

## Hoofdstuk 2 – Algemene eigenschappen van virussen

Virussen = agentia met genoom bestaande uit nucleïnezuur elementen, die repliceren in levende cellen, en die gespecialiseerde structuren maken (virions) die het genoom kunnen overdragen naar andere cellen.

	<i>prionen</i>	<i>viroiden</i>	<i>virussen</i>	<i>rickettsiën</i>	<i>mycoplasmen</i>	<i>bacteriën</i>	<i>fungi</i>
<i>afmeting</i>	?		20-350 nm	200-500 nm	150-200 nm	350-5000	>1000
<i>nucleïnezuur</i>	-	RNA	RNA/DNA	DNA & RNA			
<i>vermeerdering</i>	alleen intracellulair				ook buiten cel		

Virussen: 1 soort nucleïnezuur (RNA of DNA), vermeerderen alleen intracellulair, geen celorganellen, laten zich vermenigvuldigen door gastheer.

Virusinfectie = geheel van de processen die zich in de cel voltrekken na introductie viraal genoom → meestal nieuwe virussen.

Zuivering virussen:

- stap 1: centrifugatie bij laag toerental, grootste verontreinigingen gesedimenteerd, virussen niet gesedimenteerd
- stap 2: virus concentreren dmv. sedimentatie in ultracentrifuge
- stap 3: rate zonal centrifugation = zuivering obv. sedimentatie, snelheid ~ grootte virus (++) en densiteit virus en densiteit gradiënt, densiteit gradiënt < densiteit lichtste partikel.
- stap 4: isopycnic centrifugation = zuivering obv. zweefdichtheid, sedimentatiesnelheid ~ densiteit virus, densiteit gradiënt onderaan > densiteit zwaarste partikel. Partikels blijven tegen laag plakken waar ze niet meer door kunnen omdat de densiteit daar te hoog is.

Chemische bestanddelen virussen:

- merking met radio-isotopen
  - SDS-polyacrylamidegel electroforese
- } vaak in combinatie met elkaar gebruikt
- nucleïnezuur: 1 type (DNA óf RNA), colineair (1 streng) of gesegmenteerd (fragmenten), enkel- (ss) of dubbelstrengig (ds). Graad verwantschap bepalen: knipplaatsen in viraal genoom bepalen:
    - RNase TI fingerprinting (RNA-virus)
    - restrictie-enzymkaarten (DNA-virus)
  - eiwitten: alle structurele, want niet-structurele worden niet in virion gebouwd → functie bij vermeerdering. Bescherming nucleïnezuur, receptoren (→ virus-cel specificiteit), antigenen (→ induceren As (interne en externe structurele en niet-structurele eiwitten)), symmetrie virus, enzym (niet bij alle virussen)
  - vetten en koolhydraten: alleen in enveloppe (muv. grote en ingewikkelde virussen), cellulaire oorsprong (gastheer) → niet virusspecifiek, virale genoom hiervoor geen info
    - vetgedeelte: celspecifiek, virussen met lipoproteïnemantel sneller aangetast (bv. vetoplossende stoffen)
    - koolhydraten: glycolipiden (celspecifiek) en glycoproteïnen (proteïnedeel virusspecifiek, koolhydraatdeel grotendeels celspecifiek)

Morfologie en structuur diervirussen:

- afmeting: 15-350 nm → ultrafiltratie, electronenmicroscop (negatieve kleuring, ultradunne sneden, schaduwtechniek), X-straal kristallografie, ultracentrifugatie
- structuur: nucleoid (= nucleïnezuur + evt. nucleoproteïnen) + kapsied = nucleokapsiek, enveloppe = huls
  - kapsied: morfologische eenheden van identieke polypeptideketens/groepen polypeptiden = kapsomeren
  - peplomeren (= spikes): op enveloppen
  - symmetrie: kubisch (icosahedron, 20-vlak), schroefvormig (nucleokapsied buisvormig, steeds matrix + enveloppe), complex
- vorm: sferisch (meest, vaak polymorf), balkvormig (poxviridae), kogelvormig (rhabdoviridae).

## Hoofdstuk 3 – Classificatie en systematiek van diervirussen

Criteria voor classificatie:

- vroeger: neurotrope, dermatrope, endotheliotrope, pantrope → respiratoire, enterische, arthropod-borne → fysische, chemische, antigene eigenschappen (nu)
- viraal nucleïnezuur: DNA/RNA, moleculair gewicht, configuratie (lineair, cirkel), voorkomen (ss/ds, fragmenten)
- virion: afmeting, soort symmetrie, enveloppe
- antigene verwantschap: serologische verw., virussen die kruisimmunitet veroorzaken zijn serologisch verwant, maar niet alle serologisch verwante virussen veroorzaken kruisimmunitet

Familia (...viridae): 22

Genera (...virinae) subfamilia

Species (lid): veroorzaken bepaalde ziekte bij gastheer

Serotypen: grote antigene verschillen binnen species, weinig kruisimm.

Subtypen: binnen 1 serotype relatief (!) kleine Ag verschillen, nauwelijks kruisimm.

Varianten: 90% verwant, maar juist As op 10% variatie, verschillen in virulentie/plaquemorfologie/hemagglutinine/..., waarschijnlijk mutanten, vaak kruisimm. (ook varianten binnen species zonder sub- of serotypen)

Virusisolaat = als virus voor het eerst in een labo tot vermeerdering is gebracht.

Virusstam = na enige passages in labo en nadat eigenschappen beter bekend zijn.

### Bespreking te kennen virussen

#### **Familia Herpesviridae**

Gehulsd, lineair dsDNA, niet zeer resistent, soms gepaard met huiduitslag, meestal latente infecties, sommige oncogeen.

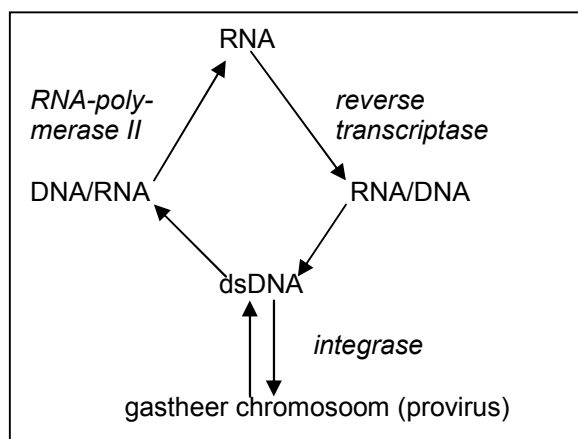
- Genus 1 – Alphaherpesvirinae
  - humaan herpesvirus (HHV):
    - HHV1: oraal type, koortsblaren, oogaandoeningen, encephalitis;
    - HHV2: genitaal type, letsels slijmvliezen geslachtswegen, soms geassocieerd met baarmoederhalskanker (icm. papillomavirus);  
1+2: veralgemeende infectie en dood pasgeborenen;
    - HHV3 = Varicella-Zoster virus (VZV): water-/windpokken bij kinderen (Varicella) → zona = gordelroos bij volwassenen (80+) (Zoster)
  - herpesvirus van de aap = herpes B: milde letsels lippen en mondslijmvliezen, fatale encephalitis bij mens
  - swine herpesvirus (SHV) 1 = ziekte van Aujeszky: centraal zenuwstroomnissen, AHstoornissen, abortus, mummificatie, ook pathogeen (fatale encephalitis) voor Bo, Ov, Cap, Cun, Fe, nerts e.a. DS
  - boviene herpesvirus (BHV) 1 = IBR-IPV virus (infectieuze boviene rhinotracheïtis – infectieuze pustuleuze vulvovaginitis): AHS, conjunctivitis, abortus, CZstoornissen, diarree
  - equine herpesvirus (EHV)
    - EHV1 = rhinopneumonievirus: AHS, abortus
    - EHV3 = coïtaal exantheem virus: pustuleuze letsels slijmvliezen geslachtswegen
  - feliene herpesvirus (FHV) 1: rhinotracheïtisvirus: AHS (niesziekte)
  - caniene herpesvirus (CHV) 1: veralgemeende ziekte en hoge sterfte (tot 14d), letsels geslachtswegen (oudere dieren)
  - gallid herpesvirus 1 = infectieuze laryngotracheïtis (ILT) (kip): AHS
- Genus 2 – Betaherpesvirinae: latente infecties klierweefsel, nier, erg DS specifiek
- Genus 3 – Gammaherpesvirinae: lymfoproliferatieve infecties en tumoren bij natuurlijke gastheer, tasten specifiek B of T lymfocyten aan
  - gallid herpesvirus 2 = Marek virus: kwaadaardige tumoren kippen (proliferatie T-lymfocyten → rond *n. femoralis* → pootverlamming)
  - kalkoen herpesvirus: subklinisch, kruisimm. met Marek

### Familia Orthomyxoviridae

"Echte slijmvirussen", vnl. AHS, hemagglutinerende eigenschappen, Hemagglutinine en Neuraminidase spikes, 8 stukken ssRNA, makkelijk recombinitie: "antigenic shift"; kleinere seizoensmatige variaties: "antigenic drift".

- Genus Influenzavirus: 3 serotypen A, B, C obv. nucleoproteïne Ag, A en B subtypen obv. verschillen H en N; koorts, hoofdpijn, spierpijn, braken, neusloop, keelontsteking, bronchitis (géén intestinale problemen → "buikgriep" bestaat niet!), mogelijk dodelijk voor kinderen, oudere, zwakken
  - type A: meerdere varianten → steeds nieuwe As nodig. Ho: H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>. Eq: H<sub>7</sub>N<sub>7</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>8</sub>. Su: H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> (interspecies overdracht vnl. Ho→Su, minder andersom). Vogels: H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> ("vogelpest", 1997, 2001, 2003, Hongkong, 50% sterfte Ho), H<sub>7</sub>N<sub>1</sub> (1999 Italië, 13 miljoen kippen geslacht), H<sub>7</sub>N<sub>7</sub> (2003 NL BE, 33 miljoen kippen geslacht, 68 Ho besmet, 1 dode)
  - type B: 4 serotypes, enkel Ho, nucleoproteïnen en H en N verschillen volledig van type A, geen drift of shift, minder verspreid maar even ernstig als A
  - type C: geen aparte N-spikes, geen subtypen, niet frequent, niet van verkoudheid te onderscheiden

### Familia Retroviridae



Genoom = geïnverteerde dimeer van lineair ssRNA met positieve polariteit, eiwit info in 3 genen: gag-gen: interne, niet-geglycosyleerde eiwitten, pol-gen: reverse transcriptase (polymerase), env-gen: matrix en envelope-proteïnen.

