

PATOMECHANIZM ZAKAŻEŃ WIRUSOWYCH

Wniknięcie wirusa do organizmu i konsekwencje tego zjawiska w postaci rozprzestrzenienia się, namnożenia w ustroju i zmian patologicznych prowadzących do rozwoju choroby są procesami nadal nie do końca poznanymi. Na powstanie i rozwój zakażenia ma wpływ wiele czynników, zarówno wynikających z cech zarazka, takich jak zjadliwość wirusa i jego dawka zakaźna, jak i gospodarza, jego uwarunkowań genetycznych, a przede wszystkim stanu odporności.

Relacje wirus–komórka

Zakażenie komórki może prowadzić do powstania nowych, w pełni zakaźnych cząstek wirusowych. Mówi się wówczas o **produktywnym cyklu replikacji i komórkach permissywnych** (tzn. umożliwiających powstanie potomnych wirusów). Za **komórki odporne** uważa się takie, w których nie dochodzi do zakażenia, gdyż wirus nie jest w stanie zaadsorbować się do ich powierzchni i przenikać w głąb cytoplazmy. **Komórkami niepermissywnymi** nazywa się z kolei te, w których nie dochodzi do późniejszych faz namnażania, czyli tworzenia potomnych wirionów, przy czym ekspresja niektórych genów wirusowych może być zachowana. Przykładem tego typu komórek mogą być neurony zakażone wirusami *Herpes simplex*.

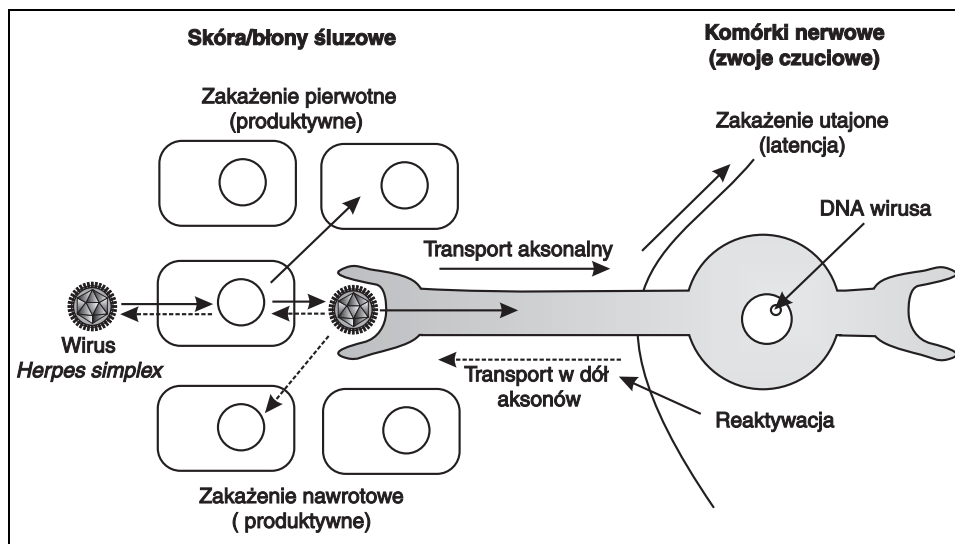
Wniknięcie wirusa do komórki prowadzi w niej do zmian procesów życiowych, które pozwalają na namnożenie wirusów. Są one na tyle drastyczne, że mogą powodować uszkodzenia komórki i jej obumarcie. Ich wykładnikiem są zmiany w morfologii komórki, określane jako **efekt cytopatyczny**, pojawiające się ciał wtrętowych (w jądrze lub cytoplazmie) lub antygenów wirusowych na powierzchni zakażonej komórki. Niektóre wirusy mogą stymulować transformację nowotworową, w wyniku której komórka uzyskuje zdolność do nieograniczonego dzielenia się (immortalizacji).

Czasami dochodzi do ustalenia się **równowagi między wirusem a komórką**. W tym przypadku procesy metaboliczne w komórce są jedynie nieznacznie zmienione, mimo że wirus jest produkowany. Taka forma zakażenia, utrzymująca się przez lata, a nawet całe życie, jest charakterystyczna na przykład dla niektórych postaci zakażenia wirusami *herpes*, retrowirusami, wirusami różyczki, odry, zapalenia wątroby typu B lub C.

Latencja Odrębnym problemem są **zakażenia latentne**, w których namnażanie wirusa jest zatrzymane na pewnym etapie cyklu replikacji. Dobrym przykładem tej postaci zakażenia są wirusy *Herpes simplex* oraz wirus ospy wietrznej i półpaśca, zakażające komórki nerwowe (ryc. 34).

Wirus dostaje się do tych komórek drogą nerwów obwodowych, po czym ustala się stan zakażenia utajonego (latencji). Na skutek bodźca (chemicznego, termicznego, mechanicznego, hormonalnego, psychicznego, zakaźnego) może nastąpić uaktywnienie wirusa (**reaktywacja**). Dochodzi wówczas do wędrówki wirusa wzdłuż nerwu do komórek skóry w miejscu lub w pobliżu pierwotnego zakażenia. W komórkach tych następuje produktywny cykl namnażania, a jego wynikiem są zmiany pęcherzykowe wypełnione płynem surowicznym z licznymi zakaźnymi cząstkami wirusa.

