



VIRY A BAKTERIOFÁGY

Zpracovaly: Vaňková Iveta, Čurečková Veronika, MVDr. Bursová Šárka, Ph.D.

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Obsah přednášky

- **Viry**
 - základní informace, morfologie a struktura, replikace virů, přenos a šíření virové infekce
 - viry v potravinách, významní původci alimentárních onemocnění
- **Bakteriofágy**
 - základní informace, životní cyklus, transdukce, významné vlastnosti a využití
- **Stanovení virů v potravinách**
 - základní informace, PCR, NASBA, TMA, SDA, LAMP

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

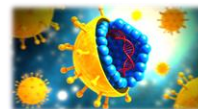
VIRY



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Základní charakteristika

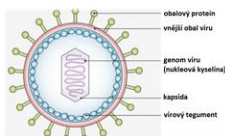
- nadříše *Subcelulata*
- submikroskopické, striktně intracelulární
- velikost 20 – 300 nm
- nevlastní funkční orgány
- replikace jen v živých buňkách
- DNA x RNA / ss x ds / polarita RNA (+) nebo (-)
- obalené x neobalené



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

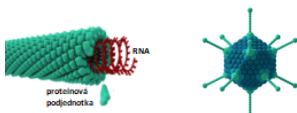
Morfologie a struktura virů

- tvar sférický, vláknitý
- virová částice = **virion**
- počet bází, páry bází
- **kapsida** = proteinový plášť



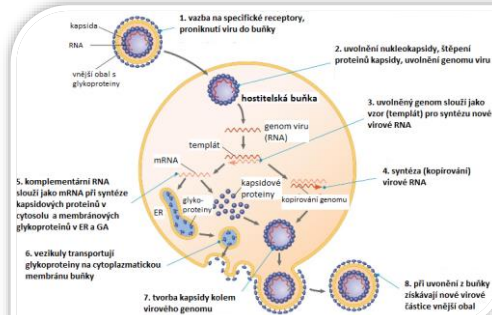
Typy symetrie

- helikální
- ikozahedrání
- komplexní



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Replikace RNA virů



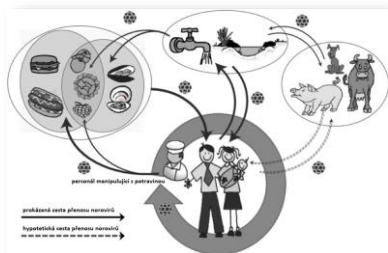
IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Přenos a šíření virové infekce

- vstupní brána infekce
- virémie
- cílový orgán

Infekce:

- produktivní
- abortivní
- perzistentní
- latentní



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Viry – původci alimentárních onemocnění



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Viry v potravinách

Viry se množí jen v živých buňkách, jejich rozmnožování v potravinách je proto vyloučeno.

- primární x sekundární kontaminace potravin

Stabilitu virů ovlivňuje:

- pH
- teplota skladování (chlazení, mražení)
- tepelné ošetření potravin (obecně 60 – 80 °C; obsah bílkovin a tuků)
- množství virů

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Významní zástupci

DNA viry

- Adenovirus
- Parvovirus

RNA viry

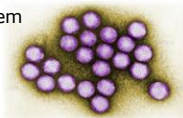
- Adenovirus
- HAV, HEV
- Sapovirus
- Norovirus
- Rotavirus
- Astrovirus
- Enterovirus
- Coronavirus
- virus klíšové encefalitidy



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Adenoviry

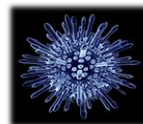
- rody *Mastadenovirus* a *Aviadenovirus* (*Adenoviridae*)
- neobalené, ikozahedrální symetrie kapsidy
- 80 – 100 nm
- dsDNA
- odolné vůči fyzikálním a chemickým vlivům (éter, tuková rozpouštědla)
- velmi pomalu inaktivovány teplem



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Adenoviry

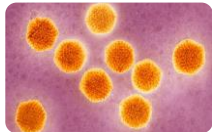
- šíření alimentárně, pohlavním stykem a kapénkovou infekcí
- vylučovány stolicí (odpadní vody)
- prim. pomnožení – spojivka, nosohltan, střevo
- infekce dýchacích cest, záněty očí, infekce trávicího a urogenitálního traktu
- KP: za 2 – 14 dní, průjem, zvracení, nauzea, vysoká horečka, bolesti hlavy a křeče



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Virus hepatitidy A

- rod *Hepatovirus (Picornaviridae)*
- tropismus k jaterním buňkám
- odolný k tukovým rozpouštědlům a detergentům
- rezistentní ke kyselému pH a účinkům tepla
- inaktivován oxidačními činidly (chlorové preparáty či kyselina peroctová)



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Virus hepatitidy A

- nákaza oro-fekálně (kontaminovaná voda, potraviny)
- ID 15 – 45 dní, průkaz v krvi 14 dní před KP
- vylučování viru žlučí do střeva a následně stolicí
- množení v buňkách jaterního parenchymu, zánětlivá infiltrace jater (hyperplazie Kupfferových buněk)
- KP: únava, zvýšená teplota či horečka, nechutenství, nauzea, zvracení, následně ikterus
- trvalá imunita
- jahody, maliny, rajčata a listová zelenina