Sommige veroorzaken kwaadaardige tumoren, vnl. in hemopoëtisch stelsel. Genoom aviaire, feliene en sommige muriene sarcomavirussen defectief = kunnen niet zonder hulp repliceren, missen minstens deel gag/pol/env-gen om plaats te maken voor onc-gen.

- Subfamilia Oncornavirinae: exogeen (horizontale verspreiding)/endogeen (in kiemlijn gebouwd → Mendeliaanse overerving), endogene meestal onderdrukt (belang: xenotransplantaties); frequent recombinitie virus-gastheer DNA → nieuwe oncogene virussen, meestal defectief; 4 types: A, B, C, D.

- type C van zoogdieren: leukemie
  - leukosevirus rond: enzoötische boviene leukemie (EBL) en peristerende lymfocytose (PL)
  - leukemievirus van de kat (feline leukaemia virus, FeLV): leukemie, lymfosarcoma, leukemie-geassocieerde ziekten, recombinitie met cellulaire oncogenen → defectieve fibrosarcoma virussen, 3 subgroepen: A (infectieus), B, C (defectief)
- type C van vogels: 7 serotypen (A-G) infectieuze leukosevirussen (Avian Leukosis Viruses, ALV = Rous-associated viruses, RAV): lymfoïde leukose, reticulo-endotheliose, tumoren hemopoietische cellen; ook defectieve sarcomavirussen (Rous sarcoma): mbv. vorige sarcoma's (RAV)
- Subfamilia Lentivirinae: trage incubatie, persisterende infecties, ziekten chronisch, traag, progressief, fataal; gemakkelijk antigene variaties
  - humaan immunodeficiëntie virus (HIV) 1 en 2: AIDS (acquired immunodeficiency syndrome)
  - simian IV (SIV): immunodeficiëntie bij wilde apen
  - feliene IV (FIV): ook andere katachtigen, ook geïsoleerd bij volledig gezonde katten, gekenmerkt door allerlei aandoeningen van de slijmvliezen
  - boviene immunodeficiëntie-achtige V (BIV): geïsoleerd bij persisterende lymfocytose, pathogene betekenis niet gekend
  - zwoegerziekte = Visna-Maedi: schaap, subklinisch of chronische pneumonie (maedi, zwoegerziekte) en/of encephalomyelitis (Visna), cachexie (= totale verzwakking), sterfte

- capriene arthritis-encephalitis (CAV): sterk verwant aan vorige, arthritis-synovitis, encephalitis, klein %
- equiene infectieuze anemie (EIA, infectieuze anemie virus IAV): persisterend, koortsperiodes, anemieaanvallen (= immunopathologische uiting)

**Prionen:** spongiforme encephalopathieën

Lange incubatieperiode, meestal vacuolisatie grijze stof, zenuwstoornissen: ataxie (= niet kunnen lopen), motorische problemen, dementie, progressief fataal, geen ontstekingsreacties, geen immunologische reactie. Zeer resistent. Proteinious infectious particles. 2 configuraties: onschadelijke PrP<sup>c</sup> (cellulair) op alle normale celmembranen, schadelijke PrP<sup>sc</sup> (scrapie) β-sheet ipv. α-helix, zet ook alle goede om in slechte (autokatalytisch).

- Kuru (Ho): chronische degeneratie CZS
- Creutzfeldt-Jakob (Ho): preseniele dementie, iatrogene transmissie
- Scrapie (Ov, Cap): intense jeuk, tremor, ataxie, paralyse, incubatietijd 1-4 jaar
- boviene spongiforme encephalopathie (BSE), dog ataxia, cat dysautonomia, mink encephalopathie: veroorzaakt door voeding met scrapie geïnfecteerde eiwitbronnen

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Cu<sup>2+</sup> enige bruikbare desinfectans.

## Hoofdstuk 4 – Invloed fysische en chemische agentia op virussen

Infectiviteit = vermogen om na contact met gevoelige cellen vermeerderd te worden.

Virusinactivatie = verlies infectiviteit door denaturerende werking fysische/chemische factoren, buiten de cel, meestal irreversibel.

Antivirale chemotherapie: door inwerking stoffen op intracellulaire virusontwikkeling, reversibel (virostatisch)/irreversibel (virucied). Nucleoïd, kapsied en eiwitmantel/enveloppe essentieel voor infectiviteit.

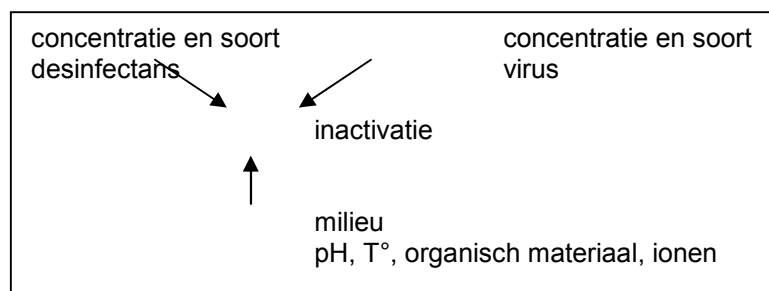
Geïnactiveerd vaccin:

- wild type virus (virulent = ziekmakend)
- 100% geïnactiveerd maar antigeniteit (eiwit) als wild type
- wordt ingespoten (2x)
- veel virus/dosis → voor veel antistoffen

“Levend” verzwakt vaccin:

- verzwakt virus (avirulent)
- moet nog kunnen vermenigvuldigen → mag niet geïnactiveerd zijn
- lokaal toedienen of 1x inspuiten
- weinig virus/dosis → vermenigvuldigt → voldoende antistoffen

Inactivatie in het algemeen exponentieel (logaritmische curve).



Organisch materiaal vertraagt efficiëntie inactivatie: virus beschermd/desinfectans gebonden.

Inactiverende/preserverende agentia:

- fysische
  - temperatuur: gevoeligheid verschillende virussen variëren sterk (rota, entero, pokken, HBV, prionen bieden meer weerstand), bij  $T > 60^{\circ}\text{C}$  verliezen virussen infectiviteit en antigeniteit, organische stoffen hebben een beschermend effect

	<i>virussen</i>	<i>bacteriën</i>	<i>sporen</i>
$121^{\circ}\text{C}$	<1 min	<1	20
$100^{\circ}\text{C}$	1	<1	1200
ca. $60^{\circ}\text{C}$	30-60	10-30	nooit
$22^{\circ}\text{C}$	dagen	nooit	nooit
$4^{\circ}\text{C}$	weken	nooit	nooit
$-60^{\circ}\text{C}$	jaren	nooit	nooit

→ autoclaaf  
→ koken steriliseren  
→ pasteurisatie

- drogen: boven vriespunt nadelig (muv. pokken, MKZ), bij lyofylisatie (vriesdrogen, vacuüm) infectiviteit bewaard
- ultrasonisatie: vnl. effect op grote partikels → gebruikt om virussen/bacteriën onbeschadigd vrij te maken uit cellen
- ioniserende stralen:  $\beta$ ,  $\gamma$ , röntgen, antigeniteit bewaard
- niet-ioniserende stralen: UV (250-300 nm): beschadigt nucleïnezuur → antigeniteit niet aangetast, oppervlakkige werking door slechte penetratie door grote golflengte, stoffen met zelfde absorptiespectrum (ca. 260 nm) werken beschermend, virussen in zomer vlugger geïnactiveerd (zon!)
- chemische
  - pH medium: meeste stabiel bij pH 6-8 (7-7,5 optimum), sommige zuurstabiel: peroraal opgenomen → maagpassage, weinig virussen stabiel bij  $\text{pH} > 8$  → NaOH effectief
  - samenstelling medium: zoutgehalte weinig kritiek, glycerine stabiliserend
  - (an)organische stoffen: desinfectantia (oppervlak inert materiaal), antiseptica (huidoppervlak), chemotherapeutica (inwendig, parenteraal)
    - chloor: virussen, gram+ en gram- bacteriën, fungi, sporen (enterovirussen resistent); oxidatie en chloratie; geneutraliseerd door organisch materiaal, metalen, alkaliën-resten; best als HClO; desinfectie  $\text{H}_2\text{O}$ ; irriteert huid, ogen, longen
    - aldehyden: bv. formaldehyde; alle agentia; alkylatie DNA/RNA/(eiwitten); irriterend voor huid, ogen, long

## Hoofdstuk 5 – Vermeerderingscyclus van virussen

Eclips fase = ontmanteling infectieuze partikels → geen virus teruggevonden intracellulair, 3-10 uur, vorming nieuwe viruspartikels.

Naakte virussen eerst intracellulair aantoonbaar, later extracellulair; gehulsde rijpen meestal aan celmembraan → direct in extracellulaire vloeistof (zie figuren cursus).

