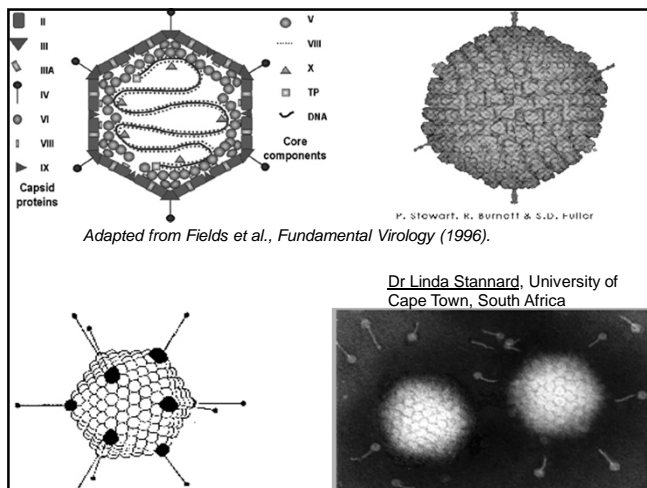


# ADENOVIRIDAE



## GENERALITĂȚI

- virusuri numeroase
- la păsări, mamifere, marsupiale, amfibieni
- afecțiuni
  - sindroame febrile
  - sindroame respiratorii
  - faringo-conjunctivite
  - gastroenterite
- primul izolat în 1953
  - Rowe și colaboratorii
  - din țesut adenoidian și amigdalian uman → "adenovirus"

## CLASIFICARE

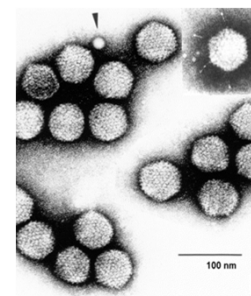
- familia Adenoviridae
  - genul Mastadenovirus
    - mamifere, om, maimuță, ecvine, bovine, canine, porcine, ovine
  - genul Aviadenovirus
    - păsări
      - rațe, curcani, găște, fazani, găini

## GENUL MASTADENOVIRUS

- clasificate în
  - 6 serogrupuri sau subgenuri (A → F) pe baza
    - proprietăților hemaglutinante
    - proprietăților oncogene la rozătoare
    - omologiei ADN
  - 49 serotipuri umane: mai frecvente 1→8; 11, 21, 35, 37, 40
  - serotipurile 40, 41
    - încadrate în grupul F
    - patogeni enterici

## CARACTERE MORFOSTRUCTURALE

- formă sferică
- dimensiuni 70 – 80 nm
- fără înveliș extern

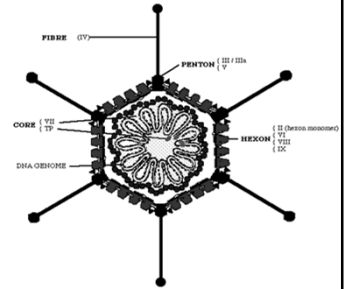


## CARACTERE MORFOSTRUCTURALE GENOMUL VIRAL

- dimensiuni de 20 – 30 x 10<sup>6</sup> Da
- ADN
  - bicatenar
  - liniar
- structuri constitutive majore:
  - 6 regiuni distincte ale genelor timpurii E (early)
    - E1A, E1B, E2A, E2B, E3, E4,
  - 5 regiuni ale genelor târzii L (late)
    - L1, L2, L3, L4, L5
    - rol în sintezele tardive virale

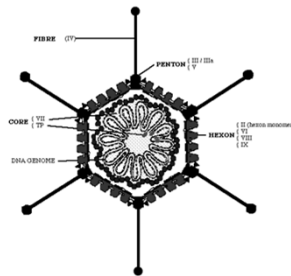
## CARACTERE MORFOSTRUCTURALE CAPSIDA

- capsida icosaedrică
  - 252 capsomere
    - 240 hexoni
    - 12 pentoni



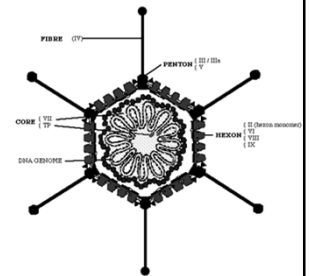
## CARACTERE MORFOSTRUCTURALE CAPSIDA

- la vertex - fiecare penton → proiecții exterioare = **"FIBRE"**
  - 9-31 nm
  - bază de atașare de penton
  - buton terminal (4 nm)
  - determină specificitatea de gazdă
  - toxice pt. celule → rotunjire, moartea celulelor prin inhibarea sintezei proteinelor



