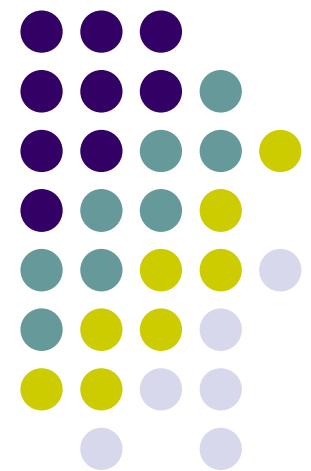
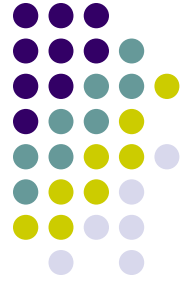
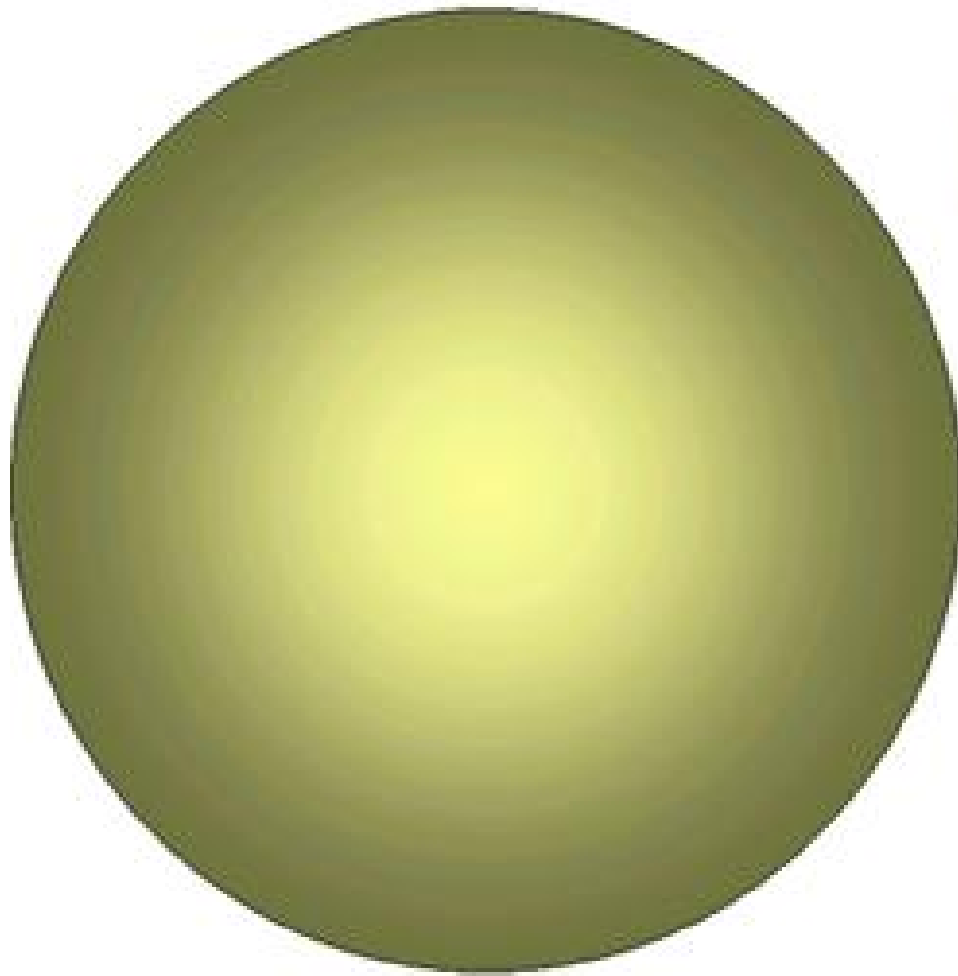

Virusurile. Bacteriofagul.
Caractere morfobiologice.
Utilizarea practică a
bacteriofagilor



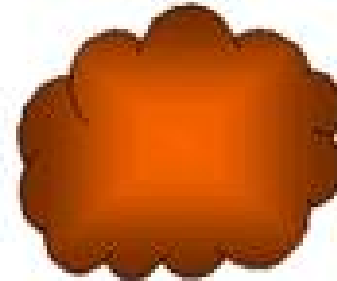


- **Particularitățile virusurilor**
 1. **Reprezintă structuri acelulare cu potențial infecțios**
 2. **Dimensiuni de rangul nm (20-400 nm)**
 3. **Genomul viral este constituit dintr-un singur tip de AN (ADN sau ARN)**
 4. **Sunt lipsite de metabolism propriu, fiind paraziți obligați intracelulari**
 5. **Nu cresc și nu se divid, se reproduc în celule vii**
 6. **Nu pot fi cultivate pe medii artificiale**
 7. **Rezistență naturală la antibiotice**

1 micron



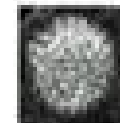
Bacterium (Staphylococcus aureus)



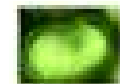
Chlamydia



Pox virus



Herpes virus



Influenza virus



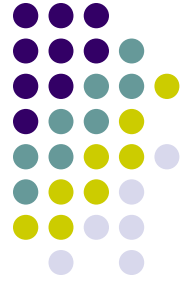
Picornavirus (polio)



CLASIFICAREA VIRUSURILOR

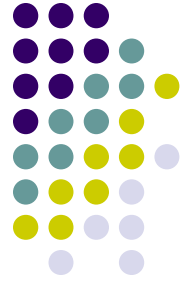


- **După tipul AN (cu genom ARN/ADN)**
- **După dimensiuni (mici – 20-50 nm, medii – 50-150 nm, mari – peste 150 nm)**
- **După tipul de simetrie a capsidului (helicoidală, cubică, mixtă)**
- **După compoziția chimică (simple, complexe)**
- **După gazdă (om, animal, insectă, bacterie)**
- **După sensibilitatea în mediul extern, substanțe chimice, etc**

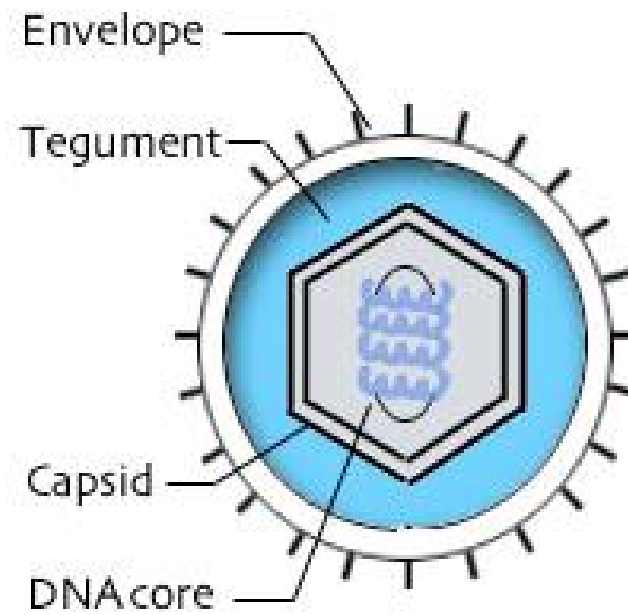
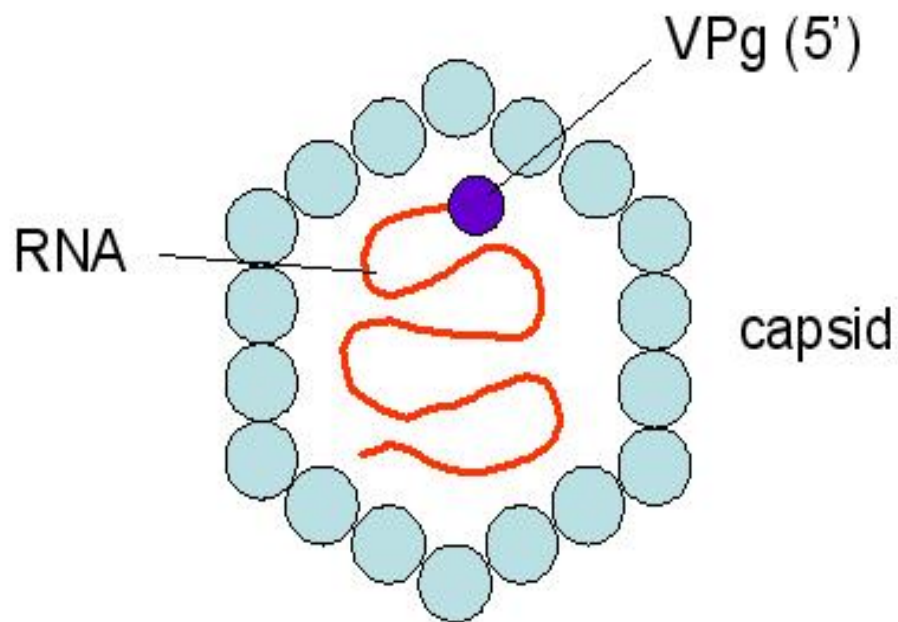


- Ordin (*-virales*)
- Familie (*-viridae*)
- Subfamilie (*-virinae*)
- Gen (*-virus*)
- Specie (*Virusul gripal, poliomieltic, al hepatitei B, etc*)

COMPOZIȚIA CHIMICĂ ȘI STRUCTURA VIRIONULUI



- **Virion** – unitate structurală infecțioasă a virusului
- Virusurile simple – acid nucleic (AN) și înveliș proteic – capsida (ansamblu numit nucleocapsidă)
- Virusurile complexe – nucleocapsidă și un înveliș extern, lipoglicoproteic (supercapsidă, peplos)

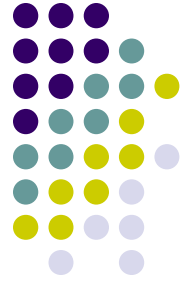




Acidul Nucleic – ADN sau ARN, mono- sau bicatenar, liniar, circular sau fragmentat.

ARN monocatenar : ARN+ (catenă cu sens, funcție de ARNm) sau **ARN-** (catenă fără sens, este necesară prezența enzimei polimeraza)

Funcția AN – asigurarea replicării AN și expresia genomului pentru sinteza proteinelor virale