Duur vermeerderingscyclus varieert sterk:

RNA (picorna): 5-6 uur	vacciniavirus: 18-24 uur	influenzavirus: 18-36 uur
papovavirus: 24 uur	adenovirus: 36-48 uur	

Stadia:

1. adsorptie: contact met gevoelige cel = toeval, specifieke vasthechting, virus-cel specificiteit bepaald door aanwezigheid receptoren cel waarvoor virus receptor-bindingsplaatsen heeft, verschillende virussen binden aan verschillende receptoren, primaire functie celreceptoren uiteraard niet voor virussen (nodig bij normale cel-cel-interactie).
2. penetratie: endocytose (naakte/gehulsde) of fusie (sommige gehulsde) of transfectie (viraal genoom rechtstreeks in cel gebracht → mogelijk cel te besmetten die niet de juiste receptoren heeft, alleen bij virussen zonder structurele enzymen)
3. ontmanteling: door verlaging pH endosoom en/of tussenkomst cellulaire enzymen
4. biosynthese virale componenten: tijdens eclipsfase; in cytoplasma (RNA virus, eiwitsynthese DNA virus) en kern (DNA synthese DNA virus); door overname cellulair biosynthetisch mechanisme, soms "celinhibitoren" gevormd → duidelijk pathogeen effect; negatief-strengs = complementair met mRNA, positief-strengs = zelfde als mRNA → negatieve streng tussendoor gemaakt

- a. DNA virussen: vroege periode: synthese vroege mRNA's (transcriptie voor begin replicatie virale DNA) → synthese vroege niet-structurele eiwitten; late periode: synthese mRNA voor structurele eiwitten (na start virale-DNA replicatie); translatie virale mRNA's aan ribosomen cytoplasma, replicatie virale DNA in celkern; vrijzetting door lyse geïnfecteerde cel
  - b. RNA virussen:
    - i. eerste wijze (picornavirussen): viraal-RNA fungeert als mRNA = positief-strengig, translatie tot 1 groot eiwit → geknipt tot niet- en structurele eiwitten, RNA-afhankelijk RNA-polymerase noodzakelijk voor vorming nieuw virus-RNA (vorming negatief → positief)
    - ii. tweede wijze (grotere virussen zoals (para)myxovirussen): negatief-strengig → positieve streng die fungeert als mRNA
    - iii. vierde wijze (retrovirussen): positief RNA → DNA (mbv. RNA-afhankelijk DNA-polymerase = reverse transcriptase) → dsDNA → geïntegreerd in cellulaire DNA → synthese viraal RNA (zie figuren cursus)
5. rijping en vrijkomen virussen uit de cel
- a. DNA virus zonder enveloppe: rijping in kern; RNA virus zonder enveloppe: cytoplasma; samenkomen kapsied en viraal nucleïnezuur = ongeordend proces → niet steeds efficiënt → 0,1-1% infectieus; vrijkomen door autolyse cel
  - b. virussen met enveloppe: vrijkomen door "budding" thv. celmembraan of rER = omgekeerde invaginatie, cel niet noodzakelijk irreversibel beschadigd
  - c. HIV/influenzavirus: rijping na verlaten cel: protease moet nog glycoproteïne klieven

#### Uitzonderingen normale vermeerdering:

- abortieve infecties: na vermeerdering geen infectieus virus vrij uit cel, doordat niet alle noodzakelijke virale componenten gevormd/geen virusrijping/enkel niet-infectieus virus vrij, in bv. non-permissieve cellen, ligt aan de cel, want virus kan wel vermeerderen in andere cel(soort)
- defectieve (deletiemutant) virussen: alleen normale vermeerdering als "helpervirus" in zelfde cel aanwezig is, bv. Rous sarcomavirus (RSV): ontbreken genen voor productie externe eiwitten, na infectie: tumor (alleen productie virale nucleïnezuurmoleculen), later ook besmetting met aviaire leukose virus (ALV = helper): ook productie kapsied → vrijzetting beide virussen; als eerst ALV en daarna RSV: geen sarcoma, RSV geblokkeerd (interferentie)
- celgeassocieerde virussen: zetten geen virions vrij, maar besmetten direct naastliggende cellen zonder extracellulair te geraken, bv. herpesvirus (Marek, katarrhaalkoorts)
- interferentie: onafhankelijk van kruisimmunititeit
  - autoïnterferentie: tov. eigen soort (vaccin ↔ wild type)
  - homologe interferentie: tov. eigen familie (mazelen ↔ hondenziekte)
  - heterologe interferentie: verschillende families (hondenziekte ↔ hondenadenovirus)gebaseerd op intracellulaire vorming antiviraal eiwit = interferon, beschermt omliggende cellen tegen grote variëteit virussen. Of gebaseerd op bezetten receptoren door 1<sup>e</sup> virus → 2<sup>e</sup> geraakt zelfde cel niet in, alleen bij virussen die gebruik maken van zelfde receptoren (bv. ALV ↔ RSV). Speciale vorm: griepvirus: bij seriep passages met sterk geconcentreerde virussuspensies interfereert defectieve type met infectieuze → steeds meer niet-infectieuze (defectieve = deletiemutant → korter → snellere productie, pikt alle kapsiedeiwitten in gemaakt door wild type, niet genoeg over voor wild type)
- exaltatie = omgekeerde van interferentie: 1 virus geeft aanleiding tot verhoogde vermeerdering en/of cytopatisch effect 2<sup>e</sup>.

## Hoofdstuk 6 – Genetica van virussen

### Mutaties:

silent: CCC, CCU, CCA, CCG = P(roline)  
neutraal: AZ vervangen, maar net zo goed  
functioneel: ↑ of ↓  
letaal: dood

- puntmutaties = 1 of meerdere nucleïnezuurbasen veranderd, bij DNA per 10<sup>8</sup>-10<sup>11</sup> baseparen een fout vanwege reparatiesysteem cel, niet voor RNA: per 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> baseparen een fout →

veel mutaties, geen enkele nakomeling hetzelfde. Binnen genoom mutatie 'hotspots'. Geen 'zuivere' viruspopulaties: species = quasispecies. Soms vorming "escape" mutanten = resistent aan anti(virale)stoffen. Bij te hoge mutatiefrequentie ↑ #letale mutaties → compromis. Wild type vermenigvuldigt beste bij natuurlijke gastheer → meerderheid als geen selectiedruk. Artificiële inductie mutaties voor bv. vaccins, mbv. mutagene stoffen. Reversie naar wildtype mogelijk! → opletten bij gebruik als vaccin.

- deletiemutaties: deel/volledig gen ontbreekt, soms zodat ze niet meer zelfstandig kunnen vermenigvuldigen. Kunnen spontaan ontstaan bv. bij seriepases met hoge  $\rho$  (anders 2 typen in verschillende cellen → geen interferentie). Artificiële gemaakt dmv. "site-directed mutagenesis", geschikt als levend verzwakte vaccins (moeten nog kunnen vermenigvuldigen), wegnemen oppervlakte genen om onderscheid te kunnen maken tussen geïnfecteerde en gevaccineerde dieren (bv. SHV1), kans op reversie onbestaande.
- herkennen mutanten
  - genotypisch: sequencen (evt. na vermenigvuldiging)
  - fenotypisch
    - afwijkende plaquegrootte (= verschillende replicatiesnelheid)
    - afwijkend neutralisatiepatroon (bv. 'escape mutants')
    - temperatuur sensitieve (TS) mutanten: tgv. puntmutaties → conditioneel-letaal, lage  $T^\circ$  = permissief, hoge  $T^\circ$  = restrictief (gebruikt voor levend verzwakte vaccins, bv. BHV1: in neus replicatie maar geen schade, geen restpathogeniteit voor bv. foetus)

#### Recombinatie

Alleen na breuk nucleïnezuurstreng waarna nieuw stuk wordt ingebouwd (bij dsDNA/RNA, intramoleculaire recombinatie).

Bij ssDNA/RNA: waarschijnlijk doordat polymerase sprongen maakt tussen genomen → geen breuk/herstel, copy-keuze proces.

Meerdere moleculen DNA/RNA (oa. griepvirus): herschikking genoomfragmenten = reassortering = basis genetic shift (↔ genetic drift: kleine verandering oiv. selectiedruk in voordeel van mutant).

#### Complementatie

= genproducten van twee virussen die samen een cel besmetten vullen elkaar aan, minimaal 1 defectief, bv. TS-mutanten: mutaties op verschillende plaats → kunnen elkaar aanvullen.

#### Phenotypic mixing

= 2 virussen in dezelfde cel → nakomelingen met structurele eigenschappen beide virussen.

#### Transcapsidatie

= uitwisseling totale kapsied (bv. defectieve retrovirussen (RSV)).

## Hoofdstuk 7 – Kweken van virussen en nagaan van virusvermeerdering

Drie methoden: inoculatie proefdieren, inoculatie bebroede eieren, celculturen.

- bebroede eieren: in dooierzak/amnion/allantois/chorio-allantoismembraan, eerst schouwen, virusvermeerdering te zien of te constateren na opzoeken antigenen. Voordelen: goedkoop, makkelijk verkrijgbaar en bruikbaar, grote volumes virus te verkrijgen. Nadelen: relatief gering #virussen, mogelijk maternale antistoffen in dooierzak, eieren mogelijk al besmet door transvariële overdracht (→ Specific Pathogen Free (SPF) moederdieren).
- celculturen:
  - orgaanculturen = weefselkweek; stukje weefsel uit orgaan = explant, aan glas gehecht en overspoeld met vloeibaar medium, cellen groeien vanuit periferie
  - celculturen: individuele cellen losgemaakt uit orgaan(deel) dmv. trypsine → wassen en tellen → in vloeistof → bezinken en hechten aan glas → delen tot bodem bedekt = monolaag (voordeel: voor onderzoek met omgekeerde microscoop) / in suspensie gehouden (voordeel: hogere hoeveelheid virus mogelijk)
    - primaire celcultuur: rechtstreeks afkomstig van orgaan, splitsen cellen van monolaag → secundaire celcultuur → evt. tertiair, maar dan meestal degeneratie

- diploïde celstammen: goed voor ca. 50 subculturen, behouden origineel diploïd #chromosomen (primaire celculturen ook)
- continue cellijn: cfr. kankercellen, in de loop van subculturen transformatie tot kankercellen die hele populatie innemen of rechtstreeks uit kwaadaardige tumoren; groeien sneller, gedifferentieerd, aneuploïed.

Invriezen: met cryoprotector (bv. dimethylsulfoxide (DMSO)) anders cellen kapot door dehydratatie (IC vocht → EC oiv. ijskristallen), traag, bewaard bij <-40°C (hierboven nog cellulaire processen).