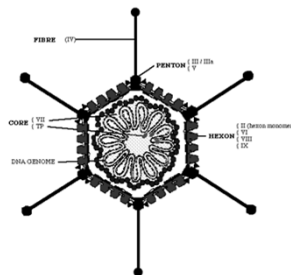
## CARACTERE MORFOSTRUCTURALE CAPSIDA

- hexonii
  - trimeri cu aspect:
    - prismatic în partea superioară
    - pseudoheptagonal în partea inferioară



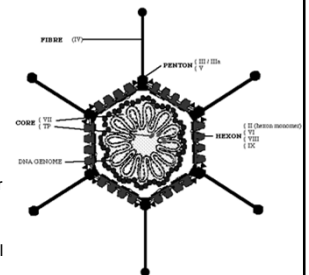
## CARACTERE MORFOSTRUCTURALE PROTEINE CONSTITUENTE

- **proteine structurale capsidale**
  - proteina II – str. hexoni
  - proteina III – baza pentoni
  - proteina IV – proiecții fibroase



## CARACTERE MORFOSTRUCTURALE PROTEINE CONSTITUENTE

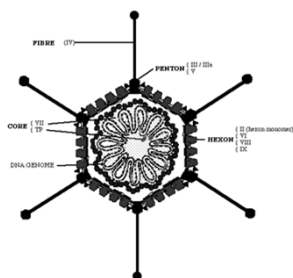
- **proteine asociate capsidei**
  - proteina IX
    - pe fețele centrale
    - stabilizează contactele hexon-hexon
  - proteina IIIa
    - pe muchii
    - leagă fațetele diacente ale hexonilor
  - proteina VI
    - pe fața internă a capsidei
    - legătură între capsidă și centrul viral
  - proteina VIII
    - pe fața internă a capsidei



## CARACTERE MORFOSTRUCTURALE PROTEINE CONSTITUENTE

### □ **proteine asociate centrului viral**

- mențin condensat ADN-ul viral
  - proteina internă V
  - proteina internă VIII
  - proteina internă X



## STRUCTURA ANTIGENICĂ

### □ HEXONII CONȚIN

- Ag comun de grup (subgen)
  - pe fața internă a capsidului, la baza hexonului
  - determină reacții încrucișate
  - nu induce Ac protectori
- Ag specific de tip
  - în partea superioară a hexonului
  - induce Ac neutralizanți

## STRUCTURA ANTIGENICĂ

- PENTONII CONȚIN
  - Ag solubil comun de grup
- FIBRELE
  - Ag specific de tip
    - induce Ac neutralizanți
- ANTIGENELE T (tumorale)
  - 2 Ag codificate de regiunea genomică E1A
  - 2 Ag codificate de regiunea genomică E1B

## VARIABILITATE GENETICĂ

- genomul se modifică continuu
- recombinările frecvente
- importanță
  - aspecte clinice și epidemice diferite
  - vaccinuri

## PROPRIETĂȚI BIOLOGICE

### □ **PROPRIETĂȚI HEMAGLUTINANTE**

- prin atașarea fibrelor la receptorii eritrocitari
  - aglutinează hematii de
    - maimuță Rhesus
    - șobolan
    - om
    - câine
    - șoarece
- } subgrupe I - IV

## PROPRIETĂȚI BIOLOGICE

### □ **PROPRIETĂȚI TOXICE**

- în culturi celulare
  - e.c.p. de tip toxic
    - exercitat de pentoni
    - rotunjire, desprindere rapidă a monostraturilor (24-48 ore)
  - inhibarea sintezei macromoleculilor gazdei de către fibrele pentonice
    - ADN, ARN, proteine

## PROPRIETĂȚI BIOLOGICE

### □ **PROPRIETĂȚI ONCOGENE**

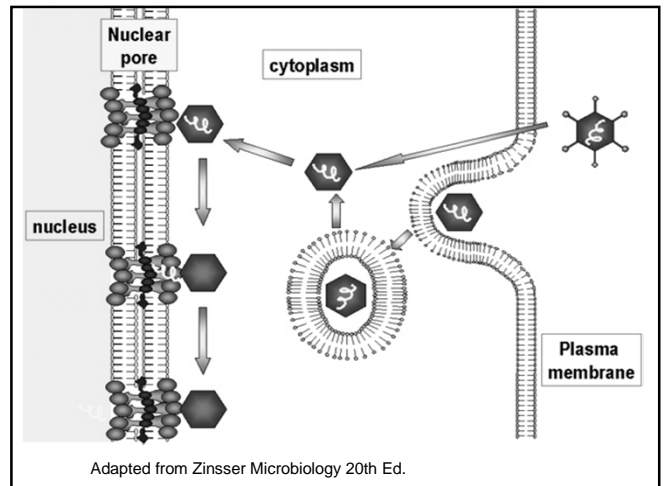
- **demonstrate la animale**
  - *in vivo*
    - adenovirusuri A – înalt oncogene
    - adenovirusuri B – slab oncogene
    - celelalte subgenuri nu induc tumori
  - *in vitro*
    - toate adenovirusurile induc transformarea celulelor nepermissive de hamster
    - în celulele transformate – ADN viral integrat
- **în tumori umane – NU s-a identificat ADN adenoviral**