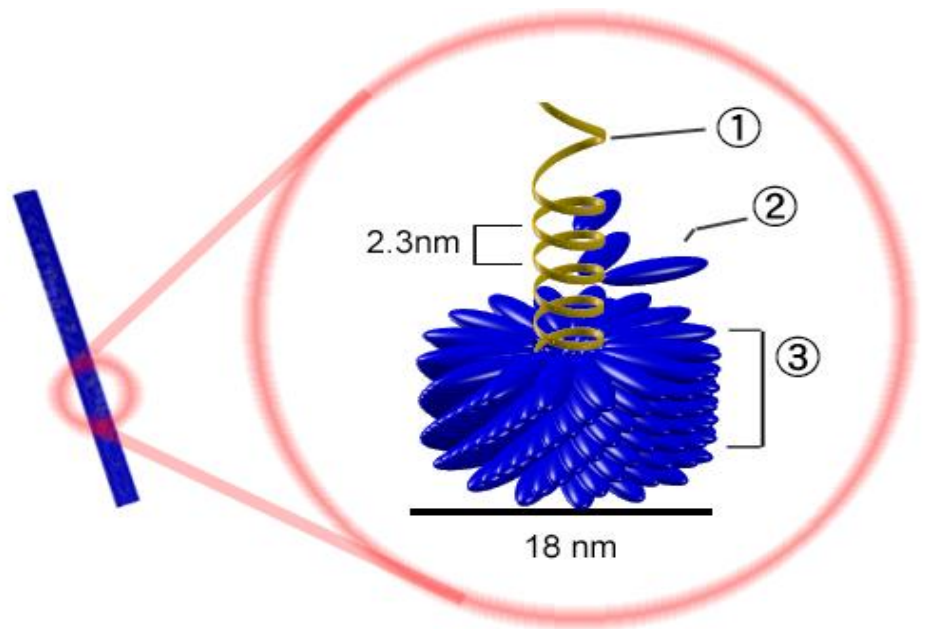
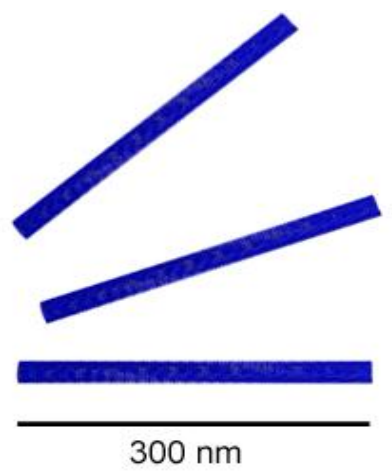
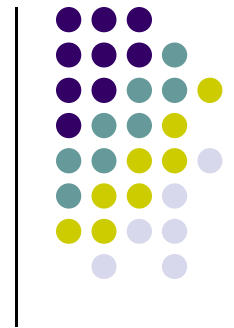
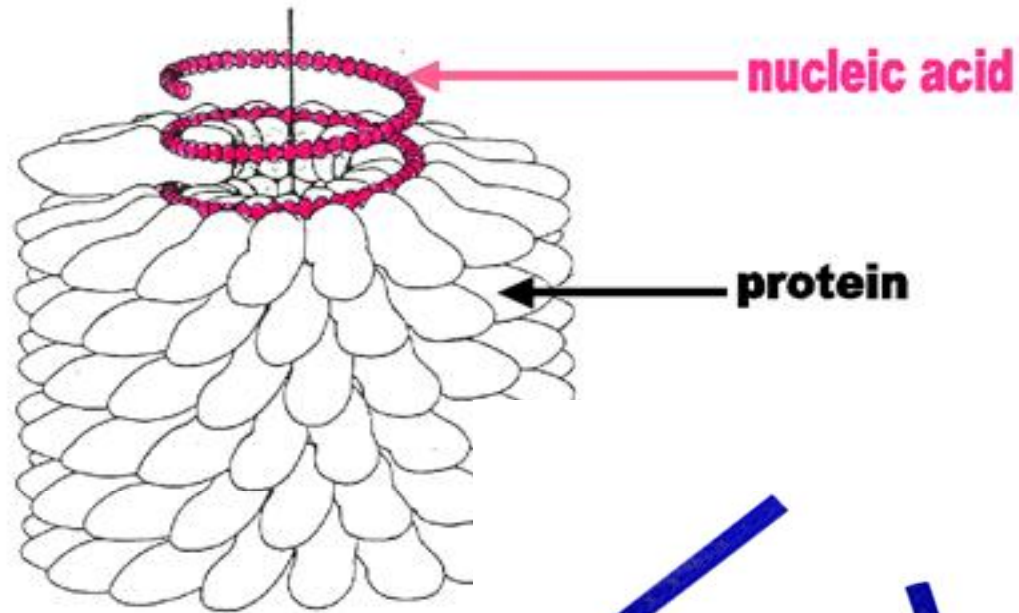


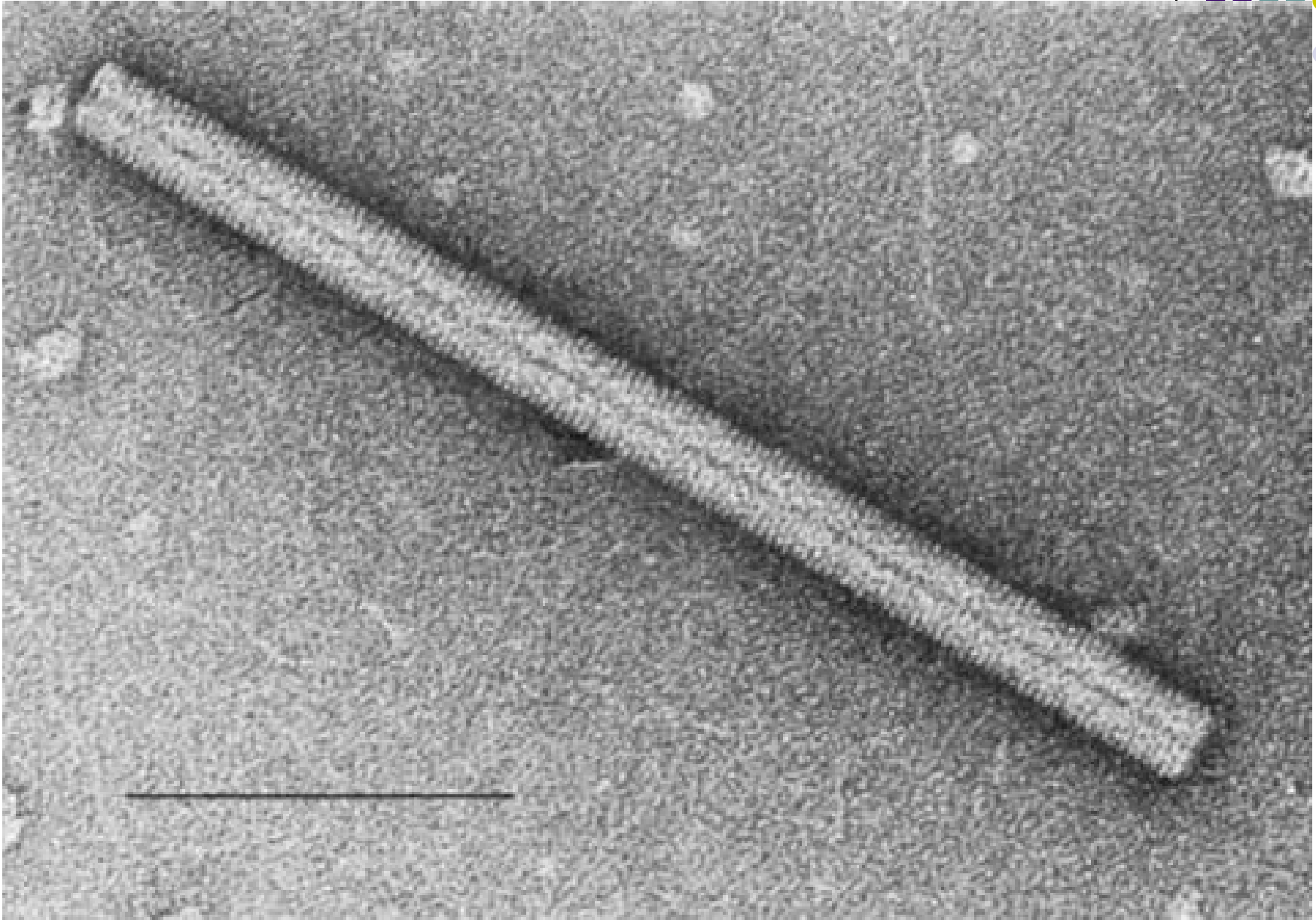
Capsida – formată din unități proteice, **capsomere**, aranjate simetric.

1. **Simetrie helicoidală** – capsomerele se fixează pe catena de AN, formă de bastonaș
2. **Simetrie cubică (icosaedrică)** – capsomerele se aranjează în jurul AN, formând un icosaedru (poliedru regulat cu 20 fețe triunghiulare și 12 vârfuri), *eikos=20*
3. **Simetrie mixtă** (bacteriofagii, poxvirusurile)

Funcția capsidei– protecția AN, rol antigenic, adeziune

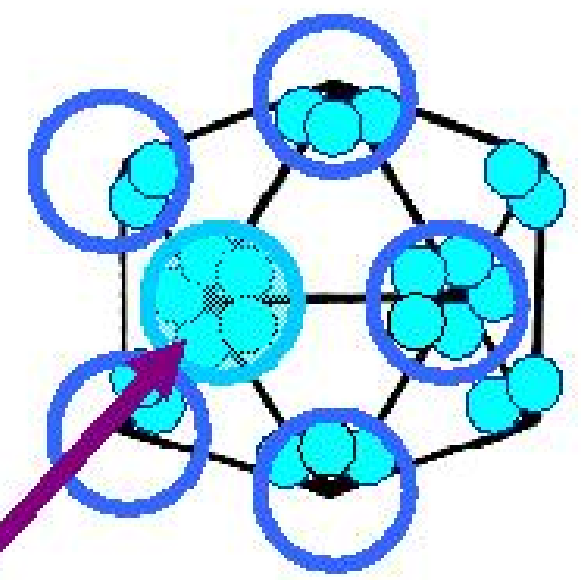
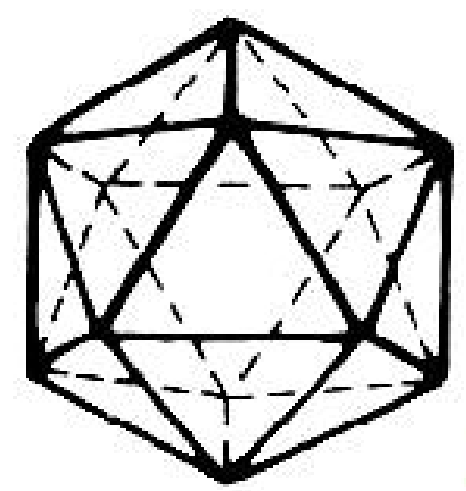
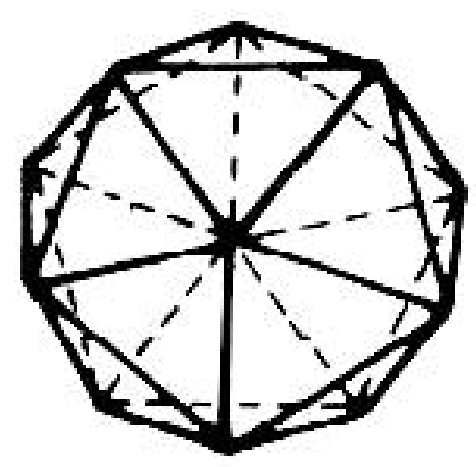
TOBACCO MOSAIC VIRUS



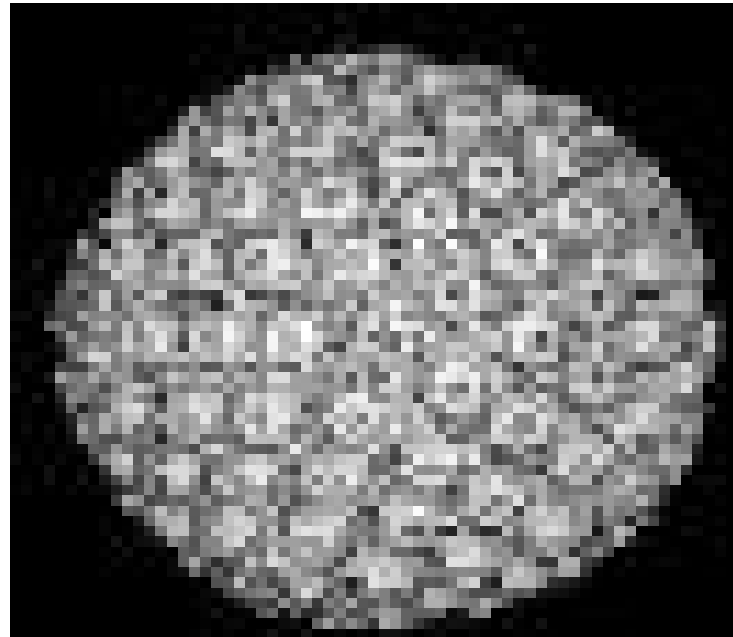
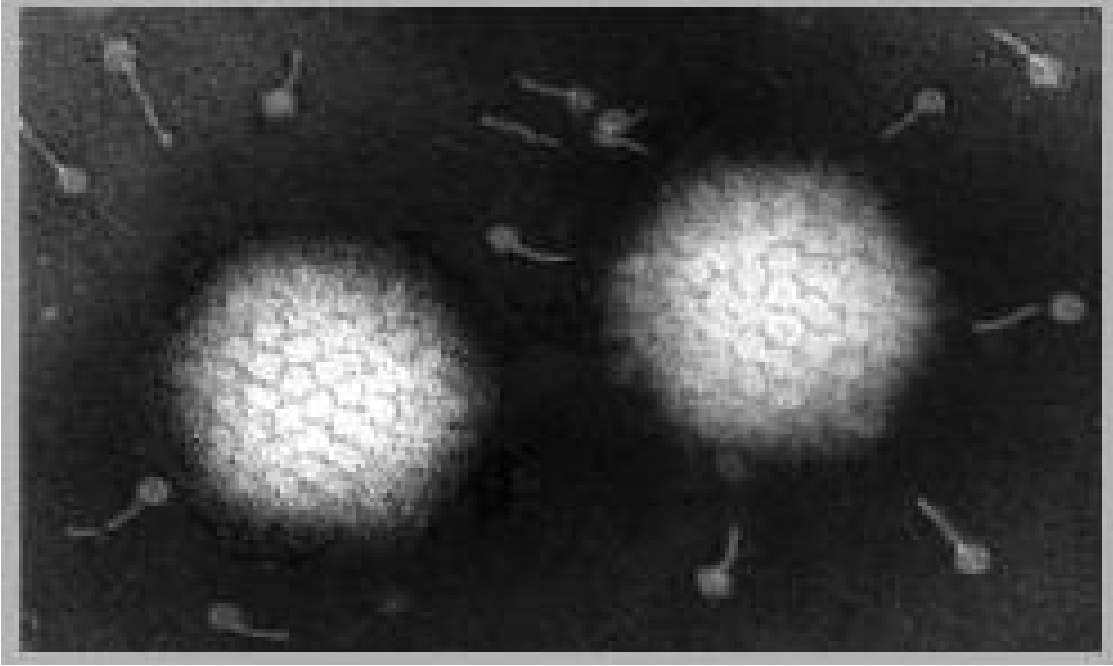
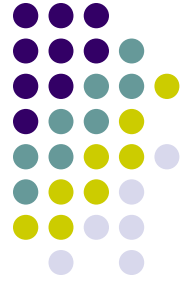




