordt er een nieuwe streng gemaakt (Taq-polymerase = hitte bestendig). Deze cyclus telkens herhaald ==> DNZ verdubbelt steeds (na 30 keer = 3 uur heb je 10^6 kopijen).
- Computers gebruikt om primers te berekenen. De primers bepalen de gevoeligheid. Specifiek betekend dat er alleen kopieën worden gemaakt als de bepaalde virusstam aanwezig is. Variabel als er meerdere virusstammen aanwezig zijn.

Voordelen

- geen infectieus virus vereist
- Zeer gevoelig
- Snel halve tot hele dag

Nadeel

- gevaar voor contaminaties, 1 verkeerde kopie en je krijgt een vals positieve test.
- Ook diagnose stellen wordt bemoeilijkt bij deze zeer gevoelige testen, want ook niet-pathogenen of toevallige passanten virussen (die niet noodzakelijk in grote hoeveelheden hoeven te zijn) worden gekopieerd en vermenigvuldigd.

B. onrechtstreekse detectie (mits kweken van virus)

Eerst kweken op proefdieren, bebroede eieren of celculturen alvorens virus aan te tonen. ==> vermits er geen universele celsoort bestaat moet men van tevoren al enig idee hebben met welk virus je te doen hebt. ==> goede anamnese noodzakelijk.

Eerst wordt het van materiaal nl de secreties, excreties, bloed organen etc in een 20% fysiologische zoutoplossing gemaakt, die daarna op met Ab wordt behandeld om de bacteriën te doden en dan geïnoculeerd.

Onderzoek naar het virus in het geïnoculeerd medium, zie tabel 13:

Men kijkt elke dag of er een CPE effect is opgetreden. Zo ja dan doet men hier serologisch onderzoek op (bekende sera tov onbekend Ag) oa hemagglutinatie, inhibitie, hemadsorptie, seroneutralisatie, complement bindings reactie, immunoëlektronenmicroscopie, immunofluorescentie, ELISA enz.. Zo niet dan kijkt men naar hemadsorptie, inclusies, immunofluorescentie, hemagglutinatie in celcultuurvloeistof, ELISA, exalterend = interfererend effect. Als er nu nog geen effect is kan het zijn dat er niet genoeg virus was om aan te tonen of omdat het virus zich nog moest aanpassen aan een nieuwe gastheer. Daarom maakt men dan een 2e passage door celcultuurvloeistoffen en celfragmenten van de 1e passage overenten op een nieuwe cultuur. En de onderzoeksmethode start opnieuw. Na 3 passages is het nog steeds niet zeker dat er niets, was maar om praktische doeleinde gaat men nooit verder.

- ook hier moet voldoende materiaal aanwezig zijn, zie opm van eerder bij onrechtstreekse detectie.
- Bacteriële contaminatie moet zoveel mogelijk worden vermeden, omdat anders bv bebroede eieren overwoekerd worden. Een dier mag voor virologisch onderzoek al wel met Ab behandeld zijn.

- Soms kan het dus meerdere weken duuren voordat er antwoorde is. ==> virologische detectie kost veel tijd en materiaal is duur.
- Geïsoleerd virus hoeft niet altijd de veroorzaker te zijn van de klinische symptomen (bv niet pathogeen maar altijd aanwezig virus of subklinische infectie waar de symptomen van een 2e virus afkomstig zijn), daarom ook overleg met laborant nodig en vooral een goede interpretatie van de resultaten.

C. Aantonen van een virale infectie door serologie zie ook fig 45

Acuut serum: serum genomen van het dier recht nadat de klinische symptomen begonnen.

Convalescerend serum: serum genomen nadat de symptomen zijn verdwenen = 2-3 weken later.

Gepaarde sera: men trekt beide sera, als er in het tweede serum minsten 4x zoveel antistoffen zitten als in het eerste mag het als significant verschil worden aangezien en dus als veroorzaker van de ziekte (het acuut serum kan dus ook geen As bevatten.)

Alleenstaande sera: alleen nuttig als in convalescerend serum geen As zijn ==> is uitsluiting van het virus. En ook nuttig bij pasgeboorne voordat ze colostrum hebben opgenomen om intrauteriene infectie vast te stellen. Als er extreem hoge hoeveelheid As is, maar blijft onbetrouwbaar. En als laatste ook om dragers op te sporen.

Nut van de diagnose:

- resultaten van virusisolatie te bevestigen
- Voor virussen waarbij het direct aantonen van het virus moeilijk is
- Als men niet op tijd was om materiaal te nemen om virus aan te tonen
- Opsporen van een voorbije intrauteriene besmetting.

Er zijn verschillende soorten serologische testen op de markt, de meeste testen de aanwezigheid van meerdere soorten As tegen meerdere oppervlakte Ag van 1 virussoort. De soort test die men gebruikt hangt af van wat men wil aantonen. Een specifieke en gevoeligere test als seroneutralisatie wordt vooral gebruikt om de graad van bescherming aan te tonen. Terwijl minder gespecialiseerde gebruikt worden om een soort virus aan te tonen.

C1: seroneutralisatietest SN zie ook tabel 16 en 17

Principe: bij infectie en immunisatie met virussen zal het dier specifieke As opbouwen die aan het virus zullen binden en zorgen dat het virus zijn infectiviteit verliest. Deze As zijn gericht tegen virale Ag van kapsied of envelop. Men bepaald de titer van de SN-As door na te gaan bij welke verdunning er nog voldoende As zijn om een standaard hoeveelheid virus te neutraliseren.

Men heeft het serum met de As voegt hierbij een standaard hoeveelheid serum en verdund het tot de helft door er bv fysiologisch serum aan toe te voegen. Dan inoculeert men het bij celculturen, bebroede eieren en zelfs dieren. Men kijkt dan of er al dan niet reactie optreed. Gebeurt er niets, dan was er nog genoeg As om het virus te neutraliseren. Is er wel effect, dan weet men dat er niet genoeg As was. Aangezien men weet hoeveel virus er was, want standaard hoeveelheid toegevoegd, weet men ook hoeveel As er zijn. In het gegeven voorbeeld is de SN-titer 16.

Aflesen kan echter pas na enkele dagen, het virus moet wel de kans krijgen om te reageren. SN-As in het bloed zijn een aanduiding voor: voorbije besmetting, maar ook de graad van bescherming bij een herinfectie.

Nadelen: traag duur en technisch veeleisend.

C2: hemagglutinatietest HI zie ook tabel 18

Principe: virussen met hemagglutinerende eigenschappen zullen As opbouwen tegen de hemagglutinatie eiwitten, waar ze op binden = hemagglutinatie-inhiberende As. ==>

het virus kan zich niet meer aan RBC binden.

Weer worden er verdunningen van het serum gemaakt en weer worden ze geïnculeerd en weer wordt er gekeken tot waar er geen reactie, en waar er wel reactie dmv agglutinatie optreed.

De titer van deze test loopt gelijk op met die van de SN test.

Ze is ook een parameter voor de graad van bescherming en de aanduiding van een voorbijge infectie

Voordelen: eenvoudig, betrouwbaar en goedkoop en niet zo specifiek als de SN test

Nadeel: wel iets minder gevoelig dan de SN test.

C3: indirecte immunofluorescentietest IIF zie ook tabel 19

Voordeel:

- vrij groot aantal stalen tegelijk bewerkt

Nadeel:

- niet specifieke reacties treden regelmatig op ==> nut ligt bij testen talrijke sera van grote groepen dieren en niet voor individuele dieren.

Principe: zie indirecte immunofluorescentie voor rechtstreeks aantonen virus. Alleen nu virus en serum onbekend.