Keuze gastheer: soms weinig uitgesproken virus-cel specificiteit → makkelijk te kweken bij verschillende soorten gastheren. Veel virussen gemakkelijk te kweken in primaire celculturen van natuurlijke gastheer. Vaak blinde seriep passages nodig voor aanpassing in vitro-milieu. Keuze celsoort ook afhankelijk van doel werk. Sommige virussen niet in vitro te kweken.

#### Aantonen intracellulaire vermeerdering in celculturen

- subklinisch, nieuwe virussen en cellulaire componenten gevormd, soort symbiose
  - remming celmetabolisme, geen vernietiging, alleen zichtbaar bij poging tot snelle vermenigvuldiging
  - degeneratie cel (apoptose, meest)
  - transformatie, met/zonder vorming nieuwe virusdeeltjes (bij sommige oncogene virussen)
1. cytopatisch effect (CPE) = cytocidaal effect, microscopisch zichtbare celveranderingen, bv.: lyse of celnecrose, vorming syncytia, vacuolisatie, groepen aan elkaar klevende cellen. Tijdstip verschijnen CPE afhankelijk van snelheid vermeerdering en hoeveelheid virus. Ontstaat vaak pas na blinde seriep passages (↑ hoeveelheid virus/selectie varianten die beter vermeerderen in celculturen). Geen correlatie cytopathogeniteit virus voor celculturen en pathogeniteit dieren. CPE macroscopisch zichtbaar na kleuring.
  2. hemadsorptie: bij besmetting met SOMMIGE GEHULSDE RNA-virussen, met cytopathogene virussen/in afwezigheid van CPE/al voordat CPE ontstaat. Niet met alle RBC.
  3. interferentie: vermeerdering niet-cytopathogeen virus in cel tot gevolg dat er geen effect optreedt na toevoeging normaal cytopathogeen virus.
  4. exaltatie: sommige virussen vermeerderen zonder zichtbare verandering, na toevoeging (superinfectie) 2<sup>e</sup> virus zal dit in hogere mate vermenigvuldigen of erger en sneller CPE veroorzaken.
  5. inclusielichaampjes: bepaalde delen kern en/of cytoplasma vertonen veranderingen ivm. kleuraffiniteit. Al dan niet op plaats virusvermeerdering. Meestal aggregaten virusdeeltjes. Soms pas na vermeerdering. Soms ook oiv. toxische producten of in cellen die niet goed groeien → geen uitsluitel, soms ook in cellen waar geen CPE optreedt.
  6. immunofluorescentie: direct (As gebonden aan fluorescerende stof, celcultuur eerst behandeld met aceton = vetoplosser zodat As cel in kunnen, UV-microscop nodig) of indirect (virale Ag – specifieke As (globuline) – specifieke antiglobulines – fluoresceïne – complex), ook geschikt voor opsporen Ag getransformeerde cellen.
  7. EIA technieken: enzyme-immuno-assay, bv. immunoperoxidase techniek, toont specifiek virale Ag in cellen aan, mbv. DAB (= diaminobenzidine) gekleurd, zichtbaar met gewone lichtmicroscop.
  8. transformatie: door tumorvirussen, soms CPE met vorming nieuwe virussen, soms transformatie met/zonder virusvorming → tumorvorming (bultje = focus), microscopisch zichtbaar, getransformeerde cellen zijn lang en smal, chromosomale anomalieën en aneuploïdie, nieuwe antigene eigenschappen.
  9. elektronen microscopie: voor opsporing virus in cellen en extracellulaire vloeistoffen (tijdrovend → alleen als andere methoden niet werken).

#### Aantonen extracellulaire antigenen

1. hemagglutinatie: in kapsied/enveloppe eiwitten die sterke affiniteit vertonen voor RBC → hechten, brugvorming tussen 2/meerdere RBC → netwerk. Hemagglutinine = glycoproteïne. Influenzavirus: neuraminidase breekt receptoren op RBC af tijdens hemagglutinatie → elutie → RBC weer los (na ca. 1 uur).
2. ELISA = enzym linked immuno-sorbent assay, kleurverandering zichtbaar met blote oog of spectrofotometer.



## Hoofdstuk 8 – Pathogenese van virale infecties

### Virus-dier interacties

1. subklinisch: besmetting, vermeerdering, weinig/geen celdegeneratie
2. remming celmetabolisme, vnl. van belang bij dracht (foetus)
3. celdegeneratie → pathologische letsels, ontstekingsreacties, malfuncties → ziekte tekens
4. celtransformatie oiv. tumorvirussen → goed-/kwaadaardige gezwellen
5. immunopathologische reacties

Pathogenese = interactie virus-dier, opeenvolging gebeurtenissen van contact tot dood/herstel gastheer.

Pathogeniteit = "mogelijkheid" virus om in bepaalde DS ziekte tekens op te wekken (kwalitatief, pathogeen ↔ apathogeen).

Virulentie = graad pathogeniteit verschillende stammen van 1 virus/van 1 stam voor verschillende DS.

### Factoren die pathogenese beïnvloeden

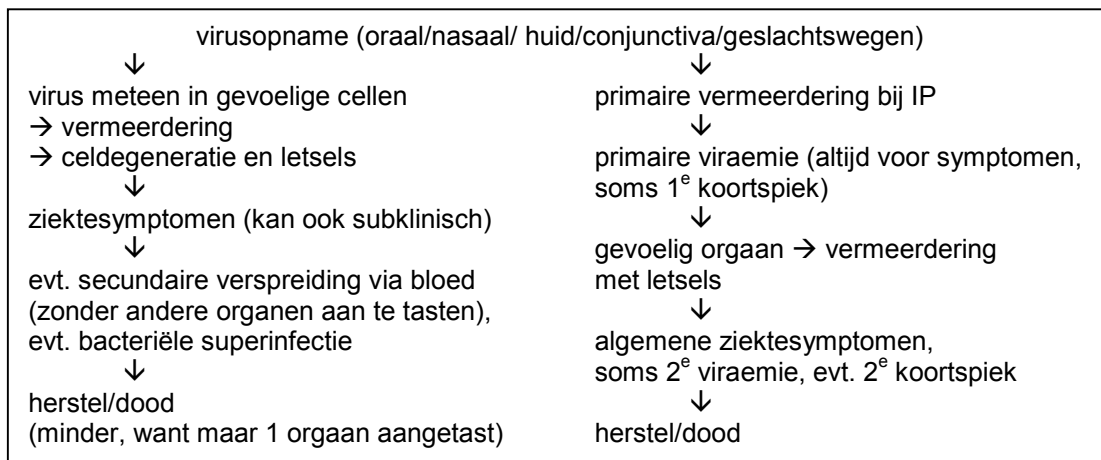
- virulentie van het virus: genetisch bepaald, meerdere genen betrokken; bv. influenzavirus: hemagglutinine moet gesplitst worden, bij niet-pathogene stammen 2 helften verbonden door AZ die door specifieke enzymen geknipt moeten worden, komen alleen voor in AHS (→ lokale infectie), bij virulente stammen andere AZ die door ubiquitaire proteolytische enzymen geknipt kunnen worden → algemene infectie mogelijk; bv. vacciniavirus: belangrijkste virulentie-gen = thymidine kinase: niet-essentieel, maar wel ↓virulentie als TK<sup>-</sup> (cfr. vaccinatie).
- gevoeligheid gastheer: genetisch: niet specifiek, icm. fysiologische en omgevingsfactoren, 3 niveaus:
  - cellulaire receptoren: nodig voor binding virus-cel
  - genen voor controle immunologische reactie: gelokaliseerd op verschillende chromosomen, gecodeerd door I<sub>r</sub> (immune respons)-genen gelokaliseerd in MHC (major histocompatibiliteitscomplex) gebied
  - macrofagen: verwerken en presenteren antigenen, kunnen virussen fagocyteren die dan in macrofaag vermenigvuldigen, hierdoor kan opbouw/opstarten immuniteit sterk belemmerd worden
- gevoeligheid gastheer: niet-genetisch:
  - leeftijd: virale infecties erger verloop op zeer jonge en oude leeftijd, minder goede recrutering niet-specifieke afweerfactoren (bv. interferon), minder goede aanpassingsmogelijkheden aan functionele stoornissen (bv. diarree), minder snelle opbouw immunologische reactie
  - celdifferentiatie: bv. activatie met mitogene stoffen, monocytten → macrofagen, mitosefase, delingsnelheid
  - voedingstoestand: malnutritie kan gevoeligheid verhogen door ↓weerstand thv. slijmvliezen/huid, eiwittekort → productie As in geding
  - hormonen (zwangerschap, stress): (therapeutische) corticosteroïden verergeren verloop infectie en reacteren mogelijk latente herpesvirussen ← ontstekings- en immunologische reacties en productie interferon onderdrukt, progesteron heeft ook immunosuppressieve werking
  - bacteriële superinfectie: virus maakt de weg vrij, effect bacteriële infectie groter
  - infectiedruk: hoeveelheid virus bij infectie, als veel dan niet-specifieke afweerreacties (macrofagen enz.) niet in staat infectie in te dijken → ziekte tekens sterker en incubatietijd korter.

### Virustrrede in organisme

- slijmvliezen: vnl. AHS en SVS: inademen aerosol/virushoudende vloeistofdruppeltjes, orale opname besmette drank/voedsel. Virusvermeerdering in bovenste en/of diepere luchtwegen/elders als AHS enkel intredepoot is, tonsillen/SVS (meestal zuurstabiel (maagpassage), geen enveloppe (weerstand aan galzouten)). Conjunctiva: virussen bovenste AHwegen of oogaandoeningen, via rechtstreeks contact virushoudend materiaal/water/stof. Geslachtswegen, soms aanleiding tot besmetting tijdens geboorte.
- huid: enkel via toevallige schaafwonde, steekwonden door besmette arthropoden, bijtonden van besmette dieren, parenterale injectie. Meeste huidaandoeningen na intrede via AHS. NB: arthropoden: mechanisch (geen vermeerdering in insect, korte termijn en afstand) of biologisch (maandenlang, tijdens verschillende larvaire stadia onderhouden).