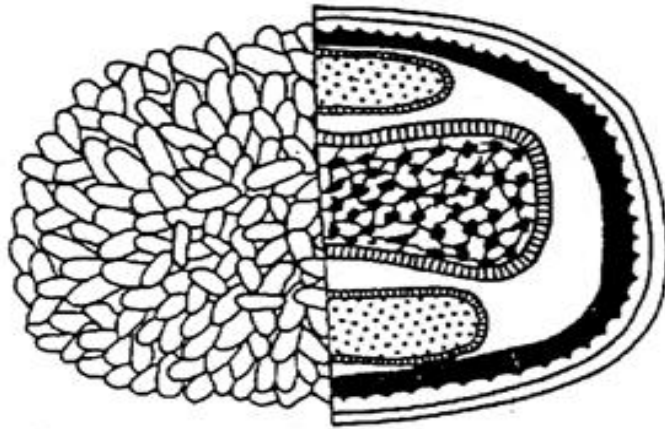
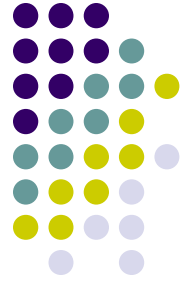
ICOSAHEDRAL SYMMETRY



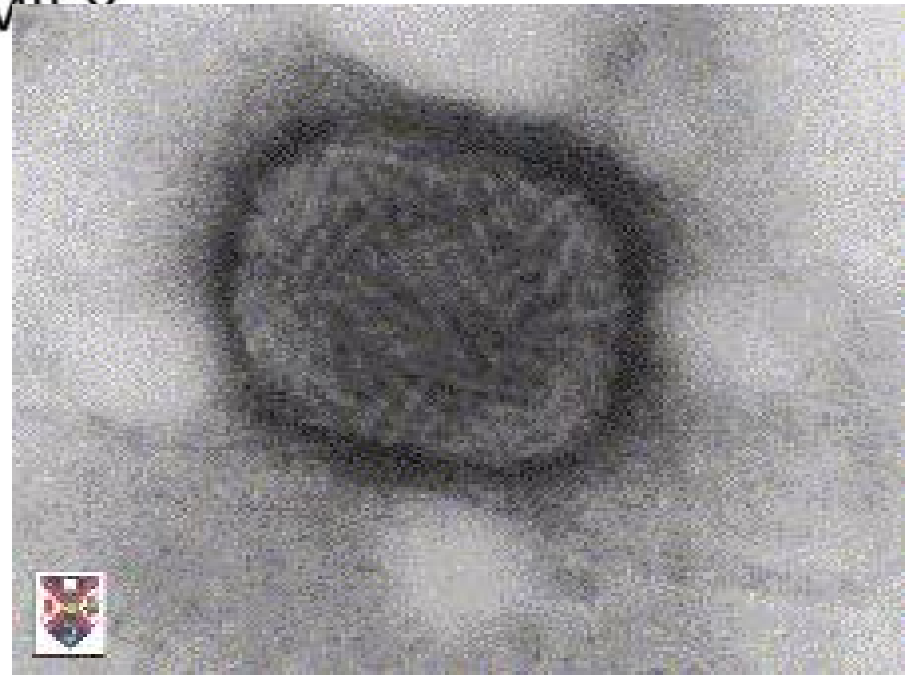
CAPSOMER
= PENTON (pentamer)

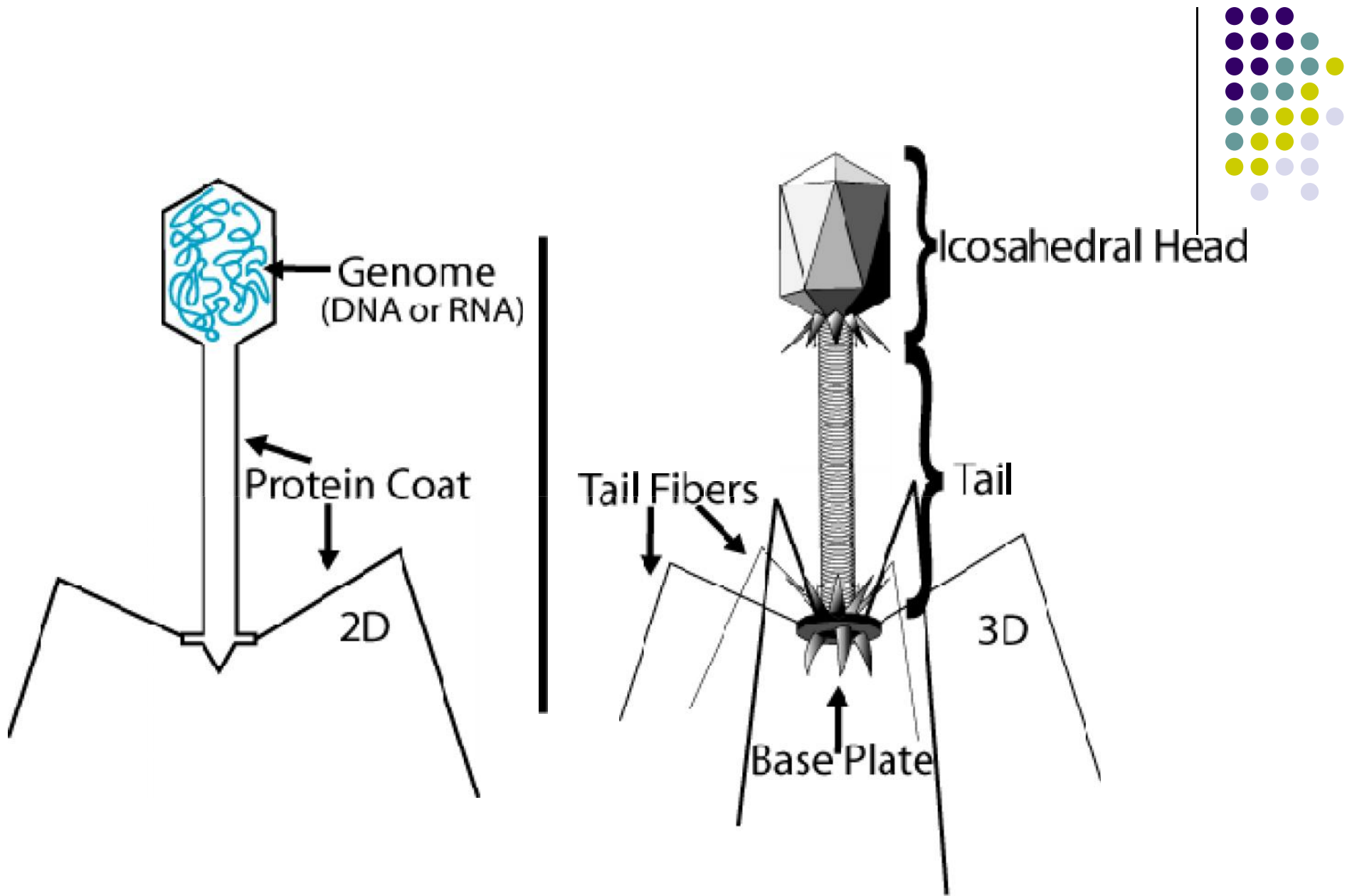


COMPLEX SYMMETRY



POXVIRUS FAMILY

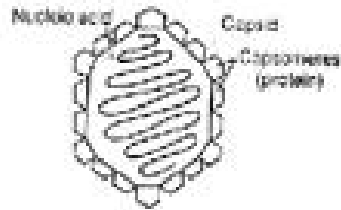




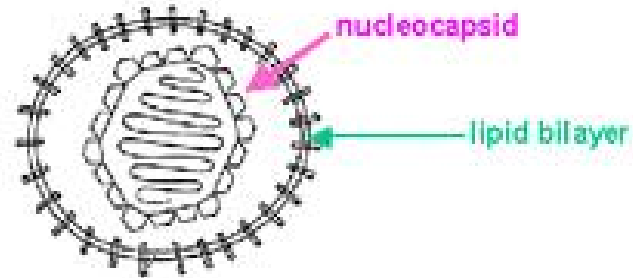
5 BASIC TYPES OF VIRAL SYMMETRY



icosahedral nucleocapsid

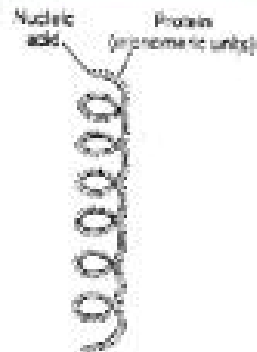


ICOSAHEDRAL

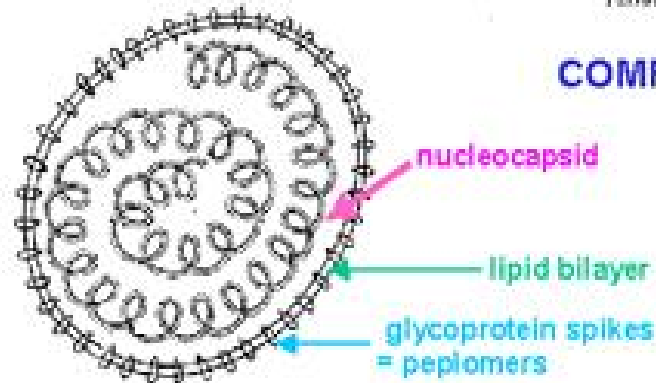


ENVELOPED ICOSAHEDRAL

helical nucleocapsid



HELICAL

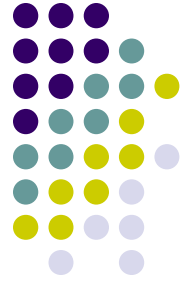


ENVELOPED HELICAL



COMPLEX

Adapted from Schaeter et al., Mechanisms of Microbial Disease



Supercapsida – structură glucido-lipido-proteică, derivată din membrana celulei gazdă. Lipidele provin din membrana celulară, iar glicoproteinele sunt de origine virală (ex.: hemaglutinina, neuraminidaza)