W przypadku zakażenia komórki kilkoma różnymi wirusami (zakażenie mieszane) niekiedy występuje zjawisko **interferencji wirusowej**. Polega ono na braku możliwości namnożenia się danego wirusa w komórce, co jest spowodowane wcześniejszym zakażeniem innym wirusem.



Ryc. 34. Zakażenie latentne wirusem *Herpes simplex*.

Oddziaływanie wirus–organizm

Wrota zakażenia Wrotami zakażeń wirusowych są najczęściej: **układ oddechowy, przewód pokarmowy, układ moczowo-płciowy** lub **uszkodzona skóra**. Niektóre wirusy (np. adenowirusy) dostają się również przez błonę śluzową spojówek oka. Zakażenie może nastąpić także już w okresie życia płodowego (**zakażenia wertykalne**), gdy wirus drogą krwi pokona barierę łożyska.

Wiremia W miejscu wnikięcia wirusa dochodzi do pierwotnego jego namnożenia. Zazwyczaj jest to **zakażenie bezobjawowe**, ale namnożony wirus drogą naczyń chłonnych lub krwionośnych (pierwotna wiremia) zostaje przeniesiony do komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego węzłów chłonnych, śledziony, wątroby lub szpiku kostnego. W tych komórkach następuje dalsza replikacja wirusa, a po osiągnięciu pewnego poziomu dochodzi do przedostania się wirusa do krwi (wtórna wiremia).

Zakażenie narządów docelowych Drogą krwi, wirus w stanie wolnym lub związany z elementami morfotycznymi dociera do narządów docelowych (np. ośrodkowego układu nerwowego, wątroby, płuc, jelit, skóry itp.). Dla niektórych wirusów śródbłonek naczyń krwionośnych jest już ostatecznym celem. Ze względu na rodzaj tkanki docelowej, mówi się o **tropizmie wirusów** (np. wirusy neurotropowe, hepatotropowe, pneumotropowe, dermatotropowe, pantropowe – gdy wiele narządów i tkanek zostaje zakażonych). Zakażenie komórek docelowych i ich uszkodzenie w następstwie replikacji prowadzi do upośledzenia funkcji narządu lub tkanki, a wyrazem tego jest wystąpienie charakterystycznych objawów chorobowych.

Tabela 20. Orientacyjny okres inkubacji w wybranych zakażeniach wirusowych

Choroba/czynnik etiologiczny	Dni
Grypa/wirus grypy	1–2
Przeziębienie/rinowirus	2–4
Zakażenie układu oddechowego/adenowirus	5–7
Opryszczka (zakażenie pierwotne)/wirus opryszczki pospolitej (HSV)	5–8
<i>Poliomyelitis</i> /poliowirus	5–20
Ospa wietrzna/wirus ospy wietrznej i półpaśca (VZV)	13–17
Świnka/wirus świnki	16–20
Mononukleozą zakaźną/EBV	30–50
Zapalenie wątroby/HAV	15–45
Zapalenie wątroby/HBV	45–180
Wścieklizna/wirus wścieklizny	30–100
Brodawki/wirus brodawczaka ludzkiego (HPV)	50–150
AIDS/HIV	1–10 lat

Po pewnym czasie wirus znika z krwi, ale procesy patologiczne w narządach toczą się dalej. Okres inkubacji, tj. czas od momentu wnikięcia wirusa do organizmu do pojawienia się pierwszych symptomów zakażenia, jest różny dla poszczególnych wirusów, co przedstawiono w tab. 20.