- placenta: moeder → nakomeling, langs geslachtscellen, passage vanuit bloed, passage door geboortekanaal.

### Infectietype



- gelokaliseerd (oppervlakkig): virusvermeerdering en evt. zelfdestructie op plaats virusopname = intredepoot (IP)
- veralgemeend type = systemische infectie: na opname eerst primaire vermeerdering bij IP, maar meestal geen symptomen, verspreiding via regionale lymfeklieren en bloed (viraemie) en/of zenuwen naar andere weefsels = gevoelige organen → letsels en ziekte tekens, verspreiding soms in verschillende fasen.  
Viraemie: vrij in plasma of geadsorbeerd aan RBC/WBC of binnen in WBC (passief = niet replicerend / actief = gevaarlijk: kan ongestraft verspreiden via bloed, wordt niet onderschept door As): in WBC door vermeerdering in lymfoïed orgaan (vaak tonsillen).
  - infecties van CZS: via bloed na vermeerdering in andere weefsels, invasie ZS meestal bij toeval, BHB door zeer hoge [virus] overwonnen. Of via zenuwen na vermeerdering in andere weefsels, stoornissen te wijten aan direct celdegenererend effect, vaak geen viraemie, geen hersenbarrière → vrijwel altijd van zenuwen naar CZS, neurotrope virussen vermeerderen al in perifere zenuwen, aantasting hersenen vaak ook lokaal (cerebellum, bepaalde kernen)
  - congenitale infecties: na veralgemeende infectie langs viraemie besmetting foetus (zelden langs genitale weg), meestal subklinisch voor moeder, regelmatig foetotropisme bij bepaalde virussen. Gevolgen: resorptie embryo na sterfte als vroeg in dracht; abortus door dood foetus; congenitale misvormingen door interferentie met normale ontwikkeling; sterfte en mummificatie; immunotolerantie met blijvende virusuitscheiding; immunologische reacties als tijdens laatste derde → IgM-As aan te tonen; ziektesymptomen na geboorte.

### Incubatieperiode ivm. infectietype

= periode tussen ogenblik van besmetting en ontstaan eerste ziekte tekens. Gelokaliseerd type: korte incubatieperiode (1-3d), muv. wratten (50-150d, zeer trage vermeerdering getransformeerde cellen). Veralgemeend type: gewoonlijk lang (5-40d), afhankelijk van eerdere besmettingen ed., muv. trage progressieve infectie CZS, tumorale, razernij (→ nog te vaccineren na besmetting).

### Ziekte tekens, virus-excretie en -verspreiding ivm. infectietype

Gelokaliseerd type: virus excretie zeer kort of tegelijk met verschijnen ziekte tekens, uitscheiding langs excreties aangetaste orgaan.

Veralgemeend type: virus excretie soms vanaf primaire vermeerdering en tijdens viraemie → verspreiding al voordat met weet welke ziekte, excretie langs alle excreties en secreties en langer (gem. 3w, interferon werkt lokaal → virus kan eraan ontsnappen).

Horizontale transmissie: besmet → niet-besmet individu via (on)rechtstreeks contact.

Verticaal: moeder → foetus, tijdens viraemie of via gameten, veralgemeend type.

latrogeen: door toedoen geneeskundige ingreep, vnl. bij chronische infecties.

Blind: niet overgedragen op soortgenoten.

Persisterende infecties (zie figuren cursus)

Normaal verloop: symptomen langer aanwezig dan virusreproductie, want veroorzaakt door dode cellen die nog niet zijn vervangen → stalen nemen van pas zieke dieren, want die scheiden hoogste [virusdeeltjes] uit.

Latente infecties: primaire infectie subklinisch of acuut, na herstel blijft virus aanwezig (genoom virus in genoom gastheercel), maar is niet aantoonbaar. Soms plots opflakking (door stress, ↓immuunsysteem (zwangerschap, ...)) met/zonder ziekte tekens, maar wel uitscheiding.

Chronische infecties: na acute stadium wordt virus continu uitgescheiden (↔ latente) en dus aantoonbaar, subklinisch of met ziekte tekens. Alleen als immuunsysteem tekort schiet/virus weet te ontsnappen:

- virussen die immuunsysteem onderdrukken via immunosuppressief eiwit, bv. hepatitis B Ho
- virussen die immunosuppressie veroorzaken, bv. door infectie T en/of B lymfocyten → opgebouwde immuniteit onvoldoende om virus te elimineren, bv. leukemievirussen, infectieuze bursitisvirus kip, HIV
- virussen die immunotolerantie veroorzaken, als besmetting optreedt tijdens 2<sup>e</sup> trimester dracht en geen foetale sterfte doet ontstaan → immuunsysteem fout geprogrammeerd
- virussen die vermenigvuldigen op onbereikbare plaatsen, bv. hepatitis contagiosa Ca: vermeerdering in nieren = onbereikbaar voor As, chronische nefritis door neerslag Ag-As-complexen thv. glomeruli
- virussen die escape mutanten produceren, bv. infectieuze anemie Eq: steeds nieuwe As nodig, oude blijven met virus in bloed maar inactiveren virus niet, binden wel virus dat gebonden is aan RBC → trekken complement aan → vernietigt RBC → anemie
- virussen die geen neutraliserende As induceren, bv. Afrikaanse varkenspestvirus

Infecties met tumorvirussen: veroorzaken persisterende infectie met/zonder ontwikkeling kwaadaardige tumoren afhankelijk van genetica, immunologie, hormonen. Kans op tumoren afhankelijk van [virus] geproduceerd tijdens viraemie = meer bij jongere dieren → meer kans.

Trage progressieve infecties: altijd fataal, zeer lange incubatieperiode, bv. SSPE (virus, subacute sclerosing panencephalitis, Van Bogaert ziekte: laattijdige uiting mazelenvirus, trage degeneratie neuronen in hersenen), Scrapie (prion).

## Hoofdstuk 9 – Laboratoriumdiagnose van virale ziekten

Vaak geen diagnose gesteld omwille van technische moeilijkheden, lange duur (tegenwoordig sneller en makkelijker), toch niet te behandelen (wel steeds beter), toch te laat omdat er al veel orgaanletsels zijn (grote bedrijven: wel interessant om verspreiding te voorkomen).

Insturen materiaal: optimaal tijdstip, onder goede omstandigheden bewaren en aan labo bezorgen, goede anamnese (= verhaal bij het staal).

Rechtstreekse detectie (= zonder kweken van virus)

- van virus
  - elektronenmicroscopie (EM): snelle uitslag, rechtstreeks op excreties, secreties, huiduitslag of biopsies, negatieve kleuring, groot aantal virussen nodig ( $10^6$ - $10^7$  ml<sup>-1</sup>), virions moeten specifieke makkelijk herkenbare morfologie hebben → corona-, rota-, pokken- (balkvorm), rhabdovirussen (kogelvorm), verschillende leden van een familie niet te onderscheiden → immuno-elektronenmicroscopie: mengen preparaat met gekende sera
  - histologie: oa. aantonen inclusielichaampjes, indirecte methode, soms pathognomonisch (= specifiek voor bepaalde infectie)
  - hemagglutinatie: geen eigenschap van alle virussen en meestal onvoldoende virusdeeltjes ( $10^7$  ml<sup>-1</sup> nodig)
- van virale antigenen
  - serologie (immuno-assays): bekende As gebruikt om onbekende Ag op te sporen
    - intracellulair
      - immunofluorescentietesten: gekend antiserum x fluorescerende stof, materiaal moet nog intacte cellen bevatten, celwand wordt permeabel gemaakt mbv. aceton, bv. directe (heel veel werk, voor ieder virus ander conjugaat, kan wel bewaard worden) en indirecte IF-test (↑gevoeligheid, slechts 1 conjugaat per DS nodig, wel specifiek door gebruikte As in stap 2) (zie figuren cursus)
      - immunoperoxidase: vgl. met IF-test, maar precipitatie kleurreactie

- extracellulair
  - complement bindingsreactie: zie later
  - agar gel precipitatie: vnl. opsporen virale eiwitten die niet in virions zijn terechtgekomen, gebaseerd op neerslaan Ag-As-complex
  - ELISA: zie eerder en verder
  - immunoblotting: denaturatie eiwitten, negatief geladen, gescheiden obv. grootte op polyacrylamidegel, overgebracht op nitrocellulose membraan (= blotting), bep. viraal eiwit opgespoord dmv. gemerkte antistoffen
- van virale nucleïnezuren
  - hybridisatie: binden ssDNA/RNA aan andere ssDNA/RNA, alleen als nucleïnezuren complementair zijn, sterkte komt overeen met percentage identiteit NZ-sequentie, na denaturatie afkoelen in overmaat probe (traag, anders geen hybridisatie), met gemerkte DNA/RNA molecule detecteren specifieke streng
  - PCR: als te lage [virale NZ], hoge gevoeligheid, nadeel: als 1 streng gecontamineerd alles verloren, RNA via cDNA.

northern: RNA  
southern: DNA  
western: eiwit

Onrechtstreekse detectie (= dmv. kweken agens)

CPE = cytopathisch effect, als aanwezig: verder onderzoek voor identificatie, als afwezig: verder onderzoek celculturen (blinde seriep passages).

Gebruikte virus moet nog infectieus zijn (↔ eerder), materiaal moet bacterievrij zijn (doden cellen) → hersenen ok, darmen niet, AB in voeding cellen alleen voor extra zekerheid.

Serologische testen: identificatie virus: gekende As bij onbekend Ag. Serologische diagnose: gekende Ag bij onbekende As → aantonen besmetting met bepaald virus.

Convalescerend serum moet 4x hogere titer hebben dan acuut serum (altijd 2 stalen nodig), 1 serumstaal nuttig bij:

- negatief resultaat → uitsluitel
- pasgeborenen vóór drinken colostrum
- aanwezigheid complement bindingsstoffen (blijven maar 2-3m)
- opsporen virusdragers persisterende infectie.