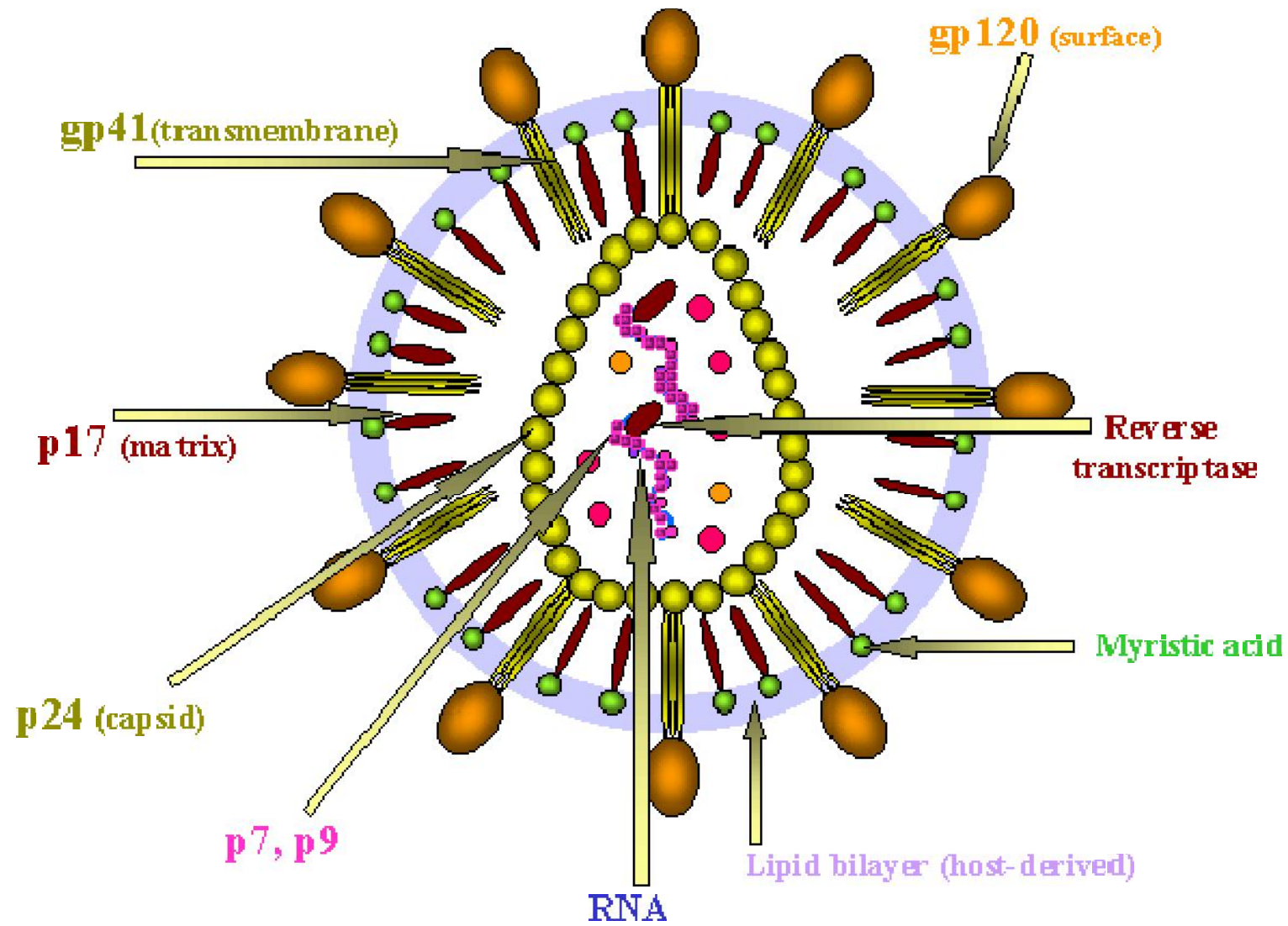
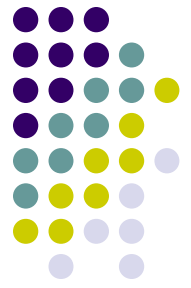
Funcție – protecție, antigene de suprafață, adeziune

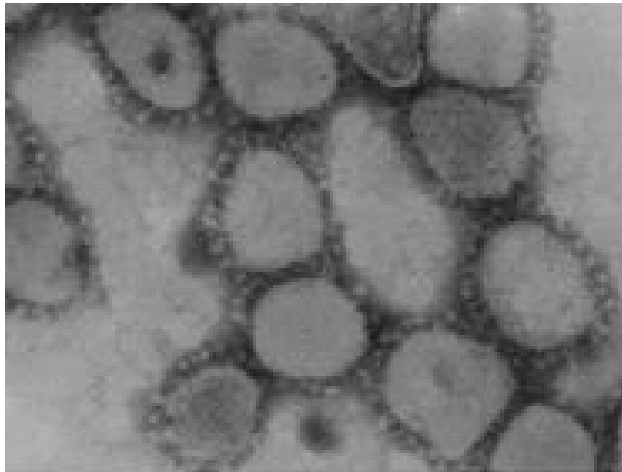
Unele virusuri conțin **enzime** – polimeraze, transcriptaze, etc.

Acțiunea factorilor fizici, chimici

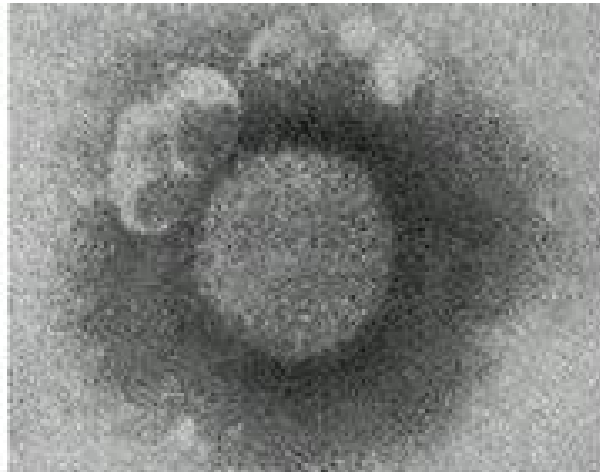
Virusurile sunt foarte sensibile la căldură, desicare, raze UV. Detergenții și solvenții inactivează virusurile cu supercapsidă.

Pot fi conservate prin liofilizare sau la -80°C

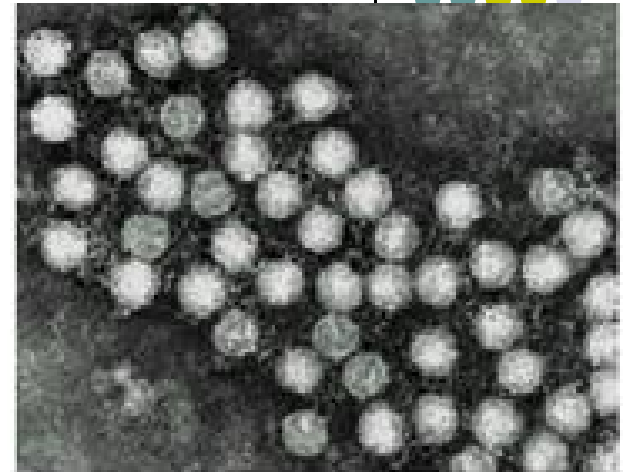




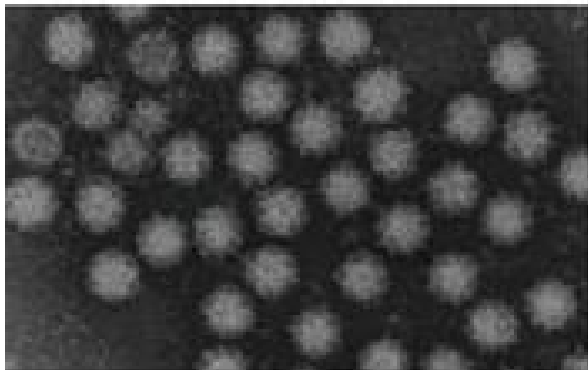
Coronaviridae (NS+)



Arenaviridae (S, ambi)



Picornaviridae (NS+)



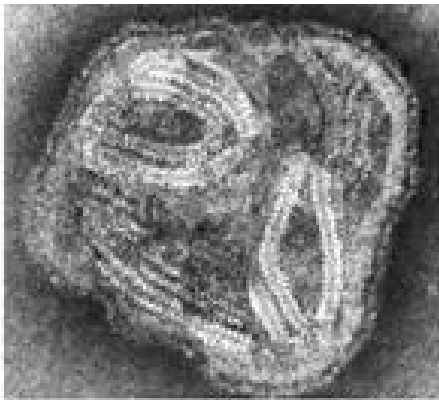
Calciviridae (NS+)

RNA viruses Positive strand (+)

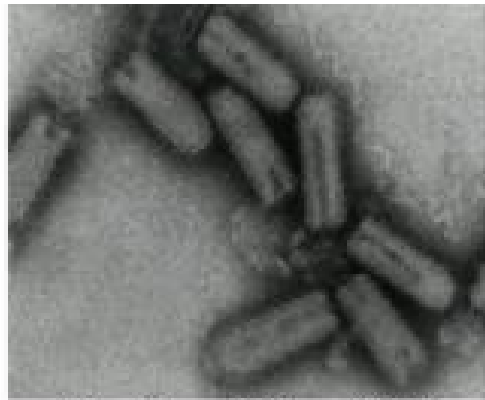
S=segmented NS=non-segmented

Ambi: part + and part -

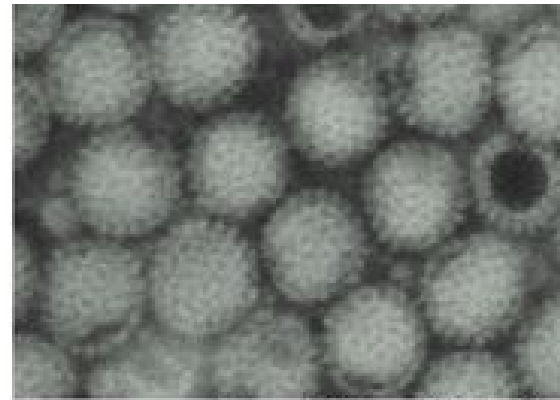
**—
100nm**



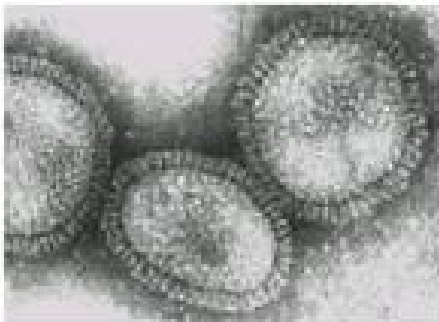
Paramyxoviridae (NS-)



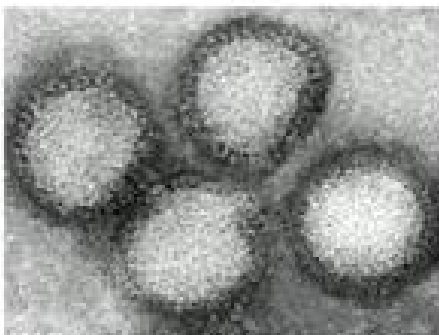
Rhabdoviridae (NS-)



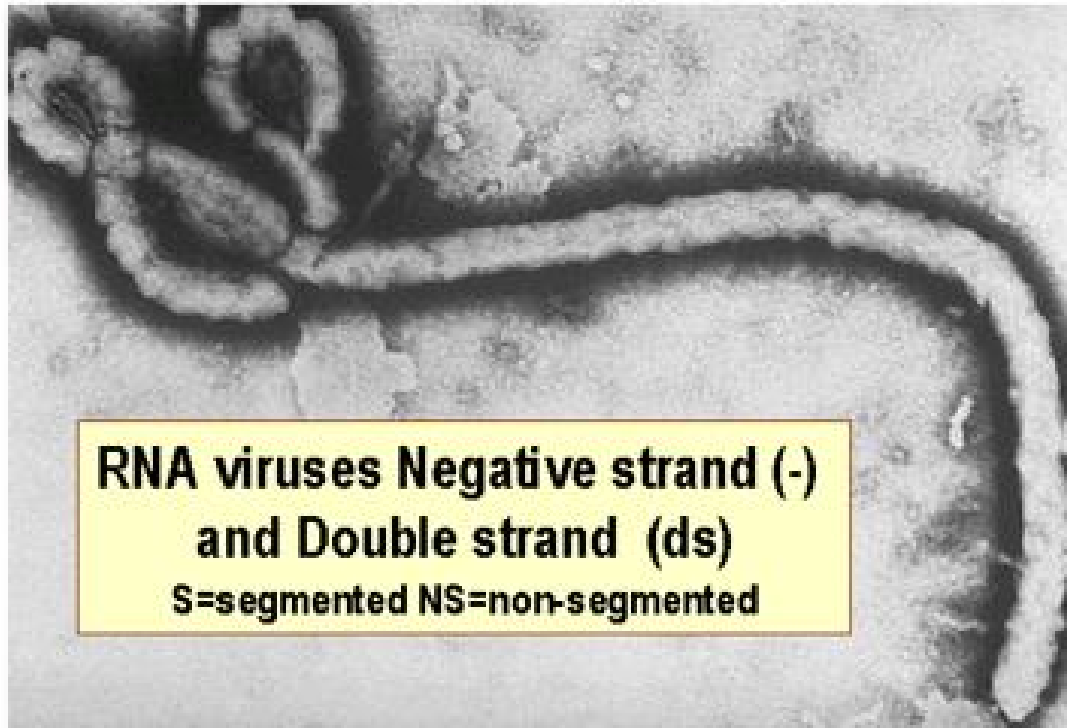
Reoviridae (S,ds)



Orthomyxoviridae (S-)



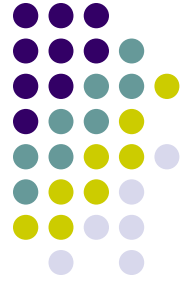
Bunyaviridae (S-)



100nm

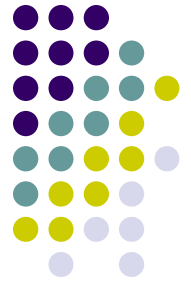
**RNA viruses Negative strand (-)
and Double strand (ds)
S=segmented NS=non-segmented**

Filoviridae (NS-)

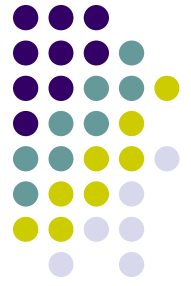


Proprietatile biologice ale bacteriofagului

- *Bacteriofagii* sunt virusuri ce infectează bacteriile. Este un microorganism (o unitate genetică) care nu are structură celulară, nu posedă metabolism propriu și este capabil să se reproducă doar în celula-gazdă.