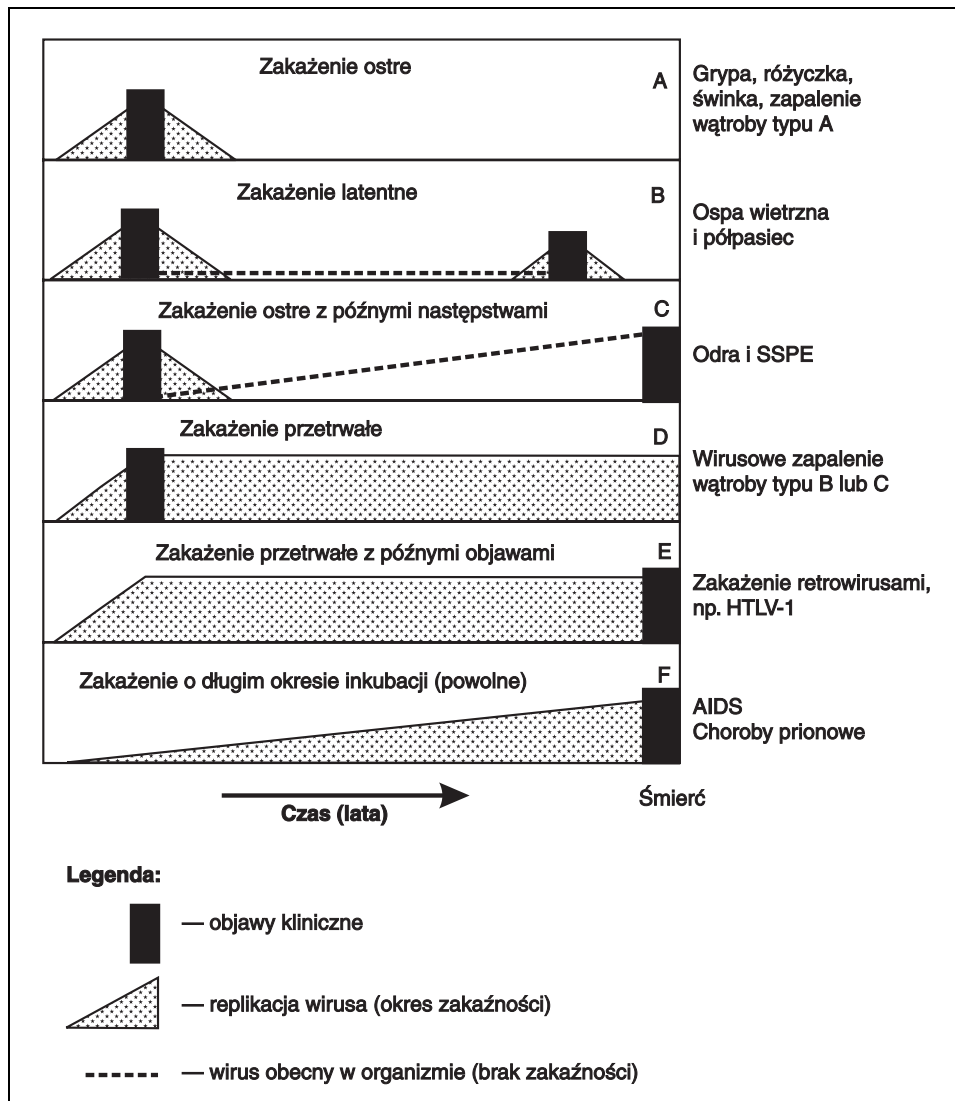
Objawy zakażenia Pierwsze objawy zakażenia, wspólne dla wielu zakażeń o różnej etiologii (gorączka, bóle mięśniowe, ogólne złe samopoczucie), są wynikiem **aktywacji dopełniacza i uwalniania cytokin**. Dopiero **objawy typowe** (np. wysypka, obrzęk ślinianek, nieżyt nosa) są następstwem działania cytopatogenicznego wirusa.

Kliniczne **objawy uszkodzeń narządów** obserwuje się najczęściej w trakcie ostrej fazy choroby. W niektórych jednak zakażeniach dochodzi do rozwoju późnych objawów, których dawniej nie łączono z przebyciem w przeszłości wirusowym procesem chorobowym (np. podostre stwardniające zapalenie mózgu jako następstwo przebytej odry).

Czasem nieprawidłowe reakcje immunologiczne są przyczyną **wtórnych mechanizmów patologicznych**, jak np. odkładanie się kompleksów immunologicznych (wirusowe zapalenie wątroby typu B i C), **wtórna immunosupresja** (wirus odry, cytomegalii), reakcje **nadwrażliwości** (zakażenia wirusami grypy lub RSV) czy **autoimmunologiczne** (np. stymulacja reakcji odrzucania przeszczepu zapoczątkowana zakażeniem cytomegalowirusem, demielinizacja włókien nerwowych w następstwie nosówki u psów lub cukrzyca rozwijająca się u dzieci z wrodzonym zakażeniem wirusem różyczki).

Zakażenie wirusowe może także **torować drogę** innym czynnikom patogenym, na przykład upośledzać funkcje komórek fagocytujących bakterie, co w konsekwencji prowadzi do wtórnych nadkażeń bakteryjnych, wikłających przebieg choroby. Niektóre wirusy dzięki zdolności do transformacji komórek stymulują rozwój **procesów nowotworowych** (np. retrowirusy, papillomawirusy).

Zejsście zakażenia Aktywacja układu immunologicznego w następstwie zakażenia doprowadza zazwyczaj do skutecznej eliminacji wirusa z ustroju, a komórki pamięci immunologicznej zapewniają ochronę przed następnym zakażeniem.



Ryc. 35. Wirusowe zakażenia ostre i przetrwałe.