Methode ook gebruikt

- om resultaten virusisolatie te bevestigen
- voor virussen waarvoor direct aantonen onmogelijk is
- als men niet op tijd staal heeft kunnen nemen voor directe methode
- opsporen intra-uteriene besmetting
- als virus al verdwenen is
- prevalentie (verspreiding binnen populatie).

Sensitiviteit = percentage besmette dieren met positieve test (weinig vals negatieve, meer kans op vals positieve)  $(A/(A+B))$ .

Specificiteit = percentage niet-besmette dieren met negatieve test (weinig vals positieve, meer kans op vals negatieve)  $(D/(C+D))$ .

	<i>besmet</i>	<i>niet-besmet</i>	<i>totaal</i>
<i>test positief</i>	A	C	A+C
<i>test negatief</i>	B	D	B+D
<i>totaal</i>	A+B	C+D	A+B+C+D

Prevalentie = percentage besmette dieren in een populatie (A+B), geschatte prevalentie =  $A+C$ .

Incidentie = percentage nieuwe gevallen, meestal per jaar.

Serologische testen → verschillende antistoffentiters: #virale eiwitten, #epitopen (= plaatsen die As kunnen induceren) op deze eiwitten, #soorten As (IgM, IgG, IgA), #effecten van deze As (seroneutraliserend (SN), HI), #technieken om As op te sporen.

Voor testen is een standaard hoeveelheid virus nodig:

- bepalen aantal infectieuze virussen
  - infectiviteitstitratie: van een virussuspensie wordt een serie 10-voudige verdunningen gemaakt. Na inoculatie en incubatie kijkt men naar bekomen effect = gevolg van virusvermeerdering dus enkel door infectieuze virussen veroorzaakt.  $TCID_{50}$  = dosis die in 50% van de tissue cultures infectieus is (ook  $EID_{50}$  (egg inf. dose),  $ELD_{50}$  (egg lethal dose),  $PID_{50}$  (pig inf. dose)).
  - plaque forming units (PFU): men gaat aantal infectieuze virussen tellen door "agar overlay" methode: ipv. vloeibaar medium wordt agar gebruikt → nieuwe virusdeeltjes kunnen niet over hele cultuur verspreiden waardoor plaques gevormd worden.

- pockmethode: voor titratie van virussen die goed afgelijnde necrotische letsels veroorzaken op chorioallantoïsmembraan, aan de kant van de schelp geen vloeistof aanwezig → virusdeeltjes kunnen niet verspreiden → per virus een gelokaliseerd letsel = pock.
- bepalen totaal aantal virussen in een suspensie
  - elektronenmicroscop: meestal mbv. negatieve kleuring
  - hemagglutinatie: verhouding tussen hemagglutinatie en aantal virussen, hemagglutinerend vermogen in enveloppe/kapsied → ook niet-infectieuze virussen aangetoond. HAE = hemagglutinerende eenheid. 1 HAE in hoogste verdunning die nog juist hemagglutinatie geeft. Niet erg gevoelig, want veel virussen nodig om zichtbare brugvorming van RBC te verkrijgen.  
Vergelijking resultaten testen: afhankelijk van gevoeligheid gastheer en methode (gevoeligheid en of enkel infectieuze virussen worden geteld).
- bepaling hoeveelheid antigenen in suspensie: mbv. ELISA sandwich techniek, geen onderscheid infectieuze/niet-infectieuze virions, opgespoorde antigenen afhankelijk van gebruikte As. Probleem: proteïne A = verdediging tegen As, niet specifiek, bindt As zodat deze niet aan virus kan binden (zie figuur cursus). 2 voorwaarden voor positief resultaat: minimale extinctie (vooraf bepalen), minimaal 50% gebloekt (controle specificiteit).

#### Eigenlijke testen voor identificatie virus:

- seroneutralisatietest (SN): men gaat na tot in welke verdunning het serum nog voldoende As bevat om een standaard hoeveelheid virus te neutraliseren. Inoculatie: in gastheer waarvan men weet dat het virus erin vermeerdert, bij voorkeur met duidelijk zichtbare letsels. SNtiter = omgekeerde van de serumverdunning die nog in staat is de constante hoeveelheid virus volledig te neutraliseren. In de terugtitratie wordt gecontroleerd of er inderdaad een standaard hoeveelheid virus gebruikt werd, in de celcontrole wordt nagegaan of de cellen een normale viabiliteit bezaten. Aanwezigheid van seroneutraliserende As in bloed = teken voorbij infectie en bescherming tegen herinfectie.
- hemagglutinatie-inhibitietest (HI): hemagglutinerende virussen doen bij gastheer As ontstaan met hemagglutinatie-inhiberende eigenschappen, binden met virus zodat virus niet meer met RBC kan binden. Men gaat na tot in welke verdunning het serum nog voldoende As bevat om de HA, veroorzaakt door een standaard hoeveelheid virus, volledig te inhiberen. HI-titer = omgekeerde van de serumverdunning die nog in staat was HA te remmen. Voordeel: snelle aflezing. HIT = SNT als hemagglutinine aan buitenzijde virion.
- complement-bindingsreactie (CBR): complement-bindende As minder lang in dier aantoonbaar dan voorgaande en niet aanwezig na vaccinatie met geïnactiveerd vaccin. Test bestaat uit 2 systemen: 1) geïnactiveerd (zonder complement) serum, standaard hoeveelheid Ag, standaard hoeveelheid complement toegevoegd; 2) gesensibiliseerde schapen RBC (= schapen RBC + geïnactiveerd antiserum hiertegenover van konijn (zonder complement)). Als As aanwezig in serum → x Ag → complement gebruikt uit caviaserum. 2<sup>e</sup> systeem nodig om te zien of As-Ag-reactie in systeem 1 doorgedaan is en steunt erop aan te tonen of complement uit caviaserum werd gebruikt. Als geen As → geen reactie met Ag → complement niet gebruikt → wordt gebruikt in systeem 2 voor reactie RBC-antiserum → hemolyse van schapen RBC.
- agar gel precipitatie (AGP) (immunodiffusie, immunoelektroforese): vooral As aangetoond tegen interne (oplosbare) Ag, gebaseerd op neerslaan As-Ag-complexen. In (half)vaste gel worden openingen gemaakt, in 1 komt Ag van virus X, in openingen errond de te onderzoeken onbekende sera → As en Ag diffunderen doorheen gel (bij elektroforese oiv. elektrische stroom) → waar beide ontmoeten en complex vormen → neerslaan = precipitatielij. n.
- ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)-test: 2 varianten:
  - indirecte ELISA: Ag gekend virus worden geadsorbeerd aan oppervlak, te onderzoeken serum bijgevoegd → als specifieke As aanwezig → binding, zichtbaar gemaakt door toevoegen antiglobuline dat gebonden is aan enzym zoals peroxidase → toevoegen substraat (bv. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) → verkleuring
  - competitieve ("blocking") ELISA: als As aanwezig in serum dan kunnen competitieve As in conjugaat niet meer binden → geen kleurreactie
- radio-immunoassay (RIA): zelfde principe als ELISA, maar As werden gekoppeld aan radio-isotoop (ipv. enzym).

Verzameling en verhandeling van het materiaal: tijdstip van verzamelen belangrijk, want virusuitscheiding maximaal kort na begin ziekte tekens. Versheid materiaal: na bepaalde tijd autolyse van cellen = einde virus. Bacteriële verontreiniging voorkomen. Verzending: koel/gevoren, menging met glycerine oplossing = virusstabiliserend. Bloed laten stollen, niet invriezen ivm. hemolyse.

## Hoofdstuk 10 – Bestrijding van virale ziekten

Door immunisatie (of chemotherapie, zelden in diergeneeskunde): actief door gebruik entstoffen (vaccinatie), passief door toedienen As (= serotherapie)

- actieve immunisatie door entstoffen (vaccins):  
 individu in contact brengen met virus/virale Ag zodat immuunreactie uitgelokt wordt, zonder nadelige nevenreacties → individu gedeeltelijk/volledig beschermd bij later contact met wild virus: klinische bescherming (= niet ziek, mogelijk wel subklinisch besmet) of virologische bescherming (= geen infectie).  
 Eisen aan vaccin: goede immuniteit opwekken tegen klinische infecties door alle serotypen, lokale immuniteit tegen lokale infecties, evt. ook subklinische infectie beletten; immuniteit moet zo lang mogelijk blijven bestaan; gebruiksvriendelijk enschema; geen erge ziekte tekens opwekken, niet reverteren naar virulentie, niet uitgescheiden worden (passages door dier → evt. ↑virulentie), productie op veilig substraat; stabiel tijdens bewaring; bij voorkeur virologische marker; economisch verantwoord.
- geïnactiveerde entstoffen

Neveneffecten (→ ent-reactie)		
virus	→ restvirulentie	L
	→ reversie virulentie	L
	→ contaminerende virussen/ bacteriën	L
entstof onderdelen		
	→ virale eiwitten	L+G
	→ celresten (kippe-eiwitten)	L+G
	→ adjuvans	G
	→ inactiverend agens (formol)	G
	→ vector contaminanten	G
L = "levend" verzwakte vaccins		
G = geïnactiveerde vaccins		