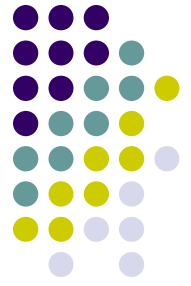


- Bacteriofagii sunt paraziti intracelulari obligatorii ale celulelor bacteriene. Toate bacteriile pot fi infectate de c tre bacteriofagi. In majoritatea cazurilor, un fag anume infecteaz doar celulele unui singur gen, unei anumite specii sau a unei tulpini (*specificitatea* fagului). Aceast specificitate de infectie este determinat de prezena receptorilor pentru acest fag la suprafata bacteriei-gazd .



STRUCTURA BACTERIOFAGULUI

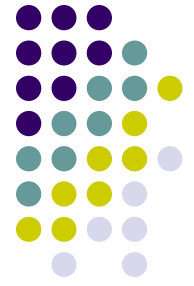
- Structura fagilor corespunde regulilor generale ce se referă la structura virusurilor.
 1. *Acid nucleic* (ADN sau ARN, mai frecvent dublucatenar, liniar sau circular).
 2. Inveli proteic numit *capsid*, cu rol de protecție a materialului genetic. Prin receptorii de la suprafață contribuie la infecția gazdei.
 3. Unii fagi pot conține și *enzime* (ex.: lizozim, endolizina).



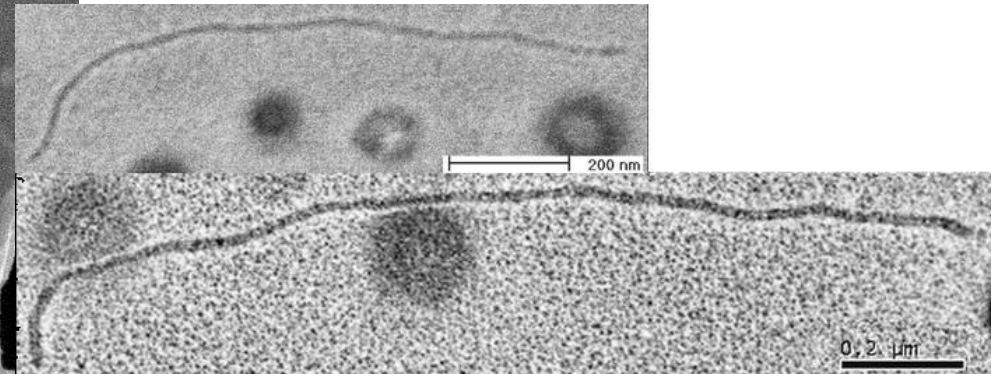
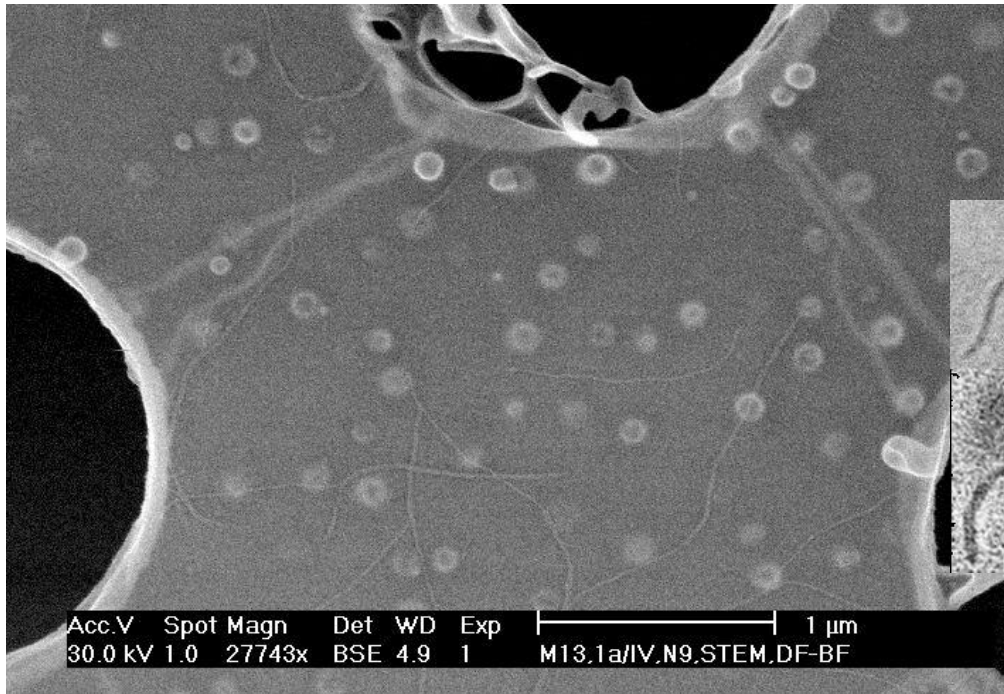
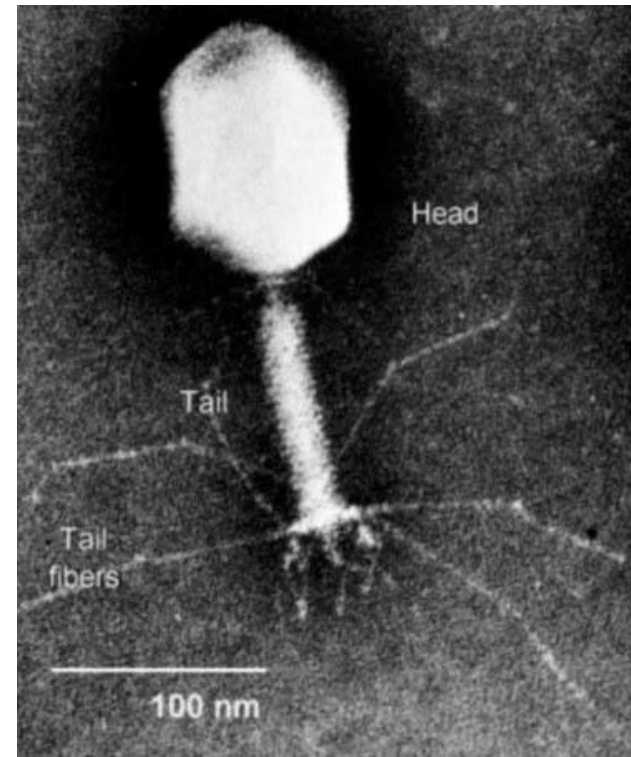
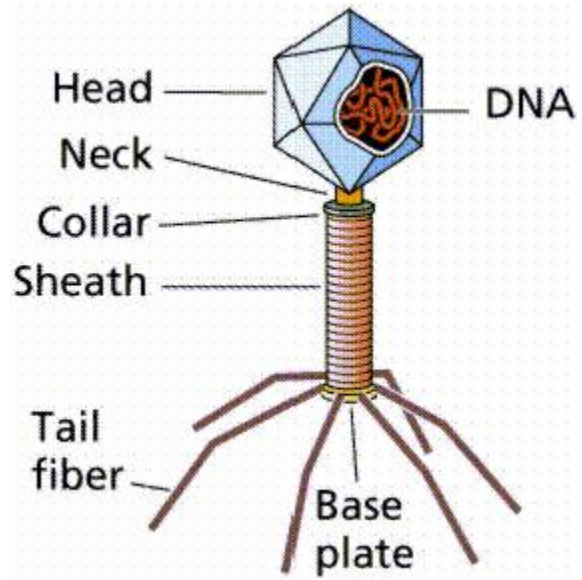
- **Capsida** este constituit din subunități proteice, *capsomere*, aranjate simetric în ordine distinctă, conferind forma fagului.

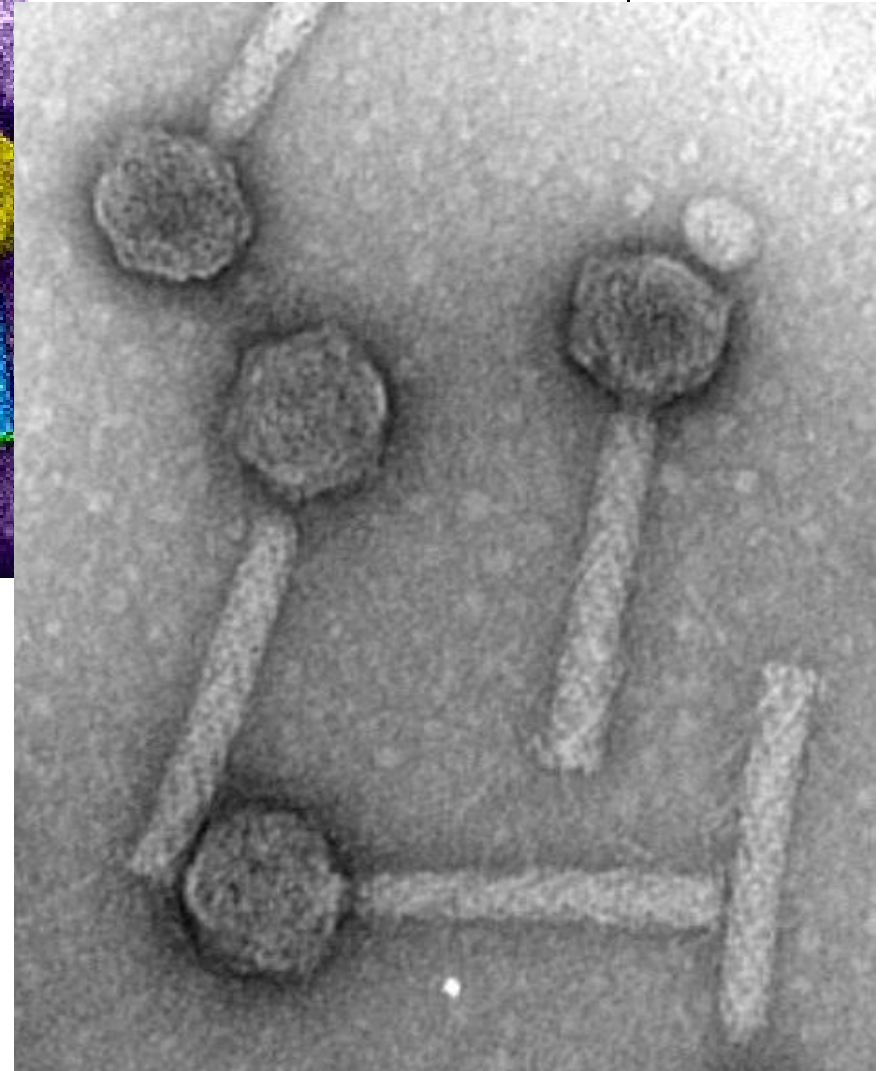
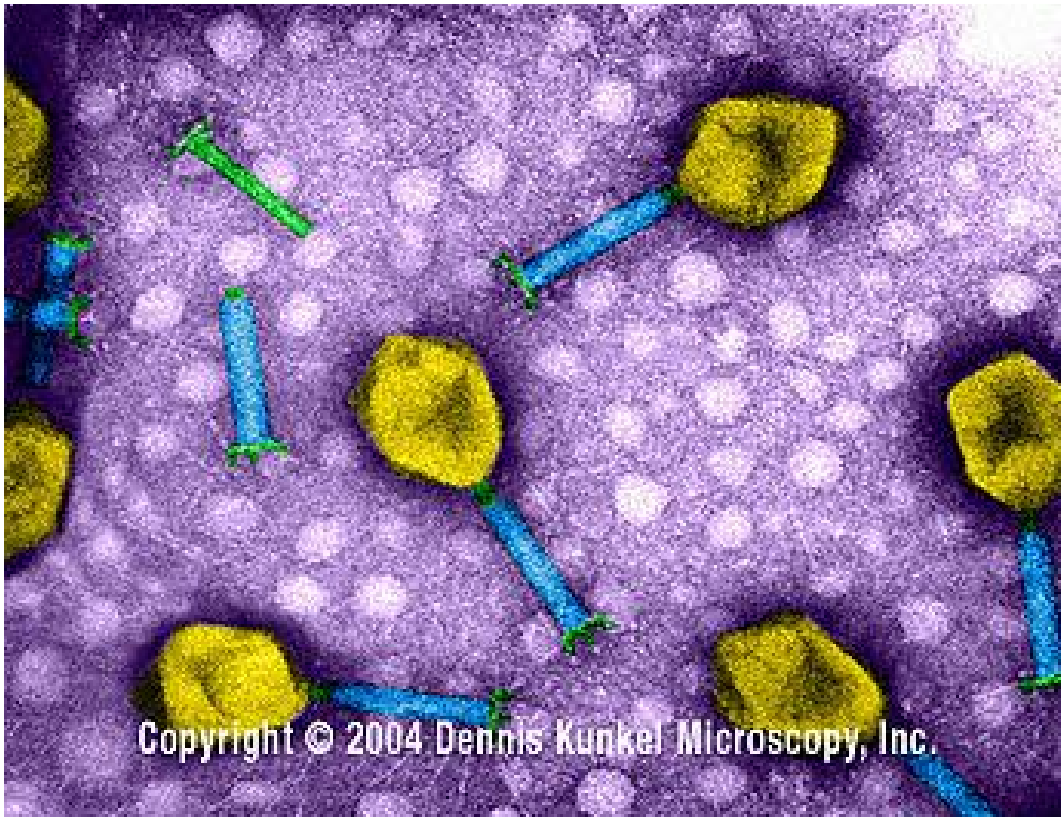
Există 3 forme morfologice principale de fagi:

- ***Fag icosaedric***: are formă sferică constituită din 20 fețe triunghiulare, 30 muchii și 12 vârfuri (*simetrie cubică* a capsidei).
- ***Fag cilindric***: reprezintă bastonașe proteice formate din capsomere, asamblate într-o structură tubulară (*simetrie helicoidală* a capsidei).



- **Fag complex:** constituit din *cap icosaedric* ata at la o *coad helicoidal* . Coada este format din doua tuburi concentrice : un tub intern rigid - *canalul axial*, inconjurat de *teaca cozii*, un man on contractil.
- *Gulerul* cozii (colul) se afl la jonc iunea capului cu coada.
- La partea distal a cozii se afl o plac hexagonal , *placa bazal* , la fiecare apex fiind ancorate câte un *cro et* i o *fibr* . Ele reprezent sistemul de fixare a fagului pe bacteria receptoare i contribuie la injec ia materialului genetic în celul .
- Nu to i fagii au o astfel de morfologie. Unii au coad lunga i non-contractila, al ii - coada scurt , sau far coad . Exist i fagi filamento i.

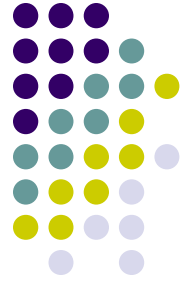




Interacțiunea dintre bacteriofagi și celula-gazdă

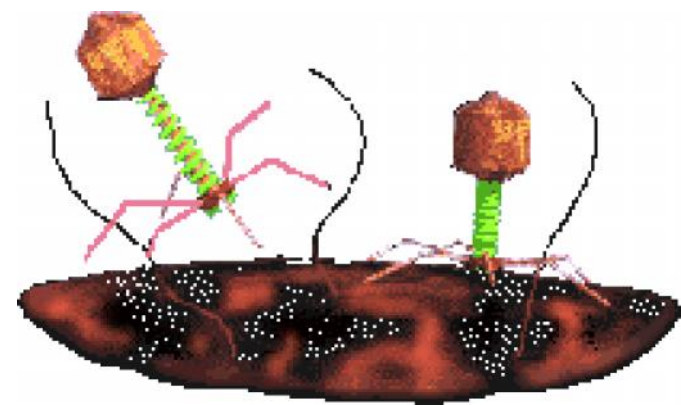
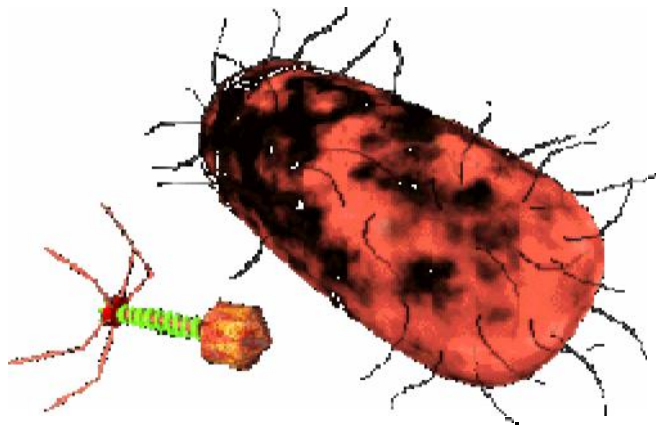


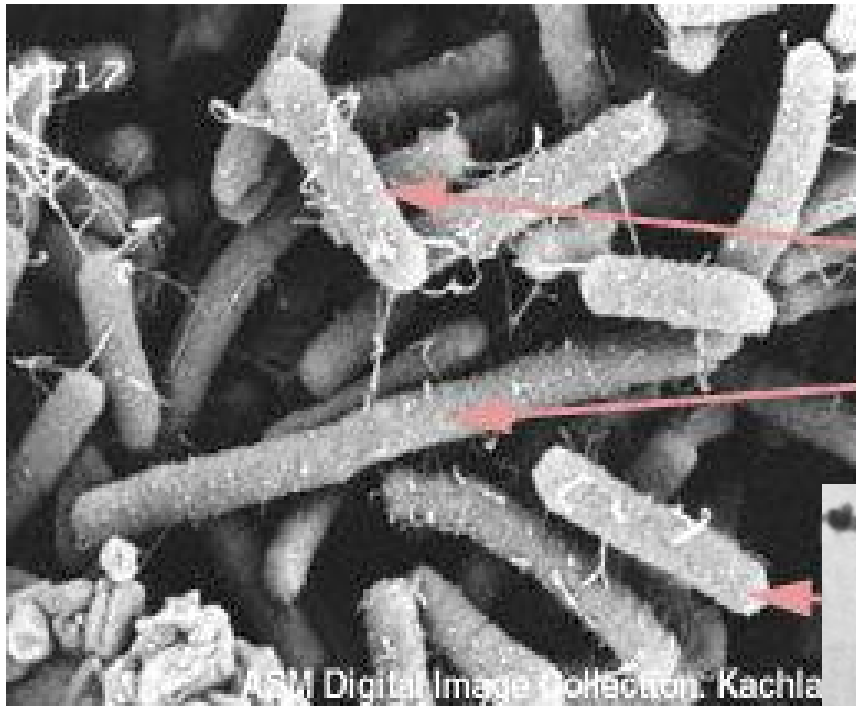
- Bacteriofagii există în stare de **virioni** extracelulari, iar la infectarea unei bacterii ei pot duce la două tipuri de infecții:
- *Infecție litică* : determinată de **fagii virulenți**. La finele ciclului de multiplicare bacteria infectată este lizată eliberând fagii nou-formați.
- *Infecție nelitică sau lizogenă* : determinată de **fagii temperați (moderați)**. Ei infectează bacteriile fără a le distruge.



INFECTIA LITIC (ciclul biologic al fagului virulent)

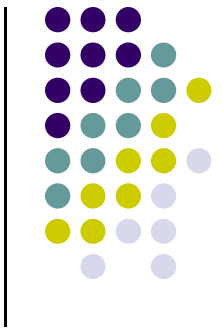
- **Adsorb ia.** Dupa o ciocnire intâmpl toare, fagul se fixeaz prin intermediul pl cii bazale (la inceput prin fibrele sale, apoi prin cro ete) de un receptor specific la nivelul peretelui celular bacterian (uneori pili).