Positieve IF tot 1/30 wil zeggen dat er tot die verdunning een Ag-As-aGF complex wordt gevormd, zie ook fig 26

Men kweekt het te onderzoeken virus op microtiterplaten of speciale draagglasjes. Dan fixeert men de cellen dmv aceton. Hieraan worden dan de verdunningen van het serum toegevoegd. Indien er überhaupt As zijn en mits de verdunning niet te groot is zullen ze binden. Dan volgt wassen. Hierna voegt men een fluorescerend antiglobulinepreparaat toe dat zal binden aan je As. Dit gaat men bekijken onder een micro. Indien er genoeg As in je serum zaten zal je een fluorescerende kleur zien en anders niet.

Voordelen:

- microtiterplaten en lamellen kunnen onder gefixeerde toestand lang bewaard blijven, dus kan men ze op voorhand maken en kan er gelijk getest worden bij aankomst sera ==> resultaat binnen enkele uren en vele sera tegelijk te testen.

Nadelen:

- het is niet echt duidelijk tegen welke Ag de As gericht zijn en daarom loopt deze titer ook niet altijd gelijk met die van SN, HI, ELISA, CB enz.

Op deze techniek is ook een variant met het enzyme peroxidase aan het antiglobulinepreparaat gebonden ==> je hebt nu geen dure UV microscoop nodig, maar zie ook eerder.

C4. ELISA

= enzyme linkend immunosorbent assay

- steeds meer gebruikt bij opsporen As

Indirecte ELISA zie fig 46

Principe: Ag van gekend virus geadsorbeerd aan oppervlakte plastic recipiënt. Serum toevoegen ==> As zullen binden aan Ag ==> enzyme gebonden aan een anti-As toegevoegd ==> substraat toegevoegd ==> verkleuring bij positief serum voor As. ==> spectrofotometer bepaald graad van verkleuring = titer bepalen.

Competitieve of blocking ELISA zie ook fig 36

Principe: conjugaat is nu niet gericht tegenover de As of Ig uit het serum, maar As tegenover de virale Ag ==> als er hier een kleur positieve test is dan waren er geen As in het serum.

Voordelen:

- gemakkelijk uit te voeren
- Snel resultaat
- Meerdere sera tegelijk onderzocht
- Geen nood aan culturen of steriele werkomstandigheden.
- Vrij specifiek en vrij gevoelig

Tegenwoordig zijn er voor verschillende virussen diagnostische kits op de markt.

C5: immunoblotting

Gekende eiwitten van virussen worden op een gel elektroforeerd en daarna getransfereerd naar een nitrocellulosemembraan. Strookje van deze membraan worden geïncubeerd in de te onderzoeken sera. Als er As tegen bepaalde virale eiwitten aanwezig zijn, zullen ze op de desbetreffende plaats binden. Dmv enzym gemerkte As (tegen de Ig) worden vervolgens de Ig opgespoord en aangekleurd.

2. Verzameling en verhandeling van materiaal voor een virologische laboratoriumdiagnose

Oppervlakkige infectie: feces, neusvloeit, neusswabs, biopsies ea zowel bij levende als dode dieren. Ook meerdere excreties en secreties en bloed van levende dieren en bij dode dieren ook interne organen.

Tijdstip: virusuitscheiding is meestal maximaal net na begin symptomen, zie ook fig 23. ==> materiaal tot max 2-3 dagen na begin symptomen verzamelen. Geldt vooral voor EM, ELISA, aantonen van inclusies, immunofluorescentie. Voor kweken heeft men iets meer tijd.

Soort virus: AH-stoornissen ==> korte duur van uitscheiden ==> zeer snel verzamelen

Immunofluorescentie: enkel virale Ag binnenin geïnfecteerde cellen aangetoond ==> die cellen moeten aanwezig zijn ==> dus meestal van levende of pas gestorven dieren en ook onmiddellijke verwerking moet mogelijk zijn.

Bacteriële verontreiniging voorkomen: steriel materiaal, materiaal koel (of bevroren) vervoeren in speciale dozen. Vooral nodig voor AH-stoornissen, want deze virussen meestal zeer thermolabiel.

Blaarweefsels, pustulae en pokkenletsels en orgaanstalen: 50% bufferende glycine-oplossing = virus stabiliserend ==> virussen 1-2 dagen houdbaar, mits de temp niet hoger wordt dan 20-22 graden C.

Bloed in mest in goed sluitende recipiënten.

Secreties best met droge katoenen of dacron swabs en in steriele buisjes verzonden.

Sera: verzameling bloed ==> laten stollen in buisje ==> opsturen zo snel mogelijk anders hemolyse en ook bloed niet invriezen, want anders hemolyse ==> hemolyse zorgt voor problemen bij aantonen As. Wel kan men sera verzamelen en invriezen en opsturen of bewaren en dan met convalescerend serum samen opsturen, bovendien ook minder relatieve fouten tussen acuut en convalescerend serum.

Hoofdstuk 12: bestrijding van virale ziekten

Van elk vaccin een vb kennen.

Op 2 Manieren:

- door immunisatie: mits het gebruik van virale entstoffen (vaccins) of door toedienen van As (immuun serum en monoklonale As)

- Door antivirale chemoprophylactica en chemotherapeutica

1. Immunisatie

Op 2 manieren

- hetzij actief door het gebruik van entstoffen = vaccinatie
- Hetzij passief door het toedienen van As (immuun serum, monoklonale As)

Actieve immunisatie door entstoffen (vaccins)

Doel: individu in contact te brengen met een virus of met virale Ag zodat hierdoor een immune reactie uitgelokt wordt, (hopelijk) zonder nadelige nevenreacties. Door deze reactie zal het individu gedeeltelijk of volledig beschermd zijn bij later contact met de virulente vorm (wild virus) van hetzelfde virus of van een aanverwant virus. Bescherming kan bestaan uit klinische bescherming = meeste vaccins (wel infectie maar niet ziek) of uit virologische bescherming (geen infectie meer).

Eisen:

- vaccinatie moet veilig en zonder neveneffecten zijn
- Er moet een effectieve immuniteit tegen ziekte zijn en als het kan ook tegen infectie
- Immuniteit moet zo lang mogelijk blijven bestaan
- Het vaccin moet meerdere maanden houdbaar, dus stabiel zijn.
- Het moet goedkoop zijn voor gebruik op grote schaal en zeker in de diergeneeskunde waar er ook een economische factor is.

Soorten:

- geïnactiveerde vaccins
- Verzwakte vaccins
- Recombinante DNZ technologie

Extra uit de les

1) humorale As versus T-cellen immuniteit

Geïnactiveerd vaccin geeft presentatie door MHCII ==> CD4+ T-cellen ==> B-cellen ==> As

Levend vaccin geeft presentatie door MHCI ==> CD8+ T-cellen ==> cellulaire immuniteit

2)

A. systemische immuniteit = As (IgG) in bloedbaan

Versus

B. Lokale immuniteit = IgA in darm of luchtwegen

Geïnactiveerd vaccin injectie werkt in op A

Levend vaccin (injectie of andere toediening) werkt in op A en B

3) geïnactiveerd vaccin (dubbele primo vaccinatie) frequenter toedienen dan leven verzwakt vaccin (vaak slecht 1 primo vaccinatie, omdat het virus zelf nog vermeerderd en zo zelf een groot genoeg As repons opwekt) zie plaatje.

Huisdieren geen overdracht van As via placenta, wel via colostrum en melk

Colostum	melk
IgG	IgA in moedermelk tot enkele weken in lactatie
Eerst 24-28 uur in darm geresorbeerd	lokale bescherming in darm jong dier
In serum pasgeboorne	
Duur colostrale As varieert van 3 maand (varken) tot 5 maand (paard en rund)	

4) maternale As

- beschermen tegen infectie
- Interfereren met vaccinatie

A. geïnactiveerde entstoffen = dode vaccins

A1: bestaande uit volledig virus (virions)

Meestal is het een virulent virus gekweekt op een gastheer (eieren, celculturen of proefdieren)

==> infectietiter wordt nagegaan om te zien of er voldoende Ag zijn.