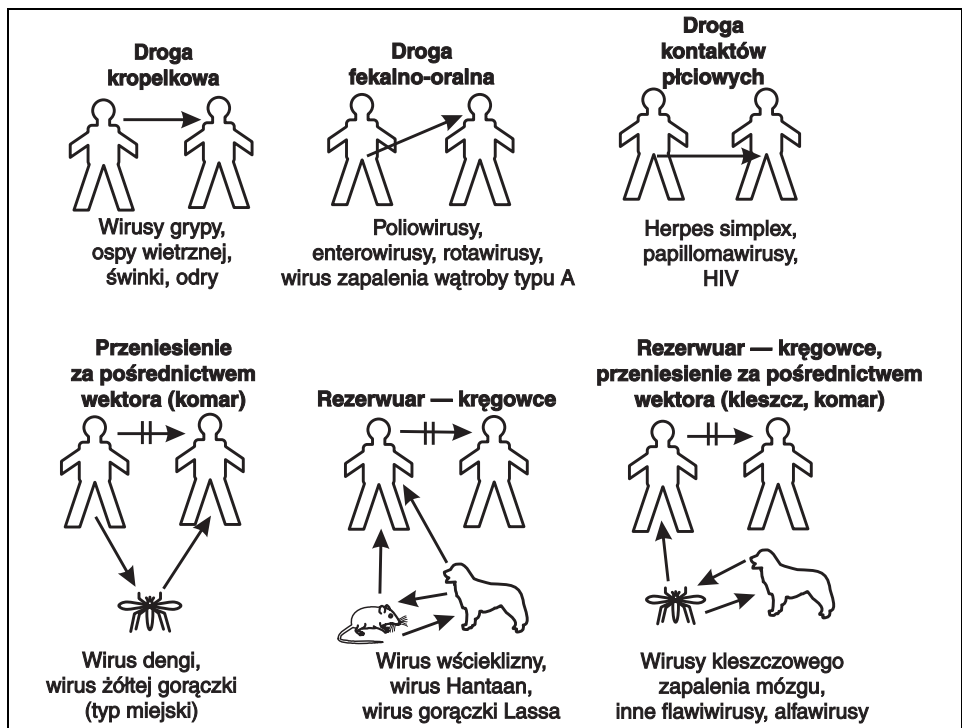
Mechanizmy obronne wirusów Wiele wirusów wykształciło jednak mechanizmy, dzięki którym atak immunologiczny jest nieskuteczny. **Stan latencji lub zakażenie**, które toczy się w miejscach **niedostępnych** dla układu immunologicznego (np. w ośrodkowym układzie nerwowym), to jeden z takich przykładów. Tworzenie **syncytiów komórkowych** (połączeń między komórkami) w następstwie zakażenia np. paramyksowirusami ułatwia szerzenie się wirusa z komórki do komórki, bez narażenia się na kontakt z przeciwciałami neutralizującymi, znoszącymi zakaźność wirusa. **Zmienność antygenowa**, charakterystyczna dla wielu wirusów RNA (np. grypy, HIV), uniemożliwia także skuteczne działanie układu immunologicznego. Niektóre wirusy (np. wirus cytomegalii) mają antygeny, które są **zbliżone do antygenów układu zgodności tkankowej**, przez co nie są rozpoznawane jako obce przez komórki układu odpornościowego. Te wszystkie procesy powodują, że wiele wirusów nie zostaje skutecznie usunięta z organizmu (tak jak dzieje się to w przypadku zakażeń ostrych (ryc. 35A), lecz rozwija się stan zakażenia przetrwałego.

Zakażenie przetrwałe Typowym przykładem zakażenia przetrwałego jest **zakażenie wirusem opryszczki** z okresowo pojawiającą się opryszczką wargową lub **półpasiec**, jako następstwo reaktywacji wirusa ospy wietrznej i półpaśca (ryc. 35B). Wirus **odry** u niektórych osób nie zostaje wyeliminowany, lecz dostaje się do ośrodkowego układu nerwowego (ryc. 35C). W komórkach nerwowych może namnażać się przez wiele lat, ale na niskim poziomie, doprowadzając do pojawienia się zmian patologicznych dopiero po kilku latach (zwykle 6–10), w postaci **podostrego stwardniającego zapalenia mózgu** (SSPE). Innym przykładem zakażenia przetrwałego jest **przewlekłe zapalenie wątroby typu B lub C**, kiedy po okresie ostrym choroby wirus nadal utrzymuje się w organizmie i pacjent może być zakaźny nawet do końca życia (ryc. 35D). **Retrowirusy** z kolei mogą powodować zakażenia, które ujawniają się dopiero po wielu latach. Podobny przebieg obserwuje się także w zakażeniach **prionami** (ryc. 35E,F).

EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEŃ WIRUSOWYCH

Szerzenie się zakażeń Wydalanie wirusów namnożonych w organizmie i ich szerzenie się na inne organizmy są niezbędnymi elementami podtrzymywania zakażenia w populacji. Zazwyczaj wirus opuszcza organizm **tą samą drogą, jaką wniknął do niego**. W zakażeniach uogólnionych ma możliwość wydostania się z organizmu **różnymi drogami** (np. wirus cytomegalii występuje w wydzielinie szyjki macicy, mleku matki, ślinie, moczu). Szerzenie się wirusów w populacji najczęściej odbywa się przez przeniesienie drobnoustroju **z człowieka na człowieka**. Możliwe są również zakażenia człowieka szerzące się bezpośrednio **od zwierząt** lub za pośrednictwem **biologicznych przenosicieli (wektorów)**, którymi mogą być np. komary i kleszcze (ryc. 36).

Wirusowe **zakażenia wertykalne** (przeniesione z matki na płód lub noworodka) mogą nastąpić już na etapie zapłodnienia (niektóre retrowirusy), gdy zakażone są komórki rozrodcze, ale częściej są związane z okresem wiremii



Ryc. 36. Horyzontalne (poziome) szerzenie się zakażeń wirusowych.