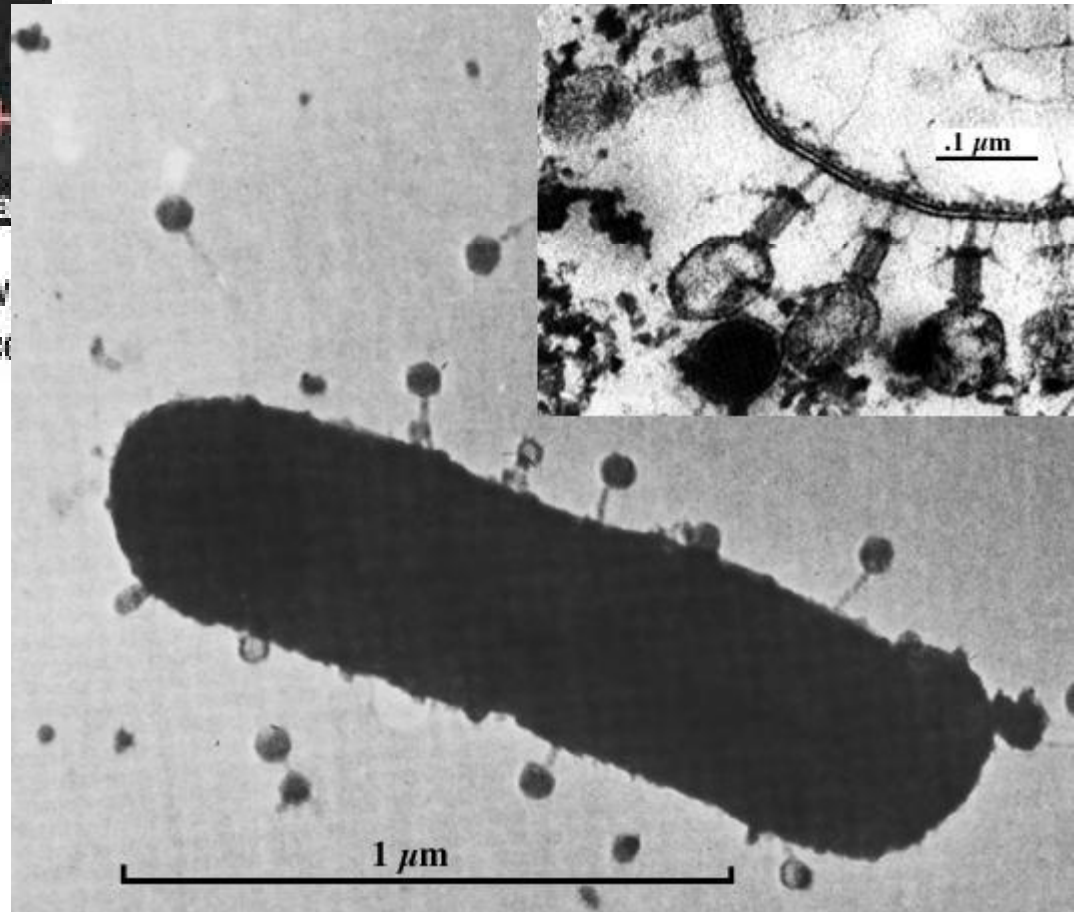


Unidentified Phage particles

Dividing *E. coli* cell

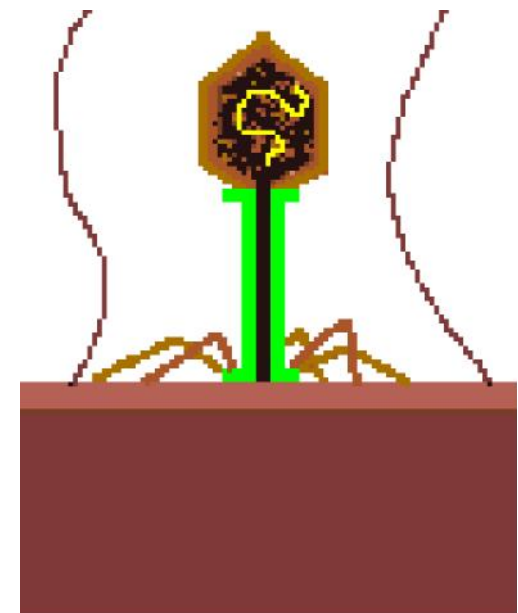


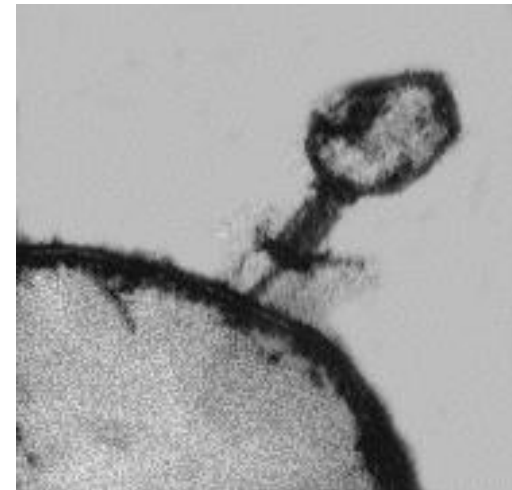
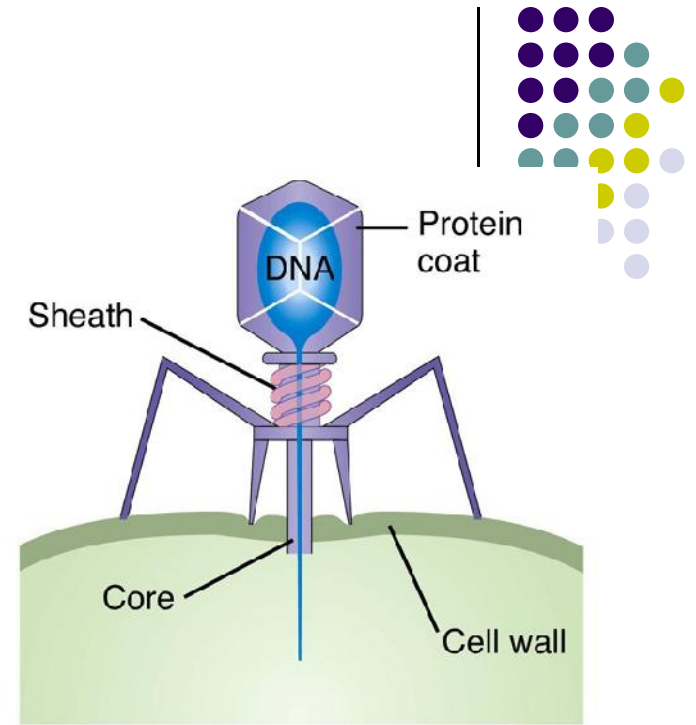
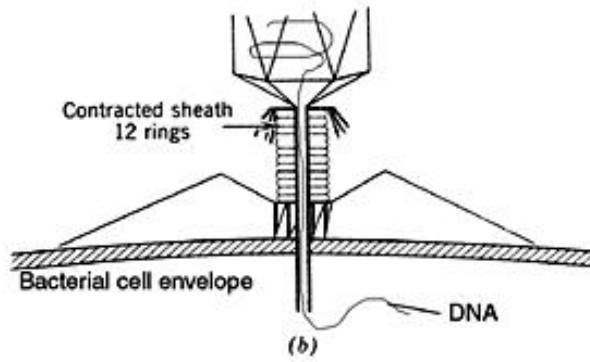
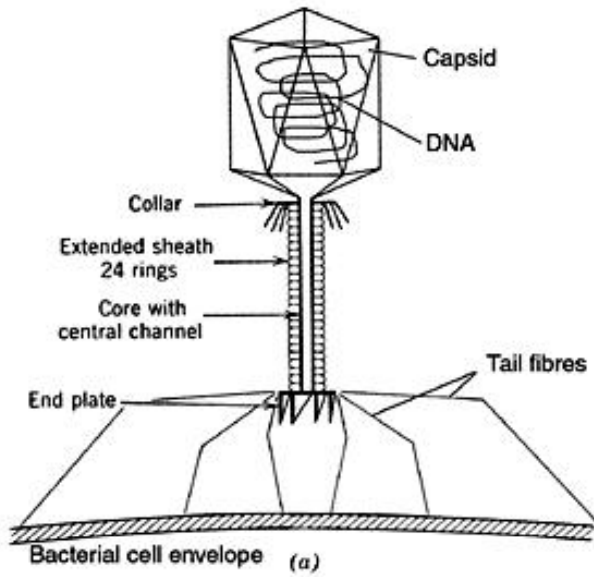
This scanning electron micrograph (SEM) show phage particles attached to the outside of the cell

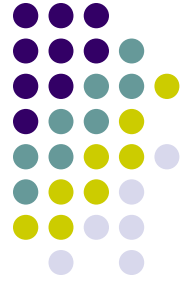




- **Penetrarea.** După fixarea ireversibilă a fagului pe peretele bacterian, în urma acțiunii unei enzime (ex. lizozim) care perforază peretele, are loc contracția membranoului care apropie capul de placa bazală, canalul axial penetrează membrana citoplasmică a bacteriei și ADN fagic este injectat în bacterie.



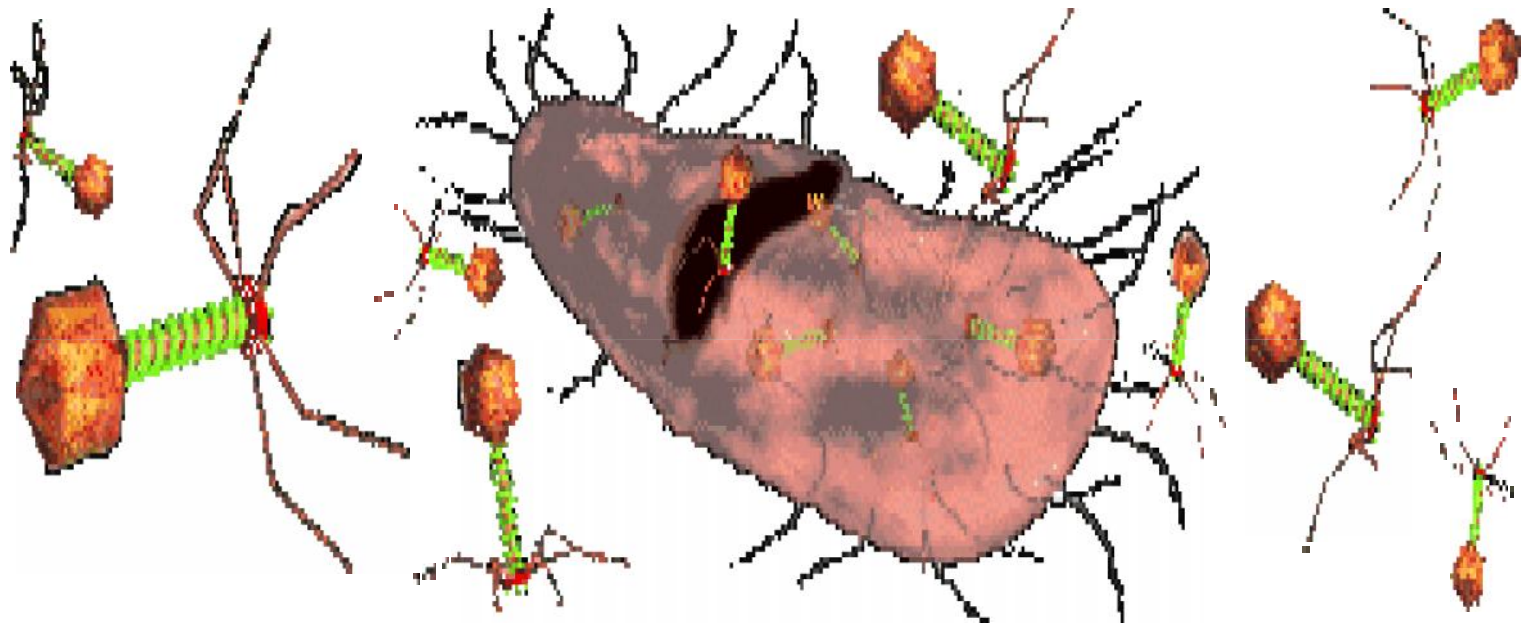


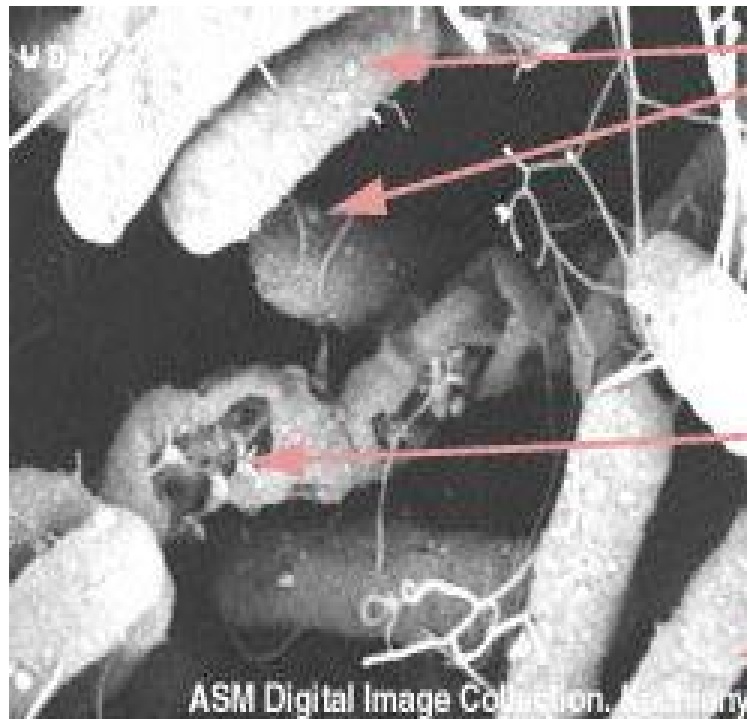


- **Expresia genomului viral (biosinteza componentelor fagice, maturizarea).** După penetrarea ADN viral în bacterie (**fag vegetativ**), timp de aproximativ 12 minute, virionul nu este depistat în bacteria infectată. Aceasta este *faza de eclipsă*. Ea coincide cu sinteza enzimelor virale care vor asigura ulterior:
 - replicarea ADN fagic;
 - sinteza proteinelor fagice;
 - asamblarea acestor elemente.



- **Asamblarea fagilor.** Odată ce compușii capsidiei și acizii nucleici se sintetizează în cantități suficiente, are loc asamblarea spontană a particulelor noi de fagi, prin incorporarea acidului nucleic în capsidă.
- **Eliberarea.** Majoritatea fagilor, după maturizare, sunt eliberați în urma lizei peretelui bacterian cu enzime ale bacteriofagului (endolizina)
- Timpul dintre infecție și eliberare (*ciclul de reproducere*) este de 20-60 minute la 37°C, fagii sunt eliberați în valuri de 50-1000 fagi per celulă.