==> zuivering door cel en weefselresten verwijderen, zodat het virus niet hierdoor beschermd kan worden

==> inactivatie of doden van het virus dmv een chemisch stof of fysisch agens, zodat het viraal nucleïnezuur wordt aangetast, maar het kapsied en envelop in tact blijven, want die zijn nodig om een As respons op te wekken. Vaak wordt formol gebruikt, maar ook β -propiolactone, ethyleenimine en UV worden gebruikt. De inactivatietijd wordt 3-4 X langer genomen dan strikt noodzakelijk = veiligheidsmarge. Formol mag niet te lang aanwezig blijven, want zal later ook oppervlakte Ag aantasten. Bovendien moet ze ook weer uit het vaccin gehaald worden om irritatie bij de patient te vermijden. De andere genoemde stoffen zijn zelf vernietigend.

==> adjuvans toevoegen: verhogen de immuunrespons tegenover een bepaald Ag zonder er antigenisch verwant mee te zijn.

<u>Adjuvans</u>	<u>effect</u>
Olie adjuvans	depot = Ag komt vertraagd vrij
Aluminium zouten	depot
Bacteriële componenten	macrofagen stimulatie (oa cytokinen en immunomodatoren)
Plantaardige extracten	macrofagen stimulatie
Cytokinen ck	

Laatste 3 zijn nog maar experimenteel

Olie adjuvans worden in de humane geneeskunde niet veel gebruikt, omdat ze kankerverwekkend kunnen zijn.

==> productcontrole op veiligheid en werkzaamheid, vnl om te zien of er geen infectieus virus overblijft. De controle gebeurt op relevante proefdieren.

A2: bestaande uit virale eiwitten (subunit vaccins) verkregen door chemische dissociatie

Vaccins bestaat uit onderdelen van het virion, maar de subunit moet wel de oppervlakteAg van het virion bevatten om werkzaam te zijn.

Principe: virusstock bereid zoals bij A1. Maar ipv behandeling met bv formol nu behandeld met chemische stoffen, zoals anionische detergenten als NP40 en Triton X die externe eiwitten losmaken zonder ze te denatureren. Hierna voegt men een adjuvans toe.

Vb zijn influenza vaccins.

Voordeel:

- minder lokale reacties
- Het risico op aanwezigheid van resterend infectieus virus is praktisch onbestaande

Nadeel: wel duurder, want meer bewerkingen nodig

A3: bestaande uit virale eiwitten (subunit vaccins) verkregen door recombinatn DNZ technologie zie ook fig 47

Principe:geïsoleerde virale genen die coderen voor oppAg (envelop en/of kapsied) kunnen

ingebouwd worden in het DNZ van een plasmide. (op RNZ plasmide moet je mbv reverse transcriptase eerst een DNZ streng maken). De plasmide wordt in een bacterie bv E. Coli of in een eukaryote cel van een gist, insectcellen of zoogdiercellen gebracht. Kweken van deze organismen is productie van de virale genen. Als deze cellen dus vectoren zijn produceren ze dus de virale Ag. Dit kan in grote hoeveelheden. Hierna het virale eiwit zuiveren van de vectoreiwitten.

Moeilijkheden:

- zuivering van de virale Ag kan moeilijk zijn
- De vorm waaronder het virale Ag wordt geproduceerd moet bruikbaar zijn. (bv op welke manier het is geglycosyleerd)
- Vaak is de tertiaire structuur anders dan normaal of onvolledig en is het een minder goed Ag dan normaal. Soms kan dit gecompenseerd worden door meer eiwitten toe te dienen.

Voordelen:

- eenmaal in productie, zijn de eiwitten goedkoop en in grote hoeveelheden te maken.
- Risico op infectieus virus is onbestaande
- Ook vaccinproductie mogelijk voor virussen die niet te kweken zijn.

	gelijkenis met echt viraal eiwit	gebruiksvriendelijkheid / \	max. expressie niveau %
1) bact.		/ \	30
2) gist			1
3) insectcellen			10-30
4) zoogdiercellen	\ \ / \\\ hoger	 lager	<1-10

Voor en nadelen van geïnactiveerde entstoffen

Immunititeit

Meestal wordt alleen humorale immuunrespons geïnduceerd. Bovendien onder de huid ingebracht mbv injectie ==> geen lokale immunititeit en dus minder werkzaam bij oppervlakkige infectietypes zeker van spijsverteringsstelsel en AH stelsel.

Veiligheid

Veilig, want geen vermeerdering, entreactie en geen reversie naar virulent virus. Soms toch reactie op adjuvans of aan andere virale componenten dan de bedoelde Ag. Dit laatste kan verminderd worden door subunit vaccins te gebruiken.

Combinaties

Is mogelijk, doordat er geen interferentie is. Ook combinaties van levend en dood virus kunnen, maar hierbij moet iedere combinatie worden onderzocht op bv of er nog genoeg inactiverend agens overblijft en bv of het dode virus niet het levend virus inactiveerd.

Frequentie van vaccinatie

Altijd parenterale injectie, hoeveelheid Ag moet hoog zijn, anders geen reactie. Daarom zijn ook vaak 2 injecties noodzakelijk.

Bewaring

Het zijn enkel nog eiwitten en geen infectieus virus meer, dus mogen ze vloeibaar verkocht worden en kunnen ze weken bewaard worden.

Productiekosten

Veel Ag nodig in vaccin, dus kosten redelijk hoog, want oorspronkelijke virusstock kan niet verdund worden.

B. verzwakte entstoffen of geattenueerde of levende

Gebruik van infectieus virus dat dus nog in de gastheer moet vermeerderen. Kenmerk is ongeveer geen ziekte door mutatie in viraal NZ. Er ontstaat humorale en cel gemedieerde immuniteit = CMI.

Er bestaan 4 vormen:

1: in natuur teruggevonden:

- bestaande uit homologo virus → virulent → A. op abnormale plaats toegediend
→ in beperkende omstandigheden toegediend
→ B. verzwakt: natuurlijke mutant die lage virulentie vertoont
- C. bestaande uit heteroloog virus: vaccinatie met apathogeen aanverwant virus (kruisimmuniteit)

2: artificieel verzwakt door klassieke methoden

- seriep passages
- Adaptatie aan suboptimale temperatuur

3: artificieel verzwakt door genetische manipulatie

- deletievaccins
- Reassortering

4: virus als vector (“virus carrier” vaccins)

1: in de natuur teruggevonden

A. Zijn homologo aan het oorspronkelijk niet verzwakt virus, of is gewoon het virus. Men dient deze toe onder gecontroleerde omstandigheden die een of andere beperking voor het virus inhouden.

Vb. Besmettelijke ecthyma bij het schaap = zere bekjes: het virus wordt aangebracht op/in de oksel huid of aan de binnenkant van de dij, onder natuurlijke omstandigheden vermeerderd hier niet. Nu zal het toch een immuunrespons opwekken, omdat de dieren er nog niet immuun voor zijn, maar de symptomen zijn niet ernstig en hierna wel beschermd tegen het virus als het op een plaats terecht komt (bek) waar het normaal wel vermeerderd.

B. pseudo-vogelpest B1 stam en La Sota stam: als verzwakte stammen bij kippen teruggevonden onder natuurlijke omstandigheden, bevatten nog wel een lage restpathogeniteit.

C. hiervan zijn verschillende voorbeelden. Berust op het feit dat het aanverwante virus gedeeltelijk dezelfde oppervlakte Ag heeft als het virus waartegen men wil vaccineren en dat tegen deze Ag ook een immuunrespons en dus As worden opgebouwd. Alleen dit aanverwant virus is niet of weinig pathogeen. Het eerste voorbeeld waren de koepokken vaccinaties van Jenner tegen de mensenpokken op mensen.

2: artificieel verzwakt door klassieke methoden

Dit omvat de grootste groep van levende entstoffen. Bedoeling is proberen een mutatie te veroorzaken in het oorspronkelijk virus zodat de virulentie (bijna) geheel is afgezwakt, maar virus moet nog wel goed kunnen vermeerderen in individu, want van de vermeerderingsgraad hangt de immuunrespons af. Bovendien mogen de Ag niet gewijzigd zijn tov het oorspronkelijk wild type virus.