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Celosvětové rozšíření HAV



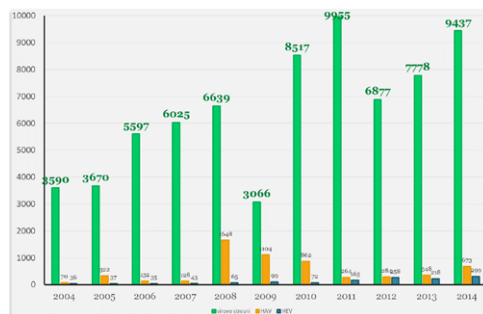
Anti-hepatitis A antibody prevalence

- Low or very low
- Intermediate
- Transitional
- High

(https://www.aafpnaac.org/press/factsheets/hep_a.htm)

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

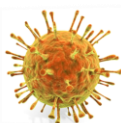
Výskyt HAV a HEV v České republice



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Norovirus

- rod *Norovirus (Caliciviridae)*
- 5 genoskupin
- skupiny I, II a IV původci humánních infekcí
- hlavně starší děti a dospělí
- nízká infekční dávka
- vylučován o obrovském množství stolicí i zvratký (10^{9-11} /ml stolice)
- inaktivován chlorovými přípravky do deseti minut
- odolný ve vnějším prostředí (infekční až 14 dní)



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

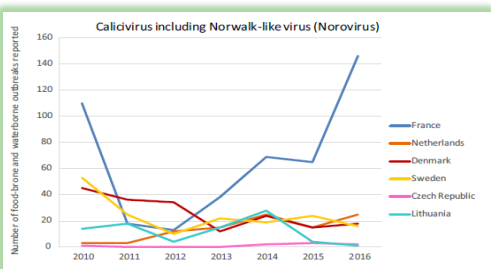
Norovirus

- nákaza oro-fekálně, infekční aerosol
- ID 18 – 72hodin
- gastroenteritida (riziko dehydratace)
- KP: křeče, zvracení, průjem, bolesti břicha, celková slabost, zvýšená teplota
- odezní spontánně během 3 – 7 dnů
- nevzniká dlouhodobá imunita
- vehikulum – měkkýši



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

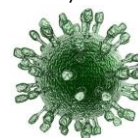
Počet „food-borne“ a „water-borne“ případů zaznamenaných v letech 2011 - 2016



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Rotavirus

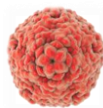
- rod *Rotavirus* (*Reoviridae*)
- 7 séro skupin A-G (A, B, C původci infekce u lidí)
- ID 1 – 3 dny, vysoce infekční, vylučování stolicí 8 dnů
- gastroenteritidy
- u dětí do dvou let vysoká morbidita, mortalita
- smrt následkem dehydratace a ztráty elektrolytů
- dlouhodobá imunita
- možné lehké reinfekce



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Enterovirus

- rod *Enterovirus* (*Picornaviridae*)
- 28 – 30 nm, neobalené, ikozahedrální symetrie
- dobře kultivovatelné
- rezistentní vůči kyselému pH, vysokým teplotám
- šíření oro-fekálně, přímým kontaktem
- ID 3 – 7 dní
- množení v GIT, nervové a svalové tkáni
- meningitidy, poliomyelitidy (obrna)
- odpadní vody, kanalizace, měkkýši, mléko



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Virus klíšové encefalitidy

- rezervoár hlodavci, ptáci, klíšťata
- odolný vůči změnám kyselosti
- spolehlivě ničen pasterací
- ID 7 – 14 dní
- mírná chřipková fáze následována fází asymptomatickou
- KP: vysoká horečka, bolesti hlavy, zvracení, citlivost na světlo, ztuhlá šíje, postižení CNS, meningitis
- rizikové zejména syrové ovčí, kozí a kravské mléko



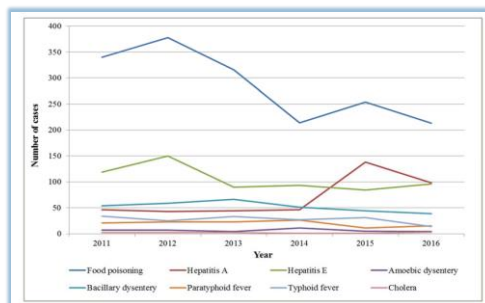
IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Přehled virových epidemií v posledních letech

Rok	Stát	Původce	Vehikulum
2015	Austrálie	virus hepatitidy A	mražené drobné ovoce z Číny
2013	Německo, Holandsko, Švédsko, Polsko	virus hepatitidy A	mražené bobulovité ovoce z Itálie
2013	Holandsko	norovirus	mražené maliny z Polska
2012/13	Skandinávie	virus hepatitidy A	mražené bobulovité ovoce
2012	Irsko	norovirus	ústřice
2010	Irsko	norovirus	ústřice z Holandska
2009	Dánsko	norovirus	mražené maliny ze Srbska a Belgie
2009	Finsko	norovirus	mražené maliny z Polska
2009	Švédsko (19 osob)	norovirus	mražené maliny ze Srbska
2006	Holandsko (45 osob)	norovirus	mražené maliny z Chile
2006	Finsko (cca 400 osob)	norovirus	zeleninový salát
2005	Dánsko (> 350 osob)	norovirus	mražené maliny z Polska
2005	Rusko (> 500 osob)	virus hepatitidy A	pivo (voda využitá k přípravě)