Tabela 21. Ryzyko wirusowych zakażeń wertykalnych (wewnątrzmacicznych i okołoporodowych)

Wirus	Przez łożysko	W czasie porodu	Po urodzeniu
Wirus różyczki	++*	–	–
Cytomegalowirus	+ / ++*	++	++ (BM)
Wirus opryszczki	+	++	+
Wirus ospy wietrznej/półpaśca	++	+	+
Parwovirus B19	++*	–	–
Ludzki wirus upośledzenia odporności	+	++	+ (BM)
Wirus zapalenia wątroby typu B	+	++	++
Ludzkie wirusy papilloma	–	++	–

(++) – duże ryzyko

(+) – małe ryzyko

(–) – minimalne ryzyko

(BM) – wirus przenoszony z mlekiem matki

* – zakażenie pierwotne u matki

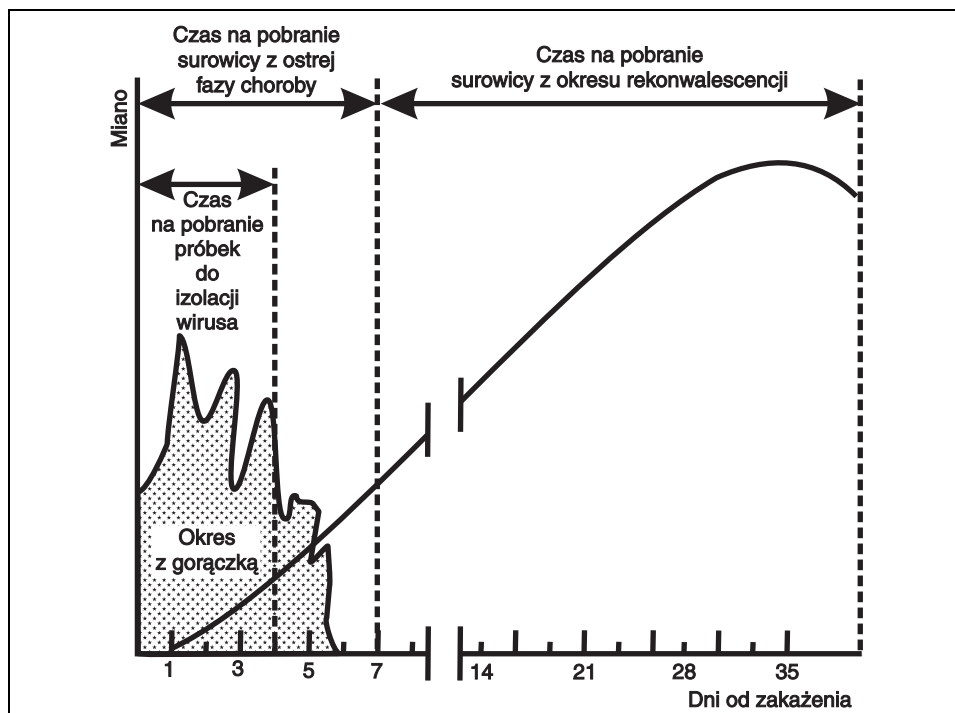
u matki i transmisją wirusa drogą łożyska. **Zakażenie noworodka** może także nastąpić w trakcie porodu (zakażenia okołoporodowe), kiedy dziecko przechodzi przez zakażony kanał rodny, lub w trakcie naturalnego karmienia. Wirusy, które powodują tego typu zakażenia, przedstawiono w tab. 21.

PODSTAWY DIAGNOSTYKI WIRUSOLOGICZNEJ

Diagnostyka laboratoryjna zakażeń wirusowych opiera się na:

- wykazaniu obecności i zidentyfikowaniu określonego wirusa, jego antygenów lub kwasu nukleinowego w materiale klinicznym lub
- ocenie odpowiedzi immunologicznej organizmu na zakażenie.

Podjmując decyzję o rozpoczęciu postępowania diagnostycznego należy wziąć pod uwagę **czas, jaki upłynął** od wystąpienia pierwszych objawów choroby. Dla większości zakażeń wirusowych, w miarę trwania procesu chorobowego, na skutek działania mechanizmów odpornościowych, spada liczba zakaźnych cząstek wirusa, które można wykryć w materiale klinicznym. Często obecność zakaźnych cząstek wirusa, jego antygenów lub kwasu nukleinowego można wykazać **tylko na początku choroby**, natomiast w późniejszym okresie rozpoznanie można ustalić tylko na podstawie oznaczenia swoistych przeciwciał, jak uwidoczniono to na ryc. 37.



Ryc. 37. Dobór materiału klinicznego w zależności od okresu choroby.

W zakażeniach wirusowych wartość diagnostyczną ma wykazanie obecności **przeciwciał klasy IgM** lub stwierdzenie co najmniej **4-krotnego przyrostu miana** w 2 próbkach surowicy pobranych w odstępie 2–3 tygodni (najlepiej w okresie ostrym choroby i rekonwalescencji). Badanie serologiczne w pewnych sytuacjach może mieć małą wartość diagnostyczną. W pierwszym okresie choroby może być jeszcze zbyt wcześnie, aby wykryć swoiste przeciwciała (jest to tzw. **okno serologiczne** – jego długość jest różna w różnych zakażeniach). Z kolei u pacjentów z niedoborami immunologicznymi może nie dochodzić do wytwarzania przeciwciał. W przypadku zakażeń nawrotowych (np. grypa, inne zakażenia układu oddechowego, zakażenia herpeswirusowe) można także nie uchwycić znamiennego przyrostu miana spowodowanego powtórny wtrągnięciem wirusa do organizmu lub reaktywacją zakażenia latentnego.