Seriepassages: een van de meest gebruikte methoden. Is talrijke en liefst snelle passages in een niet natuurlijke gastheer = meestal celcultuur.

Mechanisme is niet goed gekend, maar berust op feit dat sommige mutanten beter kunnen groeien dan andere en zo bevoordeeld worden en uiteindelijk geselecteerd. Dus toeval speelt een grote rol, want mutatie moet toevallig aanwezig zijn op gen of genen die virulentie veroorzaken. Als de mutatie een puntmutatie is moet men oppassen voor reversie.

Een tweede manier is dat men gewoon allerlei mutaties laat ondergaan. En dan naderhand selectie doet op deze varianten die bv een gen (virulentiegen) niet meer hebben. Dan gaat men dit virus testen op vermeerderingsvermogen. Als dit nog goed is dan kloont men het en maakt het een goede kans. Bij deze methode is reversie tot virulent virus zeer klein, omdat er een heel gen weg is.

Pasteur gebruikt het al om een hondsdolheid virus te maken.

Het aantal passages is afh van het virus, maar is groot van enkele tientallen tot honderden.

Bovendien moet men vaak controleren of er al voldoende afzwakking is door het virus op zijn oorspronkelijke gastheer te enten.

Criteria voor virus:

- geen erge ziekte tekens verwekken bij enting
- Stabiel ==> geen gevaar voor omgeving
- Bij voorkeur geen uitscheiding, anders moeten de gevaccineerde dieren apart
- Goede immuniteit opwekken
- Produceerbaar zijn op een veilig substraat
- Stabiel tijdens bewaring
- En bij voorkeur een merker bezitten om het van wild type te onderscheiden.

Indien een geschikt virus wordt bekomen, zal men hiervan een grote stock zaaivirus gaan maken dat bedoeld is voor verdere productie. Als dit niet gebeurt dan is ieder lot een nieuwe passage en is er kans dat er teveel afzwakking optreed.

Ieder lot moet getest worden op: onschadelijkheid, afwezigheid van contaminerende agentie en infectiviteitstiter.

Ieder vaccin van dit type moet een minimale infectiviteitstiter = hoeveelheid virus nodig opdat vaccinvirus zeker zou vermeerderen (exp vastgesteld per virus) bevatten. Bij productie moet die hoger zijn dan de minimale titer, want door lyofilisatie en bewaring kan die zakken. ==> vaccins altijd correct bewaren.

Als alles is goedgekeurd, dan wordt het gelyofiliseerd en kan het 1-2 jaar bewaard worden.

Om te vermijden dat tijdens productie het vaccin vervuild wordt, worden vaak SPF organismen gebruikt.

Humane productie: celcultuur, diploïde stammen (voorkeur deze laatste, want eenmalig voor start productie controleren). Terwijl een primaire celcultuur bij iedere nieuwe bereiding ervan gecontroleerd moet worden op vervuilende agentia.

Diergeneeskunde: meestal continue cellijnen.

Chemische mutagenese: zie ook H6: andere methode om mutatie te bevorderen.

Adaptatie aan een niet-fysiologische temperatuur: berust op productie van TS = temperature sensitive en CA = Cold adapted mutanten. Deze zijn vaak minder pathogeen dan het oorspronkelijk wild type virus. De TS mutanten zullen bij een iets lagere temperatuur = permissieve temp. beter vermeerderen dan bij de fysiologische temperatuur = restrictieve temperatuur. CA zullen juist ver beneden de lichaamstemperatuur beter vermeerderen. Maar beide vermeerderen dus niet meer goed op lichaamstemperatuur.

CA: opeenvolgende passages onder steeds lagere temperatuur = selecteren.

TS: mutatie bevorderen naar virussen die beter bij lage temperatuur vermeerderen.

TS: vb = tegen AH-stoornissen bij rund door BHV1. Het virus wordt intranasaal ingebracht waar het vermeerderd, maar geen vermeerdering in de diepere luchtwegen.

CA: vb = influenza bij paard en mens.

3: verzwakt door genetische manipulatie

Vb Aujeszkyvirus deletie gE.

Gebeurt op basis van recombinant DNZ technologie, waardoor vooraf geplante deletie op een bepaalde plaats kunnen worden uitgevoerd. Zie ook weer H6. Enigste voorwaarde is dat

er een DNZ kopie moet zijn, als er dus RNZ is moet men eerst DNZ maken dmv het reverse transcriptase.

- men neemt eerst een welbepaald deel van het genoom weg dmv endonucleasen. Daarna bindt men het overige weer terug aan elkaar dmv ligase. Het is de bedoeling dat deel weg te nemen dat de virulentie veroorzaakt, maar niet noodzakelijk is voor de vermeerdering. Uiteraard moet hiervoor het genoom gekend zijn.
- Voordeel: weinig kans op reversie wegens echte deletiemutatie
- Soms kan ook tweede gen verwijderd worden zodat het vaccin van het echt virus onderscheiden kan worden. Dit is van onmisbaar belang bij eradicatieprogramma's

Reassortering

Kan gebruikt worden bij gesegmenteerde virussen. Het doel is goede eigenschappen van virussen zoals goede vermeerdering in artificiële gastheer of niet virulent over te brengen samen met delen van een ander virus in een nieuw virus.

Vb levend verzwakte vaccins: Men combineert een oude CA stam die zorgt voor de interne genen = verzwakt, zie eerder, met een nieuw virulent virus, dat zorgt voor de HA en NA eiwitten. Deze methode vergt minder tijd dan op de oude manier een CA virus bereiden.

Vb geïnactiveerde entstof: door antigene drift en shift ontstaan nieuwe griepvirussen, maar die vermeerderen niet zo goed, wat slecht is bij een griepuitbraak, daarom maakt men een combinatie met een goed groeiende oude stam die de interne genen levert en het virulente griepvirus waartegen men wil enten dat de HA en NA genen levert.

4: virus als vector = virus carrier vaccins zie ook fig 48

Men plaatst bepaalde genen in het dragervirus, die coderen voor externe eiwitten van een virus waartegen men wil vaccineren. Dit dragervirus vermeerderd in het individu en die bouwt een immuunrespons op tegen het dragervirus en de extra Ag.

Dragervirus: meestal groot DNA virus, waaruit verschillende genen verwijderd kunnen worden. Meest gebruikt is vacciniavirus, maar ook kippen en kanariepokken alleen deze zijn veel meer gastheerspecifiek. Ook adeno en herpesvirussen worden gebruikt.

Voordeel: humorale en cellulaire immuniteit, soms kan ook alleen lokale immuniteit worden bekomen. Er is gelijk ook immuniteit tegen de vector. De vaccins zijn veilig en de pokkenvirussen zijn hittestabiel ==> ook vaccinatie in de tropen mogelijk.

Voor en nadelen van verzwakte virale entstoffen

Immuniteit

- meestal slechts 1 toediening noodzakelijk
- Meestal subklinische infectie, maar met stimulatie van humorale en cellulaire immuniteit, omdat het meer natuurgetrouw wordt nagebootst.
- Bovendien vaak langs natuurlijke weg toe te dienen ==> ook mucosale = lokale immuniteit wat belangrijk is bij virussen van het oppervlakkig type

Veiligheid

- meer uitgebreid te onderzoeken dan geïnactiveerde vaccins en daardoor relatief duur.
- Kans op reversie, vooral bij puntmutaties
- Kans op uitscheiding mogelijk en dus besmetting (want virus kan muteren in zijn doortocht door het lichaam) van mogelijk niet gevaccineerde soortgenoten. Veilig is als er geen uitscheiding is. Soms echter wel een voordeel, omdat bij sommige ziekten dan niet alle dieren gevaccineerd moeten worden.
- Contaminatie met andere virussen mogelijk die ook vermeerderen op bv de celcultuur en die niet verzwakt zijn. Op gekende virussen wordt gecontroleerd, maar er zijn ook nog een hoop ongekende virussen. Bij geïnactiveerde vaccins, worden deze virussen ook geïnactiveerd.