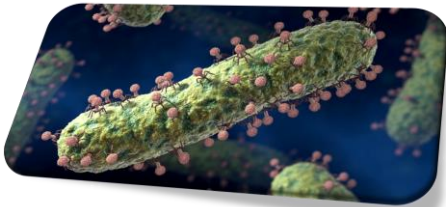
IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Přehled některých zaznamenaných „food-borne“ onemocnění a enterických infekcí v letech 2011 - 2016



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

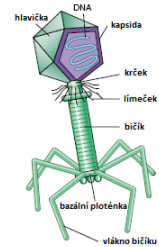
BAKTERIOFÁGY



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

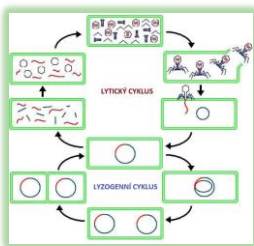
Základní charakteristika

- viry infikující bakterie
- půda, voda, střevo živočichů
- nemají vlastní metabolismus
- nereagují na změny okolí
- DNA x RNA (ss x ds)
- kružnicová x lineární
- ikozahedrální x helikální symetrie



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Životní cyklus bakteriofágů



Virulentní fagy s lytickým životním cyklem

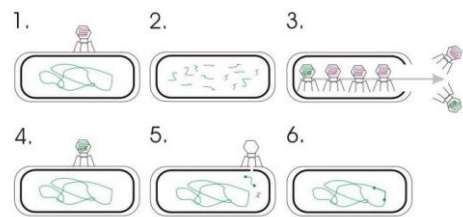
- výsledkem lýza hostitelské bakteriální buňky

Temperované fagy s lyzogenním cyklem

- začlenění do genomu hostitele ve formě profágu

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Transdukcce



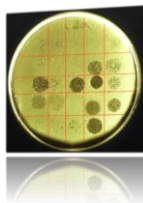
IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Významné vlastnosti a využití

- antibakteriální léčiva
- začlenění do genetického materiálu napadené buňky (pozitivní x negativní lyzogenní konverze)

Fagotypizace

- pomnožení bakteriální kultury
- aplikace na povrch agaru
- aplikace specifických fágů
- inkubace Petriho misek
- odečtení lytických reakcí
- vyhodnocení dle schématu



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

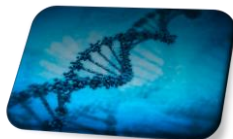
Stanovení virů v potravinách



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Detekce virů v potravinách

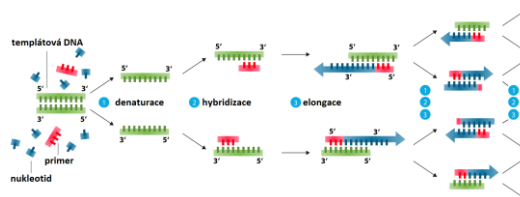
- extrakce virionů (homogenizace a centrifugace vzorku)
- koncentrace viru (kyselé srážením, vyločkování)
- detekce viru vhodnou metodou
- nejčastěji PCR a její modifikace



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

Polymerázová řetězová reakce

- amplifikace DNA
- 3 opakující se kroky



IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

NASBA

- *Nucleic Acid Sequence-Based Amplification*
- nová metoda pro amplifikaci RNA
- 3 enzymy: reverzní transkriptáza, RNáza H, T7 RNA polymeráza
- navržena pro detekci ssRNA
- produktem je ssRNA
- detekce gelovou elektroforézou po obarvení ethidium bromidem
- detekce proteinů HAV, astrovirů a rotavirů

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

TMA

- *Transcription-Mediated Amplification*
- amplifikace zprostředkovaná transkripcí
- amplifikace ssDNA x ssRNA
- 2 enzymy: RNA polymeráza, reverzní transkriptáza
- současná detekce více patogenů v jedné zkumavce
- forenzní obory a medicína

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

SDA

- *Strand Displacement Amplification*
- amplifikace vytěšňováním řetězce
- 2 enzymy: restrikční endonukleáza, DNA polymeráza
- izotermická reakce, simultánní
- široké teplotní rozmezí (37 – 70 °C)
- detekce enterovirů

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

LAMP

- *Loop Mediated Isothermal Amplification*
- amplifikace zprostředkovaná smýčkou
- tzv. „low cost“ metoda
- detekce RNA i DNA
- izotermální reakce (60 – 65 °C)
- prováděna v jediné mikrozkuhavce
- detekce např. pomocí elektroforézy, turbidimetricky či spektrofotometricky

IVA VFU Brno, projekt č. 2018FVHE/2340/53