Rodzaj materiału Przy planowaniu badań wirusologicznych, które mają potwierdzić obecność wirusa, trzeba tak dobrać rodzaj materiału klinicznego, aby zawierał on odpowiednio dużą liczbę cząstek zakaźnych. Dogodnym materiałem są **wydaliny** i **wydzieliny** chorego, natomiast z krwi izolować można wirusy tylko w okresie wirerii, która w zakażeniach wirusowych utrzymuje się stosunkowo krótko, i to zazwyczaj zanim pojawią się charakterystyczne objawy choroby. Podejmując decyzję o kierunku badania mikrobiologicznego należy przewidzieć także, **jakie czynniki etiologiczne mogą być przyczyną** danego schorzenia. Jest to konieczne, gdyż sposób postępowania i metodyka jest odmienna dla różnych wirusów. Dobór materiału klinicznego w zależności od czynnika etiologicznego przedstawiono w rozdziale „Pobieranie i przesyłanie materiałów do badań mikrobiologicznych”.

Transport materiału Materiał kliniczny do badań wirusologicznych pobiera się do odpowiedniego **podłoża transportowego** (najprostsze to jałowa sól fizjologiczna z dodatkiem antybiotyków), które chroni na okres transportu próbkę przed inaktywacją w środowisku pozakomórkowym. Ważne jest, aby materiał dotarł do laboratorium w **jak najkrótszym czasie**. **Temperatura**, w której przechowywana jest próbka, także odgrywa decydującą rolę i bezpośrednio rzutuje na wynik badania. Jeżeli pobrany materiał nie może być od razu badany i musi być **przechowany**, powinien być **zamrożony** w temperaturze poniżej -20°C (najlepiej w -90°C lub w ciekłym azocie) i transportowany bez rozmrażania w tzw. suchym lodzie (stały dwutlenek węgla). **Uwaga ta nie dotyczy krwi**, której nie wolno zamrażać (następuje hemoliza erytrocytów) oraz np. próbek do izolacji wirusa cytomegalii, a optymalna temperatura przechowywania i transportu tych materiałów to $+4^{\circ}\text{C}$. W przypadkach jakichkolwiek wątpliwości dotyczących sposobu pobrania i zabezpieczenia materiału najlepiej skontaktować się z właściwym laboratorium.

Metody klasyczne

Najwcześniej zastosowanymi metodami służącymi do wykrywania wirusów w badanym materiale było **zakażanie** nimi wrażliwych zwierząt laboratoryjnych, zarodków ptasich i hodowli komórek. Zwierzęta doświadczalne (najczęściej myszy, fretki, świnki morskie, króliki, ptaki, czasem małpy), które

dobiera się w zależności od ich gatunkowej wrażliwości na danego wirusa, zakaża się różnymi drogami (np. podskórnie, dootrzewnowo, domózgowo, dożylnie, donosowo) i obserwuje pojawianie się objawów chorobowych. Gdy takie wystąpią, zwierzęta uśmierca się i pobiera narządy wewnętrzne (najczęściej mózg, wątrobę i śledzionę), w których identyfikuje się obecność namnożonego wirusa stosując metody serologiczne.

Rozwijające się zarodki ptasie, najczęściej kurze, mogą być zakażane różnymi sposobami i w różnych stadiach rozwojowych. Można zakażać błonę kosmówkowo-omoczniową, jamę owodni, omocznik lub woreczek żółtkowy. Po kilku dniach inkubacji w odpowiednich warunkach z zakażonego jaja pobiera się płyn lub tkankę i bada je na obecność wirusów.

Zakażenie hodowli komórek umożliwia namnożenie wirusa *in vitro*. Hodowle mogą pochodzić z tkanek ludzkich lub zwierzęcych świeżo pobranych (hodowle pierwotne) lub z tzw. ustabilizowanych linii komórkowych, to jest takich, które można pasażować wielokrotnie *in vitro*. W tym przypadku komórki są zmienione nowotworowo, ulegają transformacji i zyskują cechę nieograniczonego mnożenia się. W badaniach wirusologicznych używa się także półciąglych linii komórkowych. Zawierają one komórki wywodzące się z tkanki płodowej ludzkiej lub zwierzęcej (fibroblasty), które mają ograniczony okres życia do ok. 30–50 pasaży. Komórki mogą rosnąć w odpowiednich płynach odżywczych w postaci hodowli jednowarstwowych lub w zawiesinie. Zakażone wirusem komórki w hodowli jednowarstwowej można obserwować pod mikroskopem (powiększenie ok. 50 ×) w celu stwierdzenia tzw. efektu cytopatycznego. Są to zmiany degeneracyjne spowodowane namnożeniem się wirusa, które pozwalają niekiedy na wstępne rozpoznanie czynnika zakażającego. Efekt cytopatyczny może być jednak słabo zaznaczony, może nie wystąpić lub może być nietypowy, stąd konieczność dalszej identyfikacji namnożonego wirusa za pomocą surowic odpornościowych.

Metody mikroskopowe

Mikroskop elektronowy stworzył nowe możliwości rozwoju wirusologii umożliwiając wykazanie obecności wirusów bezpośrednio w materiałach klinicznych lub w zakażonych komórkach. Ze względu na wysoki koszt i trudną procedurę przygotowania próbek do badania powszechne zastosowanie mikroskopii elektronowej do celów diagnostycznych okazało się dość ograniczone. Jednakże w przypadku nowo odkrytych wirusów lub tych, których nie udaje się namnożyć w warunkach doświadczalnych, jest to jedyna metoda poznawcza.