## ACȚIUNEA AGENȚILOR FIZICI ȘI CHIMICI

- stabili la acțiunea agenților fizici și chimici → supraviețuire și răspândire
- se conservă la
  - +40°C luni de zile
  - -20°C -70°C ani de zile
- distruse de căldură
  - +56°C în 30 min.

## MULTIPLICARE VIRALĂ

- I. ADSORBȚIE
  - prin proteinele fibrei
- II. PĂTRUNDERE
  - endocitoză
- III. DECAPSIDARE
  - deplasarea pentonilor și hexonilor
  - ajutorul integrinelor celulare
  - eliberat centrul viral în citoplasma celulei



## MULTIPLICARE VIRALĂ

- eliberat centrul viral în citoplasma celulei
- decapsidarea completă în membrana nucleară
- ADN viral intră în nucleul celulei – declanșează sintezele virale

### IV. BIOSINTEZELE VIRALE

- ETAPE TIMPURI de tranziție și translație
- REPLICAREA GENOMULUI
- ETAPE TÂRZII de tranziție și translație

## MULTIPLICARE VIRALĂ

- **ETAPE TIMPURI de tranziție și translație**
  - a. transcrierea ARNm "precoce"
    - are loc pe genele E1A
    - duce la sinteza proteinelor "precoce funcționale"
      - controlează și activează etapele ulterioare de sinteză virală
      - inhibă sinteza macromoleculilor gazdei
      - activează transcrierile timpurii
      - se pot lega de oncogenele *myc* și *mib*

## MULTIPLICARE VIRALĂ

### ➤ ETAPE TIMPURIIL de tranziție și translație

- b. transcrierea ARNm "timpurii"
  - pe genele E1B, E2A, E3, E4
  - duce la sinteza proteinelor "timpurii"
    - la 2-3 ore de la infecție
    - transportul ARNm specific în citoplasmă
    - la nivelul poliribozomilor
    - rol în
      - replicarea ADN
      - sinteza proteinelor tardive

## MULTIPLICARE VIRALĂ

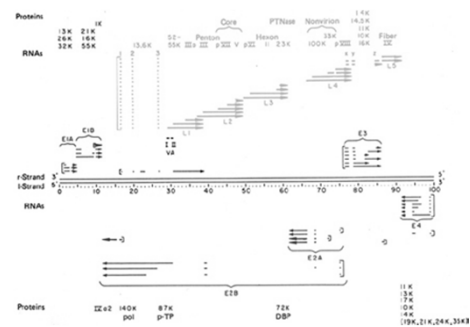
### ➤ REPLICAREA GENOMULUI

- în nucleul celular
- anterioară sintezei proteinelor târzii
- necesită proteine virale și enzime celulare

## MULTIPLICARE VIRALĂ

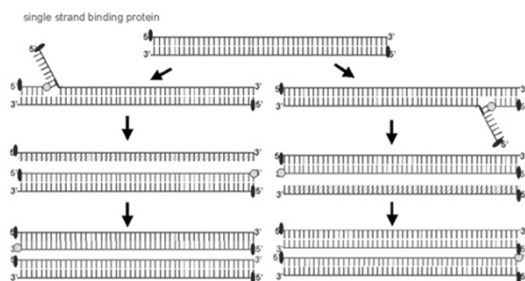
### ➤ ETAPE TÂRZII de tranziție și translație

- transcriere ARNm tardiv
  - după replicarea ADN genomic
  - pe regiunile L1-L5
  - sinteza a 13 proteine
    - structurale: hexoni, pentoni, fibre
    - nestructurale: pt. asamblarea capsidei



Schema transcripției unui adenovirus. Genele timpurii apar în roșu. Genele târzii apar în verde. Linile albastre indică ADN.