- volledig virus: virulent virus wordt gekweekt op gastheer → voldoende hoge infectiviteitstiter → check, totale Ag massa = Ag volledige virions + eiwitten die niet in virion verpakt werden. Virusstock wordt gezuiverd: cel- en weefselresten gastheer verwijderd, zou anders virus kunnen beschermen tegen inactiverend agens en allergische reactie mogelijk. Bij inactivatie wordt viraal nucleïnezuur aangetast zonder kapsied/enveloppe te beschadigen, inactivatie 3-4x langer dan nodig zou zijn = veiligheidsmarge, formol naderhand verwijderd om verder inwerken te voorkomen (andere agentia zijn zelfvernietigend). Adjuvans: depotfunctie waarbij Ag vertraagd vrijkomt, bevordert steriele ontstekingsreactie → chemotaxis. Controle of er geen infectieus virus overblijft. Griepvirus: productie dmv. reassortering: nieuwe stam vermeerdert net zo goed als oude, maar heeft nieuwe antigenische eigenschappen.
- virale eiwitten: opp. Ag van het virion (evt. enveloppe en kapsied Ag)
  - subunit vaccins: door chemische dissociatie virale kapsied en enveloppe mbv. anionische detergenten (eiwitten mogen niet denatureren). Voordeel: risico resterend infectieus virus vrijwel onbestaande. Nadeel: bewerkelijker → duurder.
  - geïnactiveerde recombinante vaccins: door geïsoleerde virale genen die coderen voor opp-Ag-componenten in te bouwen in DNA plasmide, na productie zuiveren om te scheiden van vector contaminanten. Bacteriën glycolyseren eiwitten niet → enkel humorale immuniteit als suikergedeelte glycoproteïne niet belangrijk is voor immunogeniciteit, anders clonering in gist/eukaryote cel. Nadeel: zuiveren moeilijk, antigene capaciteit minderwaardig. Voordeel: goedkoop, grote hoef., risico infectieus virus in entstof onbestaande.
- virale oligopeptiden – synthetische vaccins: pogingen synthetisch namaken epitopen Ag op virale eiwitten, voor goede B-cel-respons ontbreekt tertiaire structuur → onderzoeken vnl. gericht op T-cel epitopen. Immunogeniciteit verbeterd door binden aan adjuvans of incorporeren in liposoom/virosoom (= liposoom van virale eiwitten) → bootst enveloppe na + cholesterol en Quil A =

iscoms (ImmunoStimulating COMplexes): versterken immunologische reacties, maar nog niet beschikbaar als vaccins

- anti-idiotypen antistoffen: Ag-bindend gedeelte As = idiotype = voor iedere As uniek en heeft vorm As waardoor het opgewekt wordt, bereiden As tegen idiotype → anti-idiotypen As: vorm gelijk aan origineel Ag → surrogaat Ag. Nog niet als vaccin gebruikt.

Voor- en nadelen: immuniteit: soms onvoldoende reactie, vooral cellulaire vaak onvoldoende gestimuleerd, parenterale toediening → geen lokale immuniteit.

Combinaties: polyvalent vaccin mogelijk zonder interferentie. Frequentie: hoeveelheid virus in vaccin moet hoog zijn, meestal 2 injecties. Neveneffecten: geen virusvermeerdering/reversie naar virulente vorm, wel mogelijk ent-reacties tegenover adjuvans of bepaalde virale stoffen, contaminanten worden mee geïnactiveerd, soms immunologische problemen. Bewaring: onder vloeibare vorm, want geen infectieus virus meer. Productiekosten: hoog want veel nodig per vaccin, oorspronkelijke virusstock niet te verdunnen.

- verzwakte entstoffen: infectieus virus gebruikt → kan nog vermeerderen
  - in natuur teruggevonden:
    - homologe virus
      - virulent: infectie teweeg gebracht onder gecontroleerde omstandigheden (op abnormale plaats, op bepaalde leeftijd, in beperkende omstandigheden)
      - verzwakt: natuurlijke mutant die lage virulentie vertoont
    - heterologe virus: antigeen verwant, maar weinig/niet pathogeen, vermeerdert wel → kruisimmuniteit
  - artificieel verzwakt: meeste. Door mutatie virus verkrijgen dat virulentie verloren is, maar nog wel vermeerdert → immunoreactie tegen Ag die in individu gevormd worden (→ geïnactiveerde entstof). Afzwakking dmv. seriep passages of genetische manipulatie:
    - seriep passages: in gastheer anders dan natuurlijke, mogelijk selecteert men uit originele heterogene viruspopulatie deze mutanten die vooraf bestaan maar gemakkelijkst vermeerderen in deze gastheer, als bij deze mutanten toevallig ook stabiele mutatie voor virulentie → geschikt voor vaccinatie → clonage (geen gerichte methode: bepaald door toeval). Moederstock ("zaaivirus") nodig om te voorkomen dat vermogen om te vermenigvuldigen ↓. Moet min. infectiviteitstiter bevatten, gelyofiliseerd product 1-2j te bewaren. Gebruik gemaakt van primaire celculturen of diploïde celstammen (bij Ho vaccins), of continue cellijnen (diergeneeskundig)
    - genetische manipulaties:
      - induceren van puntmutaties: niet "plaats" gericht, chemisch bewerkstelligd (bv. TS mutanten)
      - deletiemutanten: uitgelokt door virus te laten vermenigvuldigen in aanwezigheid van een mutagene stof die avirulentie veroorzaakt als dit ipv. een nucleïnezuur wordt ingebouwd, alternatief = "site directed mutagenesis": verwekken deletie op vooraf bepaalde plaats, alleen op DNA (DNA-virus/cDNA versie van RNA-virus), soms niet-essentieel deel verwijderd als marker
      - reassortering: vnl. voor virussen met gesegmenteerd genoom
  - levend recombinant of "virus carrier" vaccins: infectieus virus gebruikt als drager van genen ander virus die coderen voor externe eiwitten waartegen men wil vaccineren, dragervirus kan nog vermeerderen in gevaccineerd individu, immuniteit opgewekt tegen vector (al of niet gewenst) en ingebrachte eiwitten. Dragervirus meestal groot DNA-virus (bv. Vacciniavirus) of bacterie. Lokale vaccinaties mogelijk. Door vermeerdering immuniteit door As en cellulair.

Voor- en nadelen verzwakte entstoffen: immuniteit: verschillende afweersystemen gestimuleerd, lokale immuniteit mogelijk. Interferentie: snelle bescherming door vorming interferon, onderlinge interferentie bij toedienen gecombineerde entstoffen. Verspreiding: van gevaccineerde naar niet-gevaccineerde soortgenoten → mogelijk terugpassages → reversie en ↑virulentie (soms uit economisch oogpunt positief). Frequentie vaccinatie: slechts 1 toediening noodzakelijk. Neveneffecten: mogelijk reversie van vaccins verkregen

- door seriepasingen of puntmutaties, soms restvirulentie, kans op contaminerende virussen. Bewaring: beperkt. Productiekosten: lager dan voor geïnactiveerde, ontwikkelingskosten hoog.
- nucleïnezuurvaccins: na inoculatie DNA vector (plasmide) kan humorale en cellulaire immuniteit ontstaan: intracellulair geproduceerde vreemde Ag tot expressie gebracht i.c.m. MHC I Ag → cellulaire immuniteit, als virale eiwitten geëxcreteerd → humorale immuniteit. Voordelen: expressie virale Ag kan maandenlang aanhouden, theoretisch geen probleem meerdere Ag in vector op te nemen, maternale As kunnen vector niet neutraliseren, onduidelijk of ook lokale immuniteit, DNA relatief goedkoop en vrij hittestabiel. Nadelen: langdurige expressie vreemde Ag kan leiden tot lokale ontstekingsreacties, auto-immuun aandoeningen, inductie immuno-tolerantie, door integratie plasmide mogelijk celtransformatie → tumoren.
  - pathogenese en keuze vaccin:
    - algemene infectie: viraemie → As nodig in bloed → geïnactiveerde (voorkeur i.v.m. veiligheid) of levende entstoffen. Na contact met wild virus wel vermeerdering in primaire haard, maar geen verspreiding naar gevoelig orgaan, wel continue uitscheiding → voordeel lokale immuniteit: vermeerdering onderdrukt
    - lokale infectie: lokale immuniteit thv. slijmvliezen nodig → vaccin langs normale toegangsweg virus, bij parenterale toediening soms wel diffusie naar primaire haard
  - vaccinatie, populatie-immuniteit en eradicatie: door vaccinatieprogramma's populatie-immuniteit verhogen, zodat bepaalde ziekten bijna niet meer voorkomen, vnl. voor monotypische virussen die 1 DS aantasten waarin bovendien geen snelle populatievernieuwing optreedt en geen heropflakking veroorzaken, en algemene infectie veroorzaken (jaren immuniteit → lokale infectie).
  - passieve immunisatie door serum of monoklonale As: serum (= polykonaal) bereid door proefdieren meermaals te vaccineren/besmetten met virulent virus. Monoklonale As: zie figuur cursus. Bescherming treedt snel op, maar kortdurend, homologe sera (zelfde DS voor productie als gebruik) veiliger dan heterologe en beter werkzaam, enkel profylactisch voor virussen met algemene infectie (want vnl. IgG As → niet thv. slijmvliezen). Geen therapeutisch effect, intracellulaire vermeerdering niet aangetast. Dier gaat As maken tegen As in vaccin → herhaaldelijk vaccineren gevaarlijk → anafylactische shock (als vaccin van zelfde dier afkomstig). Gebruikt bij razernij: lange incubatietijd, dus na besmetting kan je nog vaccineren.

Antivirale verbindingen. Profylaxis = preventieve behandeling (best). Therapie = behandeling na ontstaan symptomen (meest).