Mikroskop świetlny z kolei umożliwia obserwację zmian patologicznych powstałych w komórkach zakażonych wirusem. Wykrycie ciał wtępowych w preparatach histologicznych lub złuszczonych nabłonkach barwionych np. metodą Giemsa lub hematoksyliną i eozyną pozwala niekiedy na wstępne rozpoznanie zakażenia wirusowego. Wykrycie np. ciałek Negriego w tkance mózgowej umożliwia rozpoznanie wścieklizny, natomiast komórek olbrzy-

mich z charakterystycznym rozjaśnieniem wokół jądra (tzw. sowie oko) jest charakterystyczne dla cytomegalii. Ostateczne potwierdzenie zakażenia jest możliwe po zastosowaniu do barwienia swoistych przeciwciał reagujących z danym antygenem, znakowanych np. fluoresceiną.

Metody serologiczne

Zasady odczynów serologicznych i najważniejsze ich przykłady zostały opisane w rozdziale „Immunologia”. Istnieje jednak pewna specyfika tych odczynów w zastosowaniu do diagnostyki zakażeń wirusowych. Na przykład w odczynie immunofluorescencyjnym (IF) w przypadku wykrywania antygenów wirusowych *in situ* w rozmazach zawierających złuszczone komórki nabłonkowe, preparatach histologicznych lub w hodowlach komórkowych zakażonych materiałem klinicznym wykorzystuje się zjawisko eksponowania antygenów wirusowych na powierzchni komórek zakażonych wirusem.

Stosuje się także kilka metod serologicznych, **specyficznych dla diagnostyki wirusologicznej**, takich jak:

- **Odczyn neutralizacji**, czyli zobojętniania (NT) – jest najczulszym testem odzwierciedlającym stan funkcjonalny odpowiedzi immunologicznej na zakażenie wirusowe. Istotą odczynu jest zobojętnienie wirusa przez swoiste przeciwciała, co objawia się utratą jego właściwości zakaźnych. Wynik reakcji zobojętniania ocenia się przez zakażenie wrażliwej hodowli komórkowej lub zwierząt laboratoryjnych mieszaniną wirusa poddaną działaniu przeciwciał. Odczyn uznaje się za dodatni, jeżeli stwierdzi się brak efektu cytopatycznego lub brak objawów chorobowych u zakażonych zwierząt, przy wystąpieniu efektu działania wirusa w grupie kontrolnej, zakażonej tylko zawiesiną wirusa.
- **Odczyn zahamowania hemaglutynacji (OZHA)** – stosuje się w diagnostyce tych wirusów, które posiadają hemaglutyninę, zdolną do aglutynowania (zlepiania) erytrocytów, np. wirusy grypy, różyczki, paramyksowirusy. W tym celu do rozcieńczonej surowicy dodaje się antygen wirusowego. Obecne w surowicy przeciwciała łączą się z określoną hemaglutyniną, blokując jej działanie. Po dodaniu krwinek czerwonych nie obserwuje się ich zlepiania.
- **Odczyn hemadsorpcji** – wykorzystuje zjawisko przylegania erytrocytów różnych gatunków zwierząt lub ludzkich „0” Rh(-) do powierzchni komórek zakażonych wirusem posiadającym hemaglutyninę. Efekt ten pojawia się w hodowli komórkowej zanim wystąpi efekt cytopatyczny. Hamowanie odczynu hemadsorpcji przez swoiste przeciwciała umożliwia identyfikację gatunkową wirusa.

Metody molekularne

Są obecnie coraz częściej wykorzystywane ze względu na ich wysoką czułość i możliwość uzyskania wyniku w stosunkowo krótkim czasie. Umożliwiają

wykrywanie swoistych sekwencji nukleotydów w wirusowym DNA lub RNA. Nie różnią się one od metod stosowanych w innych dziedzinach diagnostyki mikrobiologicznej (patrz podrozdział „Metody molekularne” w rozdziale „Bakteriologia ogólna”).

LEKI PRZECIWWIRUSOWE

Pomimo iż zakażenia wirusowe stanowią około 90% infekcji, które występują w ciągu roku poza szpitalami, ich zdecydowana większość ma charakter samoograniczający i dlatego po leki przeciwwirusowe sięga się rzadko, tylko w przypadkach ciężkiego przebiegu niektórych zakażeń. Asortyment tych leków w porównaniu do chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych jest stosunkowo **ubogi**. Jest to związane z trudnościami w otrzymaniu skutecznego związku o działaniu przeciwwirusowym, który hamując proces namnażania wirusa w żywej komórce nie byłby toksyczny dla komórki.

Leki przeciwwirusowe mają ponadto **dość wąski zakres** działania. Zastosowanie w lecznictwie znalazły preparaty skuteczne w zakażeniach wywołanych wirusami z rodziny *Herpesviridae*, *Retroviridae* oraz u chorych z ciężkimi postaciami wirusowego zapalenia wątroby, rzadziej grypą czy innymi zakażeniami.

Spośród naturalnych substancji o działaniu przeciwwirusowym zastosowanie terapeutyczne znalazły **interferony**. Hamują one syntezę białek wirusowych. Uzyskanie drogą inżynierii genetycznej interferonów rekombinowanych stworzyło możliwość ich zastosowania praktycznego u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu B i C.