Square brackets indicate the promoters. Missing regions indicate removal of introns. Adapted from Broker, T.R. In Processing of RNA. (Apirion, D ed) 181-212, 1984

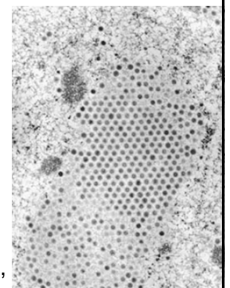


Adenovirus DNA replication by a displacement mechanism

## MULTIPLICARE VIRALĂ

### V. ASAMBLAREA VIRALĂ

- în nucleul celulei
- proteinele etapei timpurii și tardive – transportate din nou în nucleu
- asamblarea capsomerelor în capsidă, a ADN în virion
- exces de ADN viral în nucleul celulei – formațiuni paracristaline, incluzii bazofile



## MULTIPLICARE VIRALĂ

### VI. ELIBERAREA VIRIONILOR DIN CELULĂ

- prin dezintegrarea celulei

## CULTIVARE

- CULTURI DE CELULE
- ANIMALE

## CULTURI DE CELULE

- linii celulare
  - HeLa, KB, Hep-2, A<sub>549</sub>
- culturi primare de rinichi embrionar uman
- culturi diploide WI38, MRC5

## CULTURI DE CELULE

- ecp
  - la 4-6 zile de la inoculare
  - la periferia monostratului
  - rotunjire, aglomerări "în ciorchine"
  - desprinderea
  - modificări nucleare
    - creșterea în dimensiuni a nucleului
    - incluzii intranucleare eozinofile apoi bazofile
      - ADN și proteine virale

## ANIMALE

- șobolanul de bumbac (*Sigmodon hispidus*)
- șoareci
- infecții inaparente la
  - hamsteri, cobai, iepuri, porci, câini

## ASPECTE CLINICE

- afecțiuni respiratorii
- afecțiuni oculare
- afecțiuni gastro-intestinale
- afecțiuni uro-genitale
- afecțiuni ale sistemului nervos

## ASPECTE CLINICE

### □ AFECȚIUNI RESPIRATORII

- subgenurile
  - B tipuri 3, 7, 14, 21, 34, 35
  - C tipuri 1, 2, 5, 6
  - E tipul 4
- infecție respiratorie acută
- faringită acută febrilă
- pneumonie
- febra faringo-conjunctivală

## *infecția respiratorie acută*

- simptome
  - febră
  - stare generală alterată
  - faringită
  - tuse
- tineri militari “boala recruților”
- durata 10 zile
- tip 4, 7, rar 3, 11, 14, 21

## *faringita acută febrilă*

- simptome
  - febră
  - stare generală alterată
  - faringită
  - tuse
- copii
- tip 1, 2, 5, 6
- complicații
  - bronșită
  - bronșiolită
  - crup

## *pneumonia*

- simptome
  - febră
  - stare generală alterată
  - faringită
  - tuse
- copii
- evoluție fatală (8-10%)
- tip 7, 3

## *febra faringo-conjunctivală*

- incubație 1 – 8 zile
- simptome
  - febră
  - stare generală alterată
  - faringită
  - tuse
  - conjunctivită
  - adenopatie
  - hipertrofie amigdaliană
  - uneori diaree
- tip 3, 7, 14
- din apa contaminată a bazinelor
  - “swimming pool conjunctivitis”

## AFECȚIUNI OCULARE

- adenovirusuri A și E
- *conjunctivita foliculară*
  - tip 4, 8, 9
- *keratoconjunctivita epidemică*
  - tip 8, 19, 37
  - incubație 8-10 zile
  - edem pleoape, dureri oculare, fotofobie, infiltrații corneene subepiteliale, hipertrofia ggl preauriculari, cervicali, submaxilari
- *conjunctivita hemoragică acută*
  - tip 11, rar 21 (grup B)

## AFEȚIUNI GASTROINTESTINALE

- gastroenterita acută*
  - copii
  - diaree, deshidratare
  - subgen F (40, 41); A (31); C (2)
- enterocolita acută necrozantă*
- apendicita*
- intususcepția*
  - telescoparea porțiunii inferioare a intestinului → ocluzie intestinală
  - cauza: hipertrofia structurilor limfoide intestinale

## AFEȚIUNI UROGENITALE

- cistita hemoragică acută*
  - subgrup B (11, 21)
  - băieți
  - hematurie, disurie, poliurie
- uretrita*
  - bărbați
  - serotip 37
- cervicita*
  - femei
  - serotip 37
- infecții persistente ale rinichiului*
  - subgen B (11, 14, 15)

## AFEȚIUNI ALE SISTEMULUI NERVOS

- meningoencefalita*
  - subgen B și C (3, 5, 6, 7, 12, 32)
- sindrom Reye*
  - rar, la copii