Combinaties

- is mogelijk, maar men goed van te voren nagaan of er geen interferentie is. Zo zouden ze in competitie kunnen gaan als ze in hetzelfde weefsel vermeerderen. Een vb zijn de poliomyelitis virus serotype 1,2 en 3 bij de mens deze worden 2-3 keer toegedient om er zeker van te zijn dat tegen alle 3 de serotypen immuniteit is opgebouwd.

Bewaring

- strikte voorwaarden. Zo snel mogelijk gebruiken als het weer in dilutie is gebracht, omdat het zeer gevoelig is aan inactivatie. Zie eerder.

Productiekosten

- ze zijn lager dan bij geïnactiveerde, omdat er minder virus nodig is. Zie ook eerder wat betreft minimale titer.

Type van vaccin afh van type van de virale infectie die men wil bestrijden.

Veralgemeend type van infectie ==> wordt geneutraliseerd door As in het bloed en gevoelige organen worden niet bereikt ==> die kunnen veroorzaakt zijn door zowel geïnactiveerde als levende vaccins.

Opervlakkig type van infectie ==> wordt geneutraliseerd door lokale As ==> die worden alleen verkregen in voldoende maten met levende vaccins.

Voorbeeld van poliovirus

	<u>geïnactiveerd = SALK</u>	<u>levend vaccin = SABIN</u>
Vaccinatie	injectie (4x) veilig	oraal (3x) virus xxx in darm en excretie+ soms reversie naar virulente vorm, vnl bij immunodeficiënte mensen
Soort immuiteit	IgG in serum	IgA in darm
Na contact virulent virus	nog virus xxx en excretie geen paralyse	geen xxx in darm geen paralyse

C: nieuwe evoluties in vaccinologie

C1: synthetische vaccins

Men probeert op synthetische wijze epitopen na te maken dmv oligopeptiden = 6-20 AZ. Het jammer is alleen dat andere conformationele epitopen afwezig zijn in het gesynthetiseerd epitoom, zodat de 3D structuur niet meer klopt en het dus slechte immuniteit opwekt. Voor t-cellen gaat dit veel beter dan voor B-cellen. Dus onderzoek vooral naar cellulaire immuniteit.

C2: DNA vaccins

Methode: men bouwt bepaalde delen van viraal DNA = eiwitten waartegen de immuunrespons moet opgebouwd worden, in een plasmide samen met geschikte promotors en spuit dit intramusculair in. dit levert dan een humorale als cellulaire respons op. Voordeel is wel dat een plasmide stabiel is, goedkoop te produceren en op grote schaal, maar men moet nog wel uitzoeken waar het plasmide in de gastheer allemaal terecht komt.

Passieve immunisatie door serum of monoklonale As

Kan door toedienen hyperimmuun serum of monoklonale As.

Serum: bereid op voorhand in proefdieren door ze bv meermaals te vaccineren of besmetten.

Monoklonale As: zie H11

Nuttig: bij zojuist blootstelling aan virus of gif of bij grote kans dat het snel gaat gebeuren.

Bescherming: treed snel op, al na enkele uren, maar is kort durend 2-3 weken.

Homologe sera zijn beter dan heterologen, omdat het individu bij herhaaldelijk inspuiten van heteroloog serum ook tegen het serum As gaat maken, zodat het serum wordt geneutraliseerd en het dus niet meer goed werkt.

Werkzaamheid: het zijn alleen IgG's dus alleen werkzaam in bloed en dus alleen nuttig bij algemene infectietypen.

Therapeutisch niet werkzaam: er zijn al letsels door virusvermeerdering, dus vernietiging van virus lost dit niet op. Bovendien doen de As niets tegen intracellulaire vermeerdering.

II: antivirale verbindingen

Profylaxie: toedienen preventief van synthetische of organische of andere moleculen

Antivirale therapie: toedienen na ontstaan symptomen

Soms ook gebruikt om een uitbraak bij een bepaalde populatie te onderbreken.

Ringvaccinatie rond een besmet bedrijf + beperkende maatregelen.

De verbondenheid van de virale replicatie met het celmetabolisme

Selectiviteits index = $\frac{\text{minimale celtoxiciteitsdosis}}{\text{minimale virusinhibitiedosis}}$

De virusvermeerdering bij het besmet individu is zeer innig verbonden en is volledig afh van het celmetabolisme. ==> moeilijk een stof te vinden die de virusvermeerdering verhindert, maar het celmetabolisme onaangeroerd laat. De stof moet:

Cytotoxische zijn: is afh van concentratie, maar veel stoffen werken niet specifiek op het virus. Hun selectiviteitsindex = +/- 1, wat erop wijst dat ze in vivo dus niet bruikbaar zijn. Noodzaak om stoffen te vinden die in lage concentratie al tegen het virus werken, maar dan nog niet toxisch zijn tegen de cel en dus een hoge selectiviteitsindex hebben.

Twee manieren om zo iets op te sporen.

- men bestudeert de virusvermeerdering in een cel en hoopt een stap te vinden die stoffen of enzymen gebruikt die alleen hier voorkomen en niet in het celmetabolisme
- Of men bestudeert het virus en hoopt een structuur te vinden die niet in de cel voorkomt.

Dit alles is echter zeer moeilijk, als je echt een proef wil hebben die niets uitsluit. Bovendien lijkt het virusmetabolisme sterk op dat van de cel. Ab ontwikkelen is door dit punt veel makkelijker. Bovendien een antiviraal middel tegen virus 1 zal bijna nooit werken tegen virus 2, omdat ze kwa structuur of vermeerderingscyclus minder nauw verwant zijn als bv bacteriën aan elkaar.

Het verband tussen de virale replicatie en het ontstaan van symptomen

Meestal ontstaan de letsels op het hoogtepunt van de virusvermeerdering en is daar een direct gevolg van ==> therapeutisch toedienen van antivirale middelen is weinig effectief, omdat de schade door de vermeerdering er al is. zie ook eerder.

Waardevol:

- bij persisterende infecties: latent zoals herpes met regelmatige ziekteopflakkingen, chronisch infecties zoals hepatitis B en papillomavirus en bij trage progressieve infecties als HIV
- Soms ook bij acute infecties als bof en influenza

Een andere manier is het profylactisch toedienen. Dit werkt acuut en beschermt een populatie bij de uitbraak van een virus, maar zodra je stopt met innemen ben je ook niet meer beschermd.

Resistentie tegenover antivirale middelen

Is een tamelijk groot probleem.

Oplossing is combinatietherapie: de kans op resistentie zakt, omdat het virus aan 2 of meer middelen tegelijk resistent moet worden, bovendien kan een synergistisch = versterkend effect optreden.