Przełomem w rozwoju chemioterapii zakażeń wirusowych było otrzymanie w 1974 roku **acyklowiru**, hamującego namnażanie wirusów opryszczki pospolitej oraz wirusa ospy wietrznej i półpaśca. Jego wbudowanie do wirusowego łańcucha DNA zatrzymuje proces replikacji kwasu nukleinowego. Związek ten jest selektywnie aktywowany przez wirusową kinazę tymidynową, enzym, który powoduje wstępną fosforylację acyklowiru. W związku z tym forma aktywna leku tworzy się tylko w komórkach zakażonych wirusem, nie wpływając na metabolizm komórek niezakażonych.

Od lat 80., w związku z pojawieniem się problemu AIDS, prace nad nowymi lekami przeciwwirusowymi koncentrowały się nad preparatami skutecznymi w leczeniu zakażeń renowirusowych.

Podział leków przeciwwirusowych Obecnie stosowane, syntetyczne związki przeciwwirusowe, ze względu na ich mechanizm działania **można podzielić** na:

- I. **Hamujące proces odplaszczania** i uwalniania genomu do cytoplazmy (amantadyna i rymantadyna).
- II. **Hamujące wirusową polimerazę DNA**, enzym który umożliwia przyłączenie kolejnych nukleotydów, czyli reakcję polimeryzacji (widarabina, idoksyurydyna, triflurydyna, cidofowir). Związki te są analogami natu-

ralnych nukleozydów, które wbudowują się do łańcucha DNA, uniemożliwiając dalszą syntezę kwasu nukleinowego. Mają czasem groźne działania niepożądane, gdyż mogą wbudowywać się także do DNA komórki gospodarza. Niektóre z nich można stosować tylko miejscowo.

- III. **Analogi nukleozydów** aktywowane przez wirus (acyklowir, walacyklowir, pencyklowir, famcyklowir, gancyklowir) – są pochodnymi guanozyny. Ich mechanizm działania jest podobny do acyklowiru, różnią się biodostępnością i znajdują zastosowanie w leczeniu zakażeń herpeswirusowych.
- IV. **Inhibitory rewertazy HIV** – hamujące odwrotną transkryptazę, enzym kluczowy w procesie replikacji wirusa, przepisujący informację zawartą w RNA na komplementarną nić DNA (patrz rozdział „Wirusologia szczegółowa”, podrozdział „Retrowirusy”). Związki należące do tej grupy ze względu na strukturę chemiczną dzieli się na nukleozydowe (np. zidowudyna, zalcytabina, stawudyna, lamiwudyna, didanozyna) i nienukleozydowe (np. delawirydyna, efawirenz, newirapina).
- V. **Inhibitory proteaz** (np. amprenawir, indinawir, nelfinawir, sakwinawir, ritonawir). Ta grupa leków blokuje miejsce aktywne enzymu, który jest niezbędny w procesie dojrzewania i formowania cząstek wirusa HIV. Unieczynnienie tego enzymu zatrzymuje proces namnażania wirusa w komórce.

Tabela 22. Przykłady zastosowań leków przeciwwirusowych

Preparat	Zastosowanie
Zakażenia herpeswirusowe	
Idoksyurydyna	HSV – zapalenie rogówki (tylko miejscowo)
Triflurydyna	HSV – zapalenie rogówki (tylko miejscowo)
Widarabina	HSV – zapalenie rogówki (tylko miejscowo), zapalenie mózgu
Acyklowir	Zakażenia wywołane przez HSV i VZV
Walacyklowir	Jw.
Pencyklowir	Jw.
Gancyklowir	Zakażenia wywołane przez CMV
Foskarnet	Jw.
Cidofowir	Zakażenia wywołane przez CMV, a także HSV, VZV, EBV
Zakażenia układu oddechowego	
Amantadyna	Wirus grypy typu A
Rymantadyna	Jw.
Rybawiryna	Wirus grypy typu A i B, wirus RS
Zanamiwir	Wirus grypy typu A i B
Wirusowe zapalenia wątroby	
Lamiwudyna	Wirus zapalenia wątroby typu B
Rybawiryna	Wirus zapalenia wątroby typu C
Interferon	Wirus zapalenia wątroby typu B i C

- VI. **Związki o szerokim zakresie działania** (rybawiryna, foskarnet) – hamują polimerazy wirusowe, a przez to namnażanie zarówno DNA, jak i RNA wirusów m.in. grypy, paragrypy, bunyawirusów, arenawirusów, retrowirusów, adenowirusów.
- VII. **Związki hamujące uwalnianie potomnych wirionów** (zanamiwir i oseltamiwir) – to niedawno odkryte selektywne inhibitory neuramini-dazy wirusa grypy typu A i B (patrz podrozdział „Ortomyksowirusy i Paramyksowirusy” w rozdziale „Wirusologia szczegółowa”).

Stosuje się także z dobrym skutkiem, szczególnie w przypadkach osób zakażonych HIV, a ostatnio HBV i HCV, **leczenie skojarzone** kilkoma lekami. Terapia HAART (ang. highly active anti-retroviral therapy) polega na podawaniu zazwyczaj 3 leków antyretrowirusowych o różnych mechanizmach działania. Celem terapii HAART jest maksymalne obniżenie poziomu wirusa we krwi, ochrona lub odbudowa układu immunologicznego, poprawa jakości życia chorych, opóźnienie wystąpienia AIDS i wydłużenie czasu życia zakażonych. Całkowita eradykacja HIV przy obecnych możliwościach chemioterapii nie jest możliwa. Przykłady zastosowań leków przeciwwirusowych podano w tab. 22.