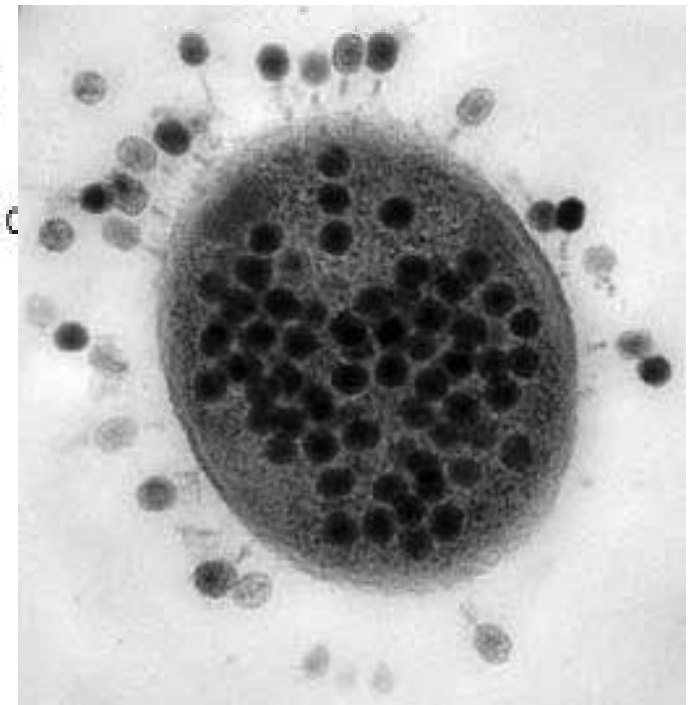


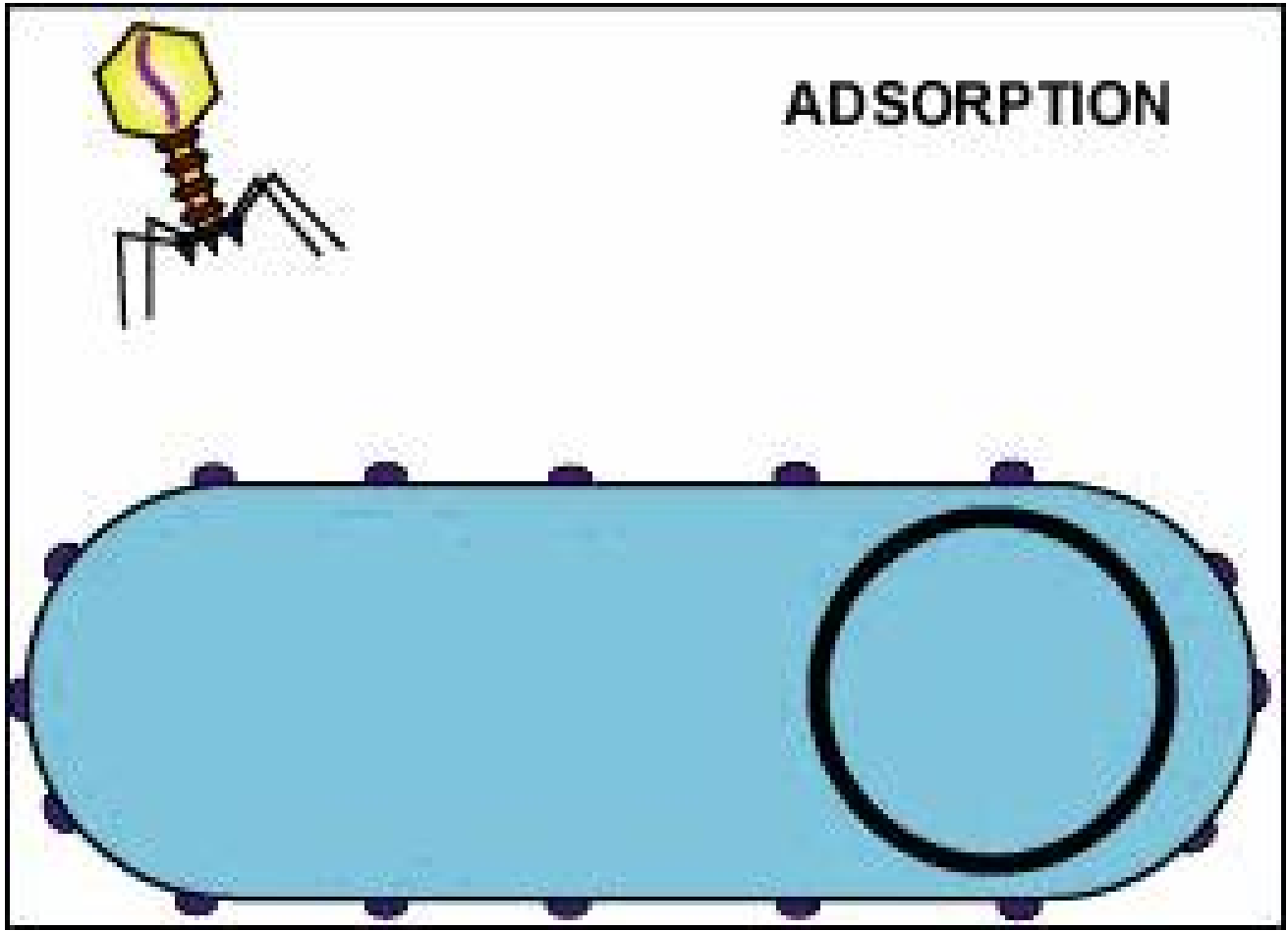
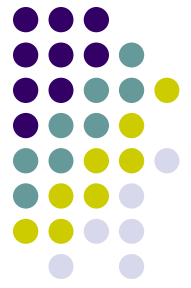
Unidentified phage particles

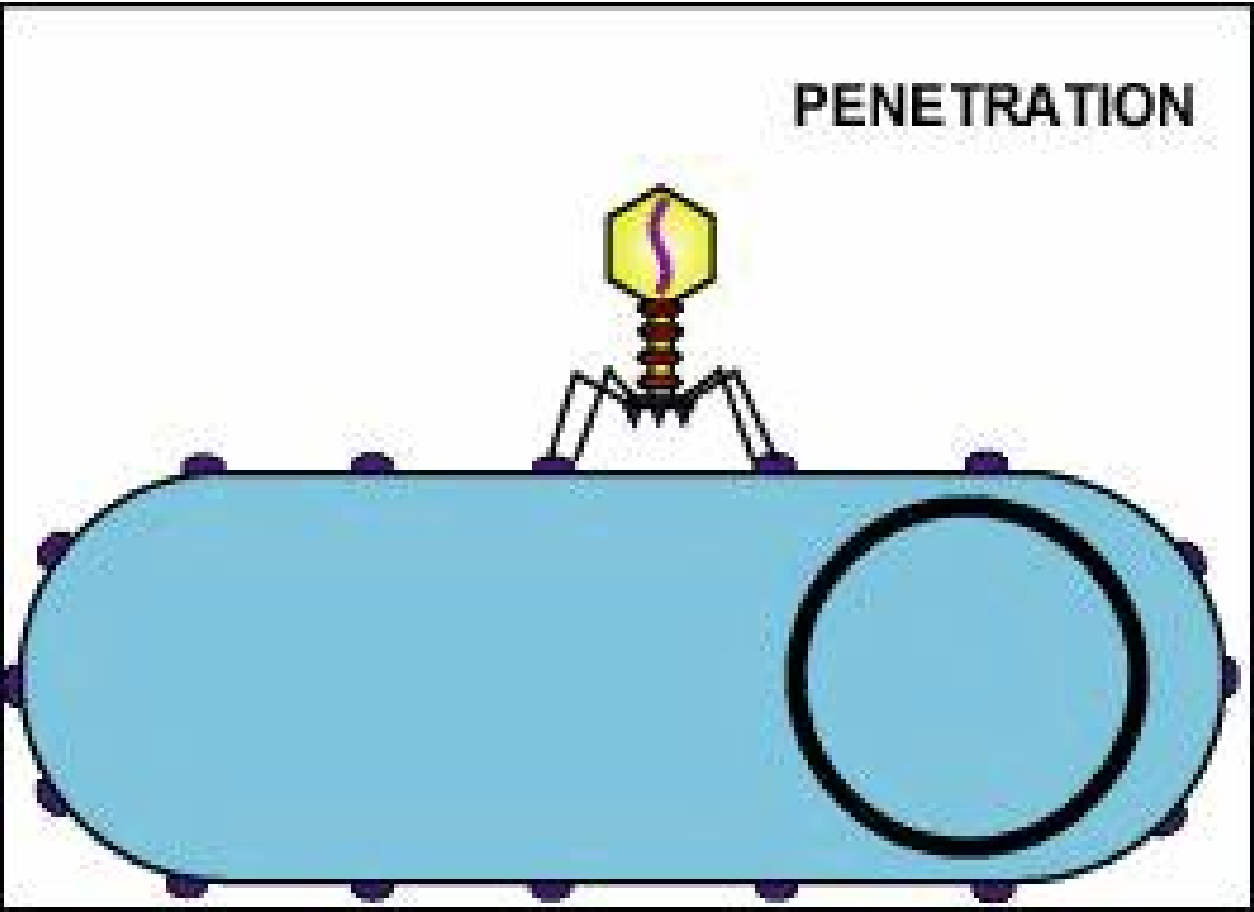
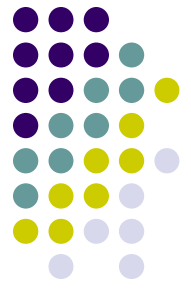
E. coli cell with disrupted cell envelope, presumably due to phage release.

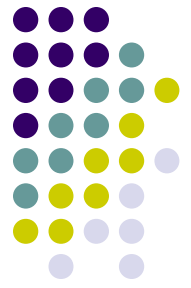
Unrupted *E. coli* cell

This scanning electron micrograph (SEM) shows *Escherichia coli* cells with disrupted cell envelopes, presumably due to phage release.

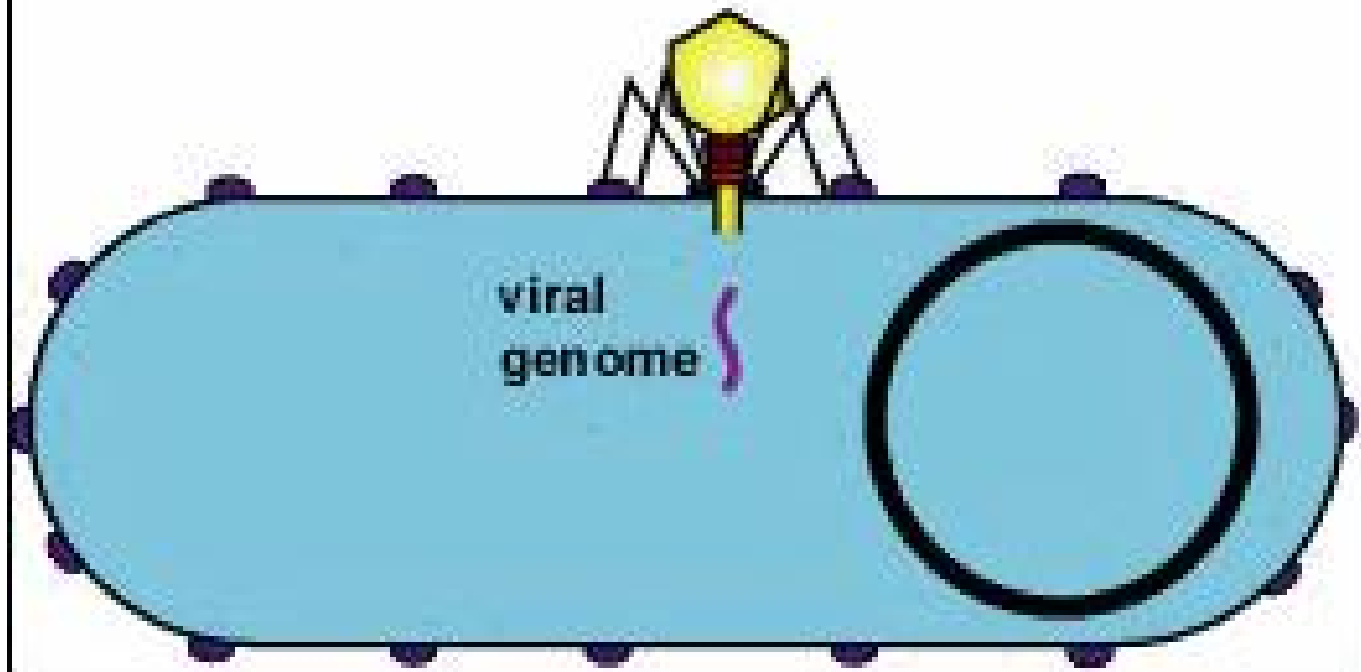


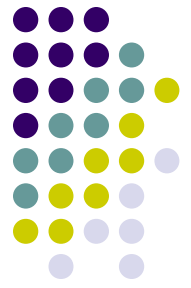