Aangrijpingspunt van een antiviraal profylacticum of therapeuticum

Ligt of bij het virus zelf, of bij een van zijn vermeerderingsstappen:

- inactivatie van celvrij virus
- Adsorptie van virus aan de cellulaire receptor, kan gedwarsboomt worden door stoffen die op de receptor=bindingsplaats op het virus of op de receptor van de cel inwerken.
- Penetratie: stoffen die bv fusie van virale envelop en celmembraan beletten.
- Ontmanteling: stoffen die viruspartikel stabiliseren, zodanig dat er geen ontmanteling = destabilisatie meer kan optreden.
- Aflezen van mRNA: blokkeren, als het maar verschilt van celegeen mRNA
- Biosynthese van virale nucleïnezuuren, te inhiberen als ze verschillen kwa structuur of optimale omstandigheden van de celegeen enzymen.
- Rijping van het virus: weinig beïnvloed door celmetabolisme

A. synthetische antivirale middelen en hun gebruik

kennen

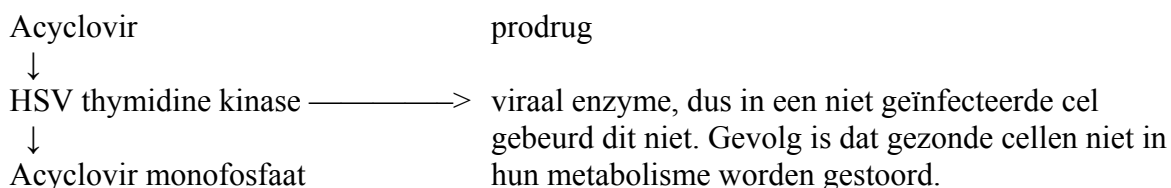
<u>Aangrijpingspunt</u>	<u>geneesmiddel</u>	<u>virus</u>
Penetratie/ontmanteling	amantadine	influenza A
DNA/RNA synthese	nucleosideanalogen	
	acyclovir	herpes
	zidovudine	HIV
	ribavirine	RSV + andere
Eiwitsynthese	interferonen	hep B + C
Assemblage	protease inhibitoren	HIV
Vrijkomen	neuraminidase inhibitoren	influenza

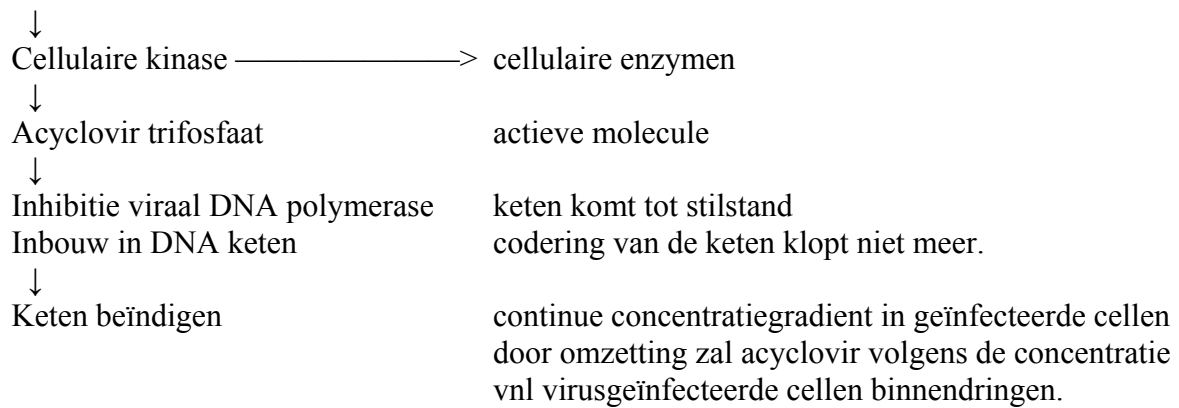
Adamantine en derivaten

- werkzaam tegen influenza A virussen
- Grijpt in op penetratie en ontmanteling
- Doelwit: M2 proteïne in envelop influenza virussen. Normaal maakt dit een transmembranair ionkanaal, waardoor het endosoom zuur wordt, het zuur werkt in op HA bij zowel ontmanteling als incorporatie van nieuwe virussen. Adamantine verhindert de vorming van dit kanaal en dus de ontmanteling en incorporatie.
- Resistentie: mutaties in M2

Acyclovir of zovirax

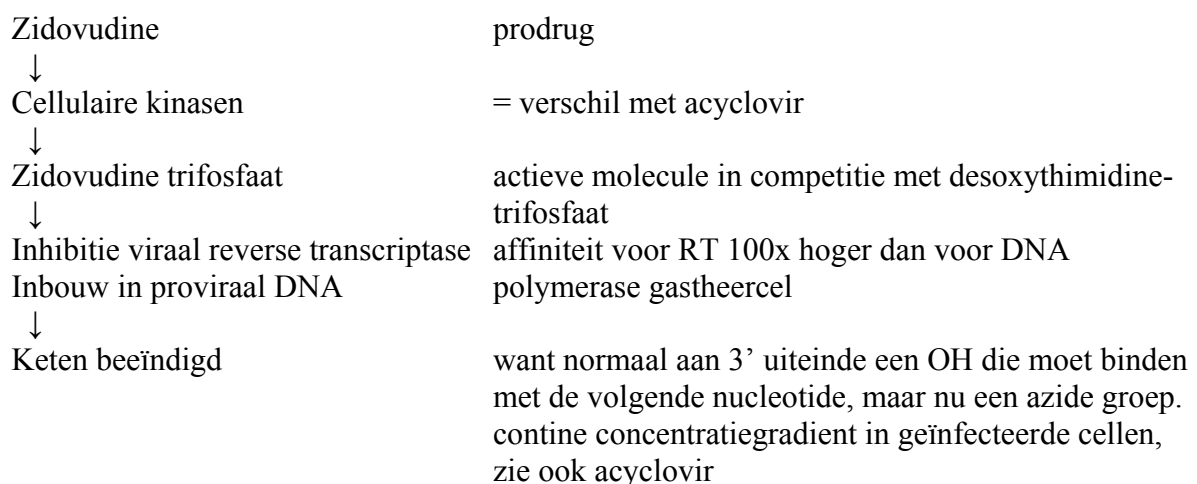
- werkt tegen herpes simplex type 1 en 2
- Is zelf een prodrug = een precursor van de eigenlijke antiviraal actieve molecule.
- Toediening: parenteraal bij herpes encephalitis en genitale herpes, oraal bij zona en lokale zalf bij koortsblaren.





Zidovudine

- meest actieve en selectieve antiretrovirus middel. Het was het eerste geneesmiddel voor AIDS.
- Dit medicament kan alleen de keten stoppen, reeds besmette cellen ruimt het niet op.
- continue concentratiegradient in geïnfecteerde cellen, zie ook acyclovir. Het virale reverse transcriptase heeft een 100x hoger affiniteit voor zidovudine trifosfaat, dan het celegeen DNA polymerase, gevolg is dat zidovudine niet in eigen cellen wordt ingebouwd, maar wel in virus geïnfecteerde cellen. En bovendien ontstaat er zo een concentratiegradient in de virus geïnfecteerde cellen.
- Inname kan oraal en verlengt het leven, wel neveneffecten als anemie en leucopenie ==> regelmatige bloedtransfusies.
- Nieuwe medicamenten zijn vooral de dideoxynucleosiden, met een zelfde werking als zidovudine en de protease remmers.
- Deze laatste hebben een bijzondere sterke gelijkenis met het natuurlijk substraat van het HIV-1 protease. Dit enzyme is essentieel voor de vorming van rijpe viruspartikels. De protease inhibitoren gaan een sterke binding aan met de actieve zijde van het HIV-protease, waardoor het in zijn werking wordt geremd. De cellulaire protease hebben op deze plek een klein verschil ==> geen binding ==> geen remming. Een vb van zo'n medicament is ritonavir.
- Voor HIV is er ook nog een derde middel dat de fusie inhibeerd.
- Meestal worden alle 3 de medicamenten gebruikt, omdat er dan minder kans op resistentie is en de levensduur van de patiënt van 10 tot 25 jaar wordt verlengd. Bovendien is er een synergistisch effect. Een probleem is wel dat er redistributie van lichaamsvet optreed.



Ribavirine

- doelwit is inosine-5-monofosfaat dehydrogenase = een cruciaal enzyme in de productie van GTP en anderzijds het RNA polymerase van het influenza virus.
- Meest doeltreffende behandeling is bij respiratoir syncytieel virus ea.
- Nadeel is zeer hoge kostprijs (400 euro per dag). Dus weinig gebruikt.

B. interferon

Zie ook hoofdstuk 7.

= biologisch product dat door de cellen van het organisme als eerst niet-specifiek afweermiddel opgebouwd wordt in het verloop van een virale infectie.