- verbondenheid virale replicatie met celmetabolisme: zeer sterk verbonden en afhankelijk → moeilijk chemische stof te vinden die intracellulaire virusvermeerdering remt zonder celmetabolisme aan te tasten. In principe elke stof in bepaalde [] geschikt, want (cyto)toxiciteit is afhankelijk van [], maar lage selectiviteitsindex (SI, CC/IC) dus niet specifiek tegen virus → ernstige nevenwerkingen in vivo.
- verband tussen virale replicatie en ontstaan symptomen: ziekte tekens ontstaan pas als vermeerdering virus op hoogtepunt → antiviraal middel weinig nut? → wel nuttig bij persisterende infecties (latente, chronische, traag progressieve), influenzavirus (virusreplicatie na incubatieperiode draagt bij tot in stand houden symptomen). Vnl. profylactisch gebruikt.
- ter plaatse brengen en houden van antivirale middelen: goede resorptie vereist, bij leverpassage mag niet meer dan 80% van de activiteit verloren gaan, farmacokinetiek (absorptie, distributie, metabolisatie, excretie) bepaalt hoe snel een middel verwijderd wordt uit het lichaam, conc. in weefsels belangrijker dan in bloed, want meeste middelen werken intracellulair en lokaal. MIC = IC<sub>50</sub> = conc. nodig om virusreplicatie te remmen. Zie figuur cursus.
- resistentie t.g.o. antivirale middelen: door mutatie in doelmolecule/kinase dat stof omzet in werkzame bestanddeel/doelwit enzym. Combinatietherapie = gelijktijdig gebruik 2/meer middelen: minder of vertraagde resistentie en ↑werkzaamheid (soms synergistisch). Aangrijpingspunt antiviraal middel bij virus zelf op 1 van de stappen van de vermeerderingscyclus.
- synthetische antivirale middelen en hun gebruik:
  - inhibitoren ionenkanaal influenza-A-virussen: amantadine en rimantadine, M2-proteïne in enveloppe is aangrijpingspunt
  - inhibitoren neuraminidase influenza A+B virussen: voorkomt loskomen viruspartikels van geïnfecteerde cellen



- inhibitoren DNA-polymerase herpesvirussen: acyclovir (prodrug → acyclovir-trifosfaat), selectiviteit berust op thymidine kinase in geïnfecteerde cellen, 3 stadia tijdens werking:
  - opname acyclovir: vnl. in geïnfecteerde cellen door ontstaan concentratiegradiënt door omzetting in acyclovir-trifosfaat
  - fosforylatie tot actieve vorm: oiv. deoxythymidine-deoxycytidine-kinase → acyclovir-monofosfaat, essentieel, enzym van herpesvirus (HSV, VZV), andere virussen ander enzym dus minder activiteit acyclovir. Oiv. enzymen gastheercel verder omgezet tot acyclovir-di- en -trifosfaat
  - inhibitie virale DNA-polymerase: acyclovir-trifosfaat treedt in competitieve inhibitie met desoxyguanosine-triP (= bouwsteen DNA) → verhindert inbouwen desoxyguanosine-triP in virale DNA → verhindert verdere vasthechting DNA-basen aan keten → uitbouw DNA-keten onderbroken → geen virusreproductie voor behandeling herpes simplex en Varicella Zoster, bij dieren minder succesvol. Valacyclovir = prodrug, beter geabsorbeerd na orale toediening. Penciclovir = analoog, famciclovir hiervan prodrug voor betere beschikbaarheid.
- inhibitoren reverse transcriptase HIV: AZT = azidothymidine, prodrug → actief AZT-trifosfaat, omzetting tot -mono-, -di- en -triP door cellulaire kinase-enzymen (≠ acyclovir). AZT-triP treedt in competitie met desoxythymidinetriP voor enzym reverse transcriptase → AZT geïncorporeerd in viraal DNA langs 3'-zijde: hier normaal vrije OH-groep → nu azidogroep → verdere vasthechting basen verhinderd. AZT kan reeds besmette cellen niet opruimen. Affiniteit voor gastheercel 100x lager → concentratiegradiënt in geïnfecteerde cellen (cfr. acyclovir). Vergelijkbare stoffen: dideoxynucleosiden (ddC, ddI). Nu ook nnRT's = no nucleoside reverse transcriptase inhibitoren.
- inhibitoren protease van HIV: bv. saquinavir, ritonavir, indinavir, gelijken op HIV-1 protease dat essentieel is voor vorming rijpe infectieuze viruspartikels, gaan sterke binding aan met substraatbindingsplaats → enzym kan niet meer functioneren. Cellulaire proteasen niet geremd.
- ribavirine
- acyclische nucleoside-fosfaat analogen
- interferon: niet toxisch, weinig/niet antigeen, werkzaam tegenover breed spectrum virussen
  - exogeen interferon: productie via recombinant DNA technieken, alleen parenteraal toegediend ivm. afbraak na orale opname, opgenomen door cellen, bescherming binnen enkele uren door tussenkomst antiviraal eiwit. Beter werkzaam als profylacticum (enkele uren voor besmetting beste), enkele dagen behandelen, miniem effect bij toediening na verschijnen ziekteverschijnselen, lokale toepassing effectiever dan tegen algemene infectie
  - endogeen interferon: toedienen stoffen die mens/dier aanzetten tot productie eigen interferon, bv. virussen, endotoxines *E. coli*, bacteriën (*Brucella abortus*), dubbelstrengige ribonucleïne-zuren, T-cel stimulerende stoffen (= immuuninterferon = IFN $\gamma$ ). Vnl. synthetische polynucleotide poly IC, wel toxisch → gebruik bij mens beperkt. Ook PIND-AVI (avipox virus), stimuleert ook macrofagen, aangeraden als jonge dieren bij elkaar gebracht worden.

Antibiotica: veel gebruikt voor behandeling virale infecties AHS en SVS: voorkomt secundaire bacteriële infecties doordat natuurlijke resistentie slijmvliezen is aangetast door virus.

## Hoofdstuk 11 – Epidemiologie/Epizoötiologie van virale infecties

Epidemiologische of epizoötiologische aspecten

Epidemiologie = studie van transmissie, verspreiding en persistentie van virussen onder menspopulaties.

Epizoötiologie = hetzelfde bij dierenpopulaties.

Endemisch/enzoötisch verloop = virus blijft onderhouden in populatie, slechts sporadisch klinische infecties, af en toe opflakking in beperkte groep gedurende kortere/langere tijdsintervallen.

Epidemisch/epizoötisch verloop = plots hoog percentage populatie besmet → verspreiding aandoening over streken/landen/werelddelen.

Pandemie = epidemie op internationaal vlak.

Gedrag/handhaving virus in populatie afhankelijk van verschillende factoren:

- genetische stabiliteit virus: stabiele virussen minder de neiging enzoötisch voor te komen dan virussen die mutanten vormen, bv. antigenic drift (langzaam), ook bij persisterende infecties in gastheer. Antigenic shift (plotseling).

- resistentie virus zelf en seizoensgebondenheid: bv. arbovirussen ivm. activiteit insecten in zomer. Enterovirussen ivm. recreatie in water in zomer. Respiratorische virussen in winter door weersomstandigheden subklinisch → klinisch (↑excretie → ↑infectiedruk), ook samentroepingseffect in beperkte ruimte en onvoldoende luchtverversing, ook niet resistent tegen warmte en zonlicht → in winter langer infectieus en gemakkelijker transmissie. Sommige virussen goed bestand tegen kamertemperatuur → maandenlang infectieus in secreties of organisch materiaal. Katteziektevirus (parvo) zeer resistent tegen gewone temperaturen en tot 1j infectieus buiten gastheer. Rotavirussen zeer resistent en maandenlang infectieus in faeces.
- soort pathogenese: ivm. toegangswegen, klassiek horizontale transmissie, ook weerslag op duur, graad en plaats virusuitscheiding (langer en op meerdere plaatsen bij algemeen type). Makkelijker herinfecties bij lokale types ivm. korte immuniteit.
- voorkomen van persisterende infecties: virussen die persisteren in individuen persisteren ook makkelijk in populatie, mechanisme van persistentie heeft geen belang.
- infecteren van meerdere DS en het bestaan van virusreservoirs: makkelijker handhaven, regelmatig heropflakkingen, reservoirs zijn voortdurende infectiebron → moeilijk te bestrijden, vnl. arbovirussen. Oosterse en westerse encephalitis: subklinisch bij wilde vogels → voortdurende viraemie → verspreiding via muggen, kringloop doordat deze muggensoorten bij gevogelte blijven, doorbroken als mug op paard/mens → virus rechtstreeks in bloedbaan (niet normale toegangsweg virus, blinde gastheer, fataal verloop), wel verdere verspreiding via muggen (zelden, want viraemische fase kort). Ook bij razernij: carnivoren reservoir.
- invloed populatie-immuniteit: goede immuniteit (70-80%) effectief om epizoötieën te vermijden van het algemene type, bij dieren zelden langdurige hoge immuniteit ivm. korte levensduur. Mindere rol bij lokale types want korte immuniteit. Beïnvloed door bedrijfsgrootte: op grote bedrijven grotere aanvoer nog niet immune gastheren.

Incidentie = # gevallen per jaar/10.000.

Prevalentie = # gevallen/10.000.

## Hoofdstuk 12 – Virussen en tumoren

DNA-tumorvirussen: heterogene groep, vaak ook andere aandoeningen, papova-, adeno- en herpesviridae, slechts oncogeen in bepaalde omstandigheden.

RNA-tumorvirussen: oncornavirinae (retroviridae), voor zover bekend enkel kwaadaardige aandoeningen, sommige ook immunosuppressief karakter.

### Pathogenese van tumoren

Oncogenen: normale genen die verandering hebben ondergaan, meestal genen waarvan eiwit betrokken bij overdracht extracellulair signaal tot celvermeerdering (proto-oncogenen = wanneer deze genen intact), mutaties dominant, translocatie proto-oncogen kan ook al voldoende zijn als het meer tot expressie wordt gebracht, meestal niet enige factor: vaak 2 samenwerkende oncogenen, vaak ook noodzakelijk bijkomende verandering in tumor-suppressorgen, mutatie hierin recessief (beide chromosomen defect).

### Pathogenese van virale tumoren

- via proto-oncogenen: bv. Rous-sarcomavirus: cellulair proto-oncogen (c-SRC (sarcoma)) gastheer 1 opgenomen door virus (v-SRC) en mee gerepliceerd in geïnfecteerde cel van andere gastheer. Leukemie virus kip draagt geen oncogen mee → niet elke besmette cel getransformeerd: alleen tumor als virale promotor ingebouwd op plaats waar het het cellulaire proto-oncogen kan beïnvloeden (= toevallig).
- via tumor-suppressor genen: bv. humaan papilloma virus (HPV) (cervixtumoren bij types 16 en 18): viraal DNA in cellulair genoom (muv. genen E6 en E7) → virus kan niet meer vermenigvuldigen, E6 doet afbraak p53 toenemen, E7 bindt retinoblastoma eiwit (ook tumor-suppressor) → getransformeerde cellen onsterfelijk. Tumoren niet bij alle besmette personen → tweede factor nodig = co-infectie herpes simplex virus type 2, verantwoordelijk voor ontstaan bijkomende genetische veranderingen en tumoraal worden cellen.