## adenoviroze în imunodeficiență

- evoluții grave, mortalitate ridicată

## IMUNITATE

- umorală
  - rol major în protecție
  - Ac neutralizanți
  - transmiti transplacentar (6-11 luni protectivi)
    - Ac față de Ag specifice de tip
      - seroneutralizanți
      - hemaglutinoinhibanți
      - persistă ani de zile
    - Ac anti-Ag comun de grup
      - fixatori de complement
      - nu sunt protectori
      - persistă 6 – 12 luni

## IMUNITATE

- celulară
  - limfocite T cu receptori CD4 și CD8
  - interferon  $\gamma$
  - TNF- $\beta$
  - IL-2

## EVITAREA RĂSPUNSULUI IMUN

- inhibarea prezentării și recunoașterii Ag
- modularea apoptozei

## EPIDEMIOLOGIE

- răspândire globală
- caracter
  - sporadic
  - endemo-epidemic
  - sezonier: iarna, primăvara, începutul verii
- sursa: omul bolnav
- transmitere: fecal-orală; aerogenă; apă contaminată, mână murdară,
- susceptibilitate generală, rezistență la reinfecție

## PROFILAXIE

- MĂSURI GENERALE
  - igiena individuală, sterilizare instrumentar, clorinarea apei
- PROFILAXIE SPECIFICĂ
  - vaccinuri vii atenuate mono-, bi-, trivalente
    - sc, oral
    - unități militare
  - vaccinuri subunitare
    - încercări
    - conțin hexoni sau/și fibre

## TRATAMENT

- INEFICIENT

## DIAGNOSTIC DE LABORATOR

### A. EXAMEN DIRECT

1. evidențierea virionului
  - > ME
    - > pe secțiuni tisulare fixate și colorate
    - > colorație negativă – concentrate de urină, secreții respiratorii, materii fecale
  - > IME

șiruri paralele cristaline în nucleul celulei

## DIAGNOSTIC DE LABORATOR

### A. EXAMEN DIRECT

2. evidențierea Ag virale
  - > pe preparate celulare prin:
    - > IF cu seruri antihexon sau antivirion
    - > IF optimizată TR-FIA
      - > *time-resolved immunofluoroassay*
      - > cu Ac marcați cu europium
    - > teste imunoenzimice ELISA
      - > cu Ac monoclonali
    - > RIA
    - > contraimmunoelectroforeza

## DIAGNOSTIC DE LABORATOR

### A. EXAMEN DIRECT

3. detectarea ADN-ului viral
  - > pt tipurile 40, 41
  - > în materiile fecale
  - > tehnica
    - > amplificare genomică PCR
    - > hibridizare ADN

## DIAGNOSTIC DE LABORATOR

### B. IZOLARE ȘI IDENTIFICARE

- ❖ numai în culturi celulare
    - ❖ primare de origine umană – rinichi embrionar
    - ❖ diplode umane WI 38, MRC 5, FT (amigdale fetale)
    - ❖ linii continui HeLa, KB, Hep-2, A 549
- serotip 40, 41**
- > cultivare dificilă
  - > culturi terțiare de celule renale cynomolgus
  - > culturi derivate din linia HEK

## DIAGNOSTIC DE LABORATOR

### B. IZOLARE ȘI IDENTIFICARE

- ❖ e.c.p.
  - ❖ la 4-6 zile de la inoculare
  - ❖ rotunjire, creșterea refringenței, creșterea volumului celulei, focare de celule aglomerate
  - ❖ degenerarea monostratului în 14-16 zile
  - ❖ în lichidul de cultură – eliberate
    - ❖ Ag virale solubile
    - ❖ Ag hemaglutinante
    - ❖ virus

## DIAGNOSTIC DE LABORATOR

### B. IZOLARE ȘI IDENTIFICARE

- ❖ optimizarea izolării :
  - ❖ centrifugare imediat după inocularea culturii
- ❖ identificarea, în etape
  1. încadrare în adenovirusuri: IF, ELISA, TR-FIA, RFC, latex-aglutinare
  2. încadrare în subgen:
    - ❖ HA cu hematii de șobolan, maimuță, om
    - ❖ teste complementare: IF, EIA, RFC cu seruri specifice antihexon sau Ac monoclonali antihexoni
  3. serotipajul izolatului: SN, HAI

## DIAGNOSTIC DE LABORATOR

### D. DIAGNOSTIC SEROLOGIC

- \* probe duble de ser la 2-4 săptămâni
- \*\* RFC
  - \* Ag supernatante de cultură / preparate semipurificate de hexoni
  - \* sensibilitate mică
- \*\* EIA – mai sensibile
- \*\* HAI
  - \* determină Ac specifici de tip
- \*\* SN
  - \* determină Ac specifici de tip