- zou een ideaal antiviraal geneesmiddel kunnen zijn: niet toxisch, weinig of niet antigeen, meerdere toedieningen mogelijk en werkt tegen een breed spectrum van virussen.
- Bedoeling: bij mens of dier therapeutisch of profylactisch toedienen. Na productie in proefdieren, celculturen of mbv recombinante technieken. = exogeen interferon.
- 2e bedoeling: endogeen interferon stimuleren profylactisch of therapeutisch.

Exogeen interferon

- Toedienen ==> cellen nemen het op ==> tussenkomst antiviraal eiwit (zie eerder) ==> bescherming van de cellen.
- Maar nog weinig toepassingen
- Antiviraal effect vooral profylactisch als het enkele uren voor besmetting wordt toegediend en enkele dagen blijft toegediend worden. Therapeutisch is er minder effect.
- Het werkt vooral op algemene infecties en veel minder lokaal, ook als het lokaal wordt toegediend.
- Weinig resultaat: vnl door niet genoeg of zuiver genoeg virus te krijgen, omdat men het op celculturen moest kweken van leukocyten of fibroblasten. Nu kan men via de DNA-recombinant techniek veel meer interferon maken.
- Men wil het vooral toe gaan passen op chronische en trage progressieve vnl kanker virussen. Omdat hier de vooruitzichten hen beste zijn. Het kan tumorgroei onderdrukken en macrofagen etc doen activeren.
- Het is geen supermedicijn, zie eerder voor mogelijk bijwerkingen als algeheel ziek voelen etc.
- Diergeneeskunde: vooruitzicht parvovirus hond bestrijding.

C. antibiotica

- veel gebruikt voor behandeling van virale infecties ven ademhalingswegen en spijsverteringsstelsel, om secundaire infecties met bacteriën te voorkomen of beperken, omdat een virale infectie de natuurlijke resistentie van de slijmvliezen verzwakt en veroorzaakt celdegeneratie, wat de kans op bacteriële besmetting veel groter maakt. Zulke behandelingen zijn zelfs vaak noodzakelijk in humane en diergeneeskundige praktijken.

Hoofdstuk 13: Beginselen van epidemiologie van virale infecties

1. Allerlei begrippen

Epidemiologie = studie van factoren die het ontstaan, voorkomen en de prevalentie van infecties bestudeert in populaties. Hierbij kan ook de risicobepaling op infectie van de populatie komen.

Tracht alle afhankende factoren: viruskenmerken, gastheerpopulatie, omgevingsfactoren en een aantal ecologische aspecten nauwkeurig in kaart te brengen.

Graad van voorkomen:

Aantal gevallen x 10ⁿ

Risicopopulatie

==> in een goed omschreven tijdsspanne

- geschikt voor acute infecties van korte duur en die intermitterend terugkomen
- Bv griep
- 3 parameters: het procent gevoelige dieren, het procent gevoelige dieren dat besmet wordt en het procent besmette dieren dat ziek wordt.
- Die drie parameters hangen af van bepaalde factoren: dichtheid van populatie, seizoensinvloed, vectorpopulatie (wel of niet aanwezig zijn van bv insecten), spreidingswijze (aërosol, direct contact), maar ook van invasief vermogen van het virus, infectiedruk enz.

Prevalentiegraad:

Aantal gevallen x 10ⁿ (= aantal besmette dieren)

Risicopopulatie (= populatiegrootte)

==> op een welbepaald tijdstip

- voor chronische aandoeningen waarbij de graad van voorkomen moeilijk bepaald kan worden omdat ze dan in meerder perioden vallen.
- Is een momentopname. Maar met al die momentopnamen kan men wel de evolutie waarnemen.
- Seroprevalentie: aantal dieren met bepaalde As op de populatiegrootte. Is dus afh van leeftijd. Oudere dieren hebben een hogere seroprevalentie, omdat ze al meer kans op infectie met het virus hebben gehad.

Graad van morbiditeit:

Aantal dieren dat ziek wordt

Aantal dieren dat besmet is

- meestal bij een welbepaald virus tijdens een welbepaalde duur (meestal uitbraak duur)

Graad van mortaliteit:

Aantal dieren dat sterft

Aantal dieren dat ziekte tekens had

- kan ook het aantal individuen zijn dat door een bepaald virus sterft in een jaar.

Andere begrippen

Endemische ziekte: continue aanwezigheid van virustransmissie die leidt tot de continue aanwezigheid van ziektegevallen in een populatie over een langere tijdspanne.

Epidemische ziekte: verwijst naar hoogtepunten van ziektefrequentie wanneer dit boven de endemische grens ligt en zal meestal refereren naar een acute ziekteuitbraak.

Pandemie: verwijst naar een wereldwijde epidemie.

Incubatieperiode: is de tijdsduur die verloopt tussen de infectie en het begin van de ziekte-tekens.

Periode van infectiviteit: is de periode gedurende dewelke dieren infectieus virus uitscheiden (deel incubatieperiode + deel klinische periode ==> ongemerkte oversmetting mogelijk)

Sero-epidemiologie: gebruik van serologische gegevens als basis van epidemiologisch onderzoek. Belangrijk om eradicatie programma's te volgen. Men kan ook nagaan hoe en hoe snel een virus zich in een populatie verspreid en of bepaalde leeftijdsgroepen gevoeliger zijn voor besmetting en ziekte-tekens ea. Verklikkerdieren in een populatie brengen en die testen op As op te zien of de populatie nog virus uitscheid.

Moleculaire epidemiologie: maakt gebruik van gegevens uit de moleculaire biologie. Het betreft meestal gegevens over het viraal genoom of delen ervan of over Azsequenties van bepaalde virale eiwitten. Zo kan men nagaan of bepaalde stammen verwant zijn. Men maakt dan ook fylogenetische stambomen, waarbij goed gelijkende virussen bij elkaar staan. Hiermee kan men nieuwe virussen vergelijken en mogelijk al meer over herkomst en verwantschap vertellen. Zie fig 49 en 50.

2: NK

3: mechanismen van virusverspreiding of virusoverdracht.

Horizontale virusoverdracht

A: directe overdracht

Rechtstreekse overdracht tussen dieren onderling door lichamelijk contact zodat virus zicht verspreid met excreties of secreties die op de soortgenoot worden achtergelaten.

B: indirecte overdracht

Gebeurt met tussenkomst van inerte voorwerpen als voederbakken, kleding etc ==> virus moet al wel een beetje resistent zijn.

C: overdracht door gemeenschappelijke drager

Indirecte overdracht via opname van gecontamineerd voedsel of water of organen. Gaat over grotere groepen en verder van elkaar verwijderd.

D: aëroge overdracht

Bij respiratoire infecties komt het virus in de omgeving ingesloten in aërosolen die dan door een soortgenoot ingeademd kunnen worden. Het virus kan ook gebonden zijn aan stofdeeltjes. Deze deeltjes kunnen onder goede omstandigheden = wind + hoge vochtigheid, km ver meegevoerd worden. Voor dit soort overdracht moet het virus in de luchtwegen vermeerderen en ook via de luchtwegen binnendringen. Een voorbeeld is mond en klauwzeer. Varkenspest daarin tegen vermeerderd eerst in de tonsillen, alleen op enkele meters afstand is aërosol transmissie mogelijk en soms ook niet als de hoeveelheid virus te klein is.

E: arthropod-borne overdracht

Gebeurt door een steek van een arthropode

F: iatrogene overdracht

Gebeurt door een of andere geneeskundige daad of ingreep hetzij via de dierenarts hetzij via de persoon die dieren verzorgt. Bv injectienaalden, gecontamineerde vaccins, bloedtransfusie etc.

G: hospitaaltransmissie

Besmetting die gebeurt in de dierenkliniek als het dier daar is opgenomen. Bv parovirusin-

fectie.

H: Zoönotische overdracht:

Van dier op mens, zoals razernij

Kennen

<u>Familie</u>	<u>virus</u>	<u>gastheer</u>
Poxviridae	koepokken	knaagdieren, katten, rundvee
	apenpokken	eekhoorn, apen
	pseudokoepokkenvirus	rundvee
	orf virus	schapen, geiten
Paramyxoviridae	menanglevirus, nipavirus	fruitetende vleermuizen
Filoviridae	ebola, marburgvirus	apen
Orthomyxoviridae	influenza A virussen	eenden, varken

Verticale overdracht

- Gaat van moeder naar embryo of foetus of naar de pasgeboorne als dit tijdens of net na de partus gebeurt.
- Het virus kan de baarmoeder via het bloed bereiken en moet de placentabarière doorbreken.
- Dit kan ook via het colostrum
- Verticale overdracht van een provirus komt voor bij retrovirussen die hun DNA in de eicel inbouwen, want dan enkel DNA en niet het hele virus overgedragen.

4: mechanismen van virushandhaving in populaties

Een virus moet om zijn soort in leven te houden regelmatig individuen besmetten. Het is zelfs beter als het dier subklinisch besmet wordt, want dan wordt het dier vrij bewogen of beweegt het zelf vrij, zodat overdracht naar gevoelige gastheren nog veel makkelijker verloopt.

A: resistentie ten opzicht van omgevingsfactoren

- resistent tegen: temp, droogte, vochtigheid etc. kleine populaties kunnen dan maandenlang infectieus achterblijven om als er nieuwe gevoelige gastheren voorbij komen die te besmetten. Rotavirussen blijven zo lang stabiel in feces en ecthyma in een weide.

B: acute zelflimiterende infectie

- meerdere virussen besmetten alle individuen als ze in een gevoelige populatie terecht komen, maar wel met variërende morbiditeit. De dieren die overleven bouwen immuniteit op en het gevolg is dat er geen gevoelige individuen meer over zijn en het virus sterft uit. Voor het handhaven van het virus moet het dan een nieuwe gevoelige populatie vinden. Hierbij is dus grootte van de populatie en overdrachtsmanier belangrijk. Aërogeen griepvirus kan bij een hoge varkensdichtheid in de regio zich goed verspreiden en daardoor moeilijk uit te roeien. TGE dat met feces wordt verspreid kan door hygiëne wel makkelijk worden tegengehouden.
- Vaak hebben zulke virussen een cyclisch verloop, waarbij de tijdsduur tussen een ziektepiek varieert met de turnover van de populatie, geslotenheid, kans op herintroductie, duur immuniteit, ontstaan van virusvarianten etc.

C: persisterende infecties

Acute fase is voorbij, maar virus is nog wel aanwezig. Dit kan continue zijn ==> chronische virusuitscheiders zoals zwoegerziekte. Of intermitterend uitgescheiden worden, al of niet telkens gepaard gaan met ziekte tekens. Bv herpes simplex koortsblaren. Als de tijdduur tussen herintrede groot genoeg is zijn er weer nieuwe geboorten of invoeren geweest en dus weer gevoelige individuen en kan er weer een nieuwe cyclus zijn.

D: immunotolerantie na verticale overdracht

Als verticale overdracht gebeurt op een tijdstip dat de foetus nog niet immunocompetent is en als de vitaliteit van de foetus niet wordt aangetast, blijft het virus viraemisch en wordt als lichaamseigen door de foetus aangezien. ==> levenslange virusuitscheider + zolang ze colostrum krijgen meestal niet ziek, maar op latere leeftijd kunnen ze dan nog sterven.

E: arthropod-borne infecties

- velen zijn zoönotisch van karakter, het insect is de biologische vector. Het insect steekt een besmet individu, neemt het virus op, vermeerdering in insect, volgende voedselopname zal het virus via het speeksel in een ander individu terecht komen. Op deze manier is er een makkelijke kruising van diersoort barrières.
- Mechanische vector: geen vermeerdering in insect, maar virus blijft er gewoon aanplakken. Maar eigenlijk is dit een indirecte horizontale overdracht.
- deze manier van overdracht komt het meeste voor in tropen en subtropen, vaak zijn de insecten ook afh van hun gebied, leefklimaat en zijn ze niet gevaarlijk voor andere klimaten.
- Vaak eindigt een infectie blind als het individu niet gestoken wordt, omdat de insecten essentiële transmissieschakels zijn van het virus
- Vb gele koorts

5: nieuwe infecties—ziekten (emerging diseases)

- porcine respiratoir coronavirus varken: is een deletiemutant transmissiebele overdracht gastroenteritis virus
- Parvovirus hond: mutant kattenziektevirus kat
- HIV mens: afkomstig van mensapen
- SARS = coronavirus mens: afkomstig van civet katten.
- Ook reassortering en recombinatie is mogelijk, het kan dan helpen om een stamboom te maken en te vergelijken.

Maar ook activiteiten van de mens zorgen voor ontstaan nieuwe virussen

- woudontginningen: mens en huisdier komt in contact met nieuwe arthropoden of wilde fauna met hun voor ons nieuwe virussen. Vb is het nipa virus dat van fruitetende vleermuizen op varken en dan mens overging.
- Verhoogde lange afstandsreizen: over de hele wereld exotische arthropoden vervoerd. Bovendien kan de mens virussen overbrengen in populaties waar het nog nooit voorkwam of al was uitgeroeid.
- Nieuwe migratieroute van lange afstand migrerende vogels: meestal als gevolg van nieuwe waterwerken. Vogels introduceren dan een nieuw virus in een andere populatie
- Kolonisatie: nieuwe mens en diersoorten brengen voor de inheemse populatie onbekende virussen mee. Maar natuurlijk ook andersom.

Hoofdstuk 14: virussen en tumoren

H14: structuur, soorten, eigenschappen en vermeerderingscyclus van retrovirussen Kennen
H14: NK, alleen wat in les al eerder is gezegd Kennen

Les

Mens: hepatitis B, EBV, papillomavirus ==> kankers en bovendien allemaal DNA virussen
= celtransformaties + mutaties die uiteindelijk tot kankers leiden

Dier: allemaal RNA en retrovirussen

Kanker = wegvallen regelingsmechanisme voor remming celgroei

1: celgroei bepaald door proto-oncogenen, overstimulatie hiervan is kanker

2: tumorsuppressorgenen, als deze uitvallen —> ongeremde groei

Feliene sarcoma virus

- is een replicatie defect virus
- Het bezit nl geen informatie voor envelop eiwitten en kan dus niet xxx, want op deze plaats zitten virale onogenen
- Helpervirus is dus nodig: dit is het feliene leukemie virus, dat wel replicatie competent is.

Lentivirussen: vermenigvuldigen zeer langzaam, oa HIV

Retrovirussen: genetisch zeer labiel ==> makkelijke wijzigingen.

Retrovirussen

- belangrijkste oorzaken leukemieën en lymfomen
- Je hebt replicatie competente en replicatie deficiente retrovirussen.
- Exogeen retrovirus: verspreid zich horizontaal door een populatie
- Endogeen retrovirus: zit in een cel ingebouwd en komt normaal via verticale overdracht in het dier terecht. Pas als er stimulerende factoren als straling aanwezig zijn, dan zal het zich uiten.

Zie fig 53 voor structuur

Zie fig 54 voor replicatie

Virus treed binnen maar is ssRNA, hierop wordt een complementair streng ssDNA gemaakt, dat laat los, hierop wordt dan de 2e streng van het DNA gemaakt, wat in het DNA van de gastheer geplaatst kan worden = provirus. Dit kan dan in een later stadium overgeschreven worden en via endocytose de cel verlaten, en zo heb je nieuw gevormd virus.

Retrovirus oncogen: zet cel aan snel te transformeren (virus vormen)==> snel transformerende virussen

Als provirus naast cellulair oncogen terecht komt, kan dat als stimulatie tot celtransformatie werken ==> traag transformerende virussen, want hebben zelf geen oncogen en moeten dus door toeval naast het cellulair oncogen geplaatst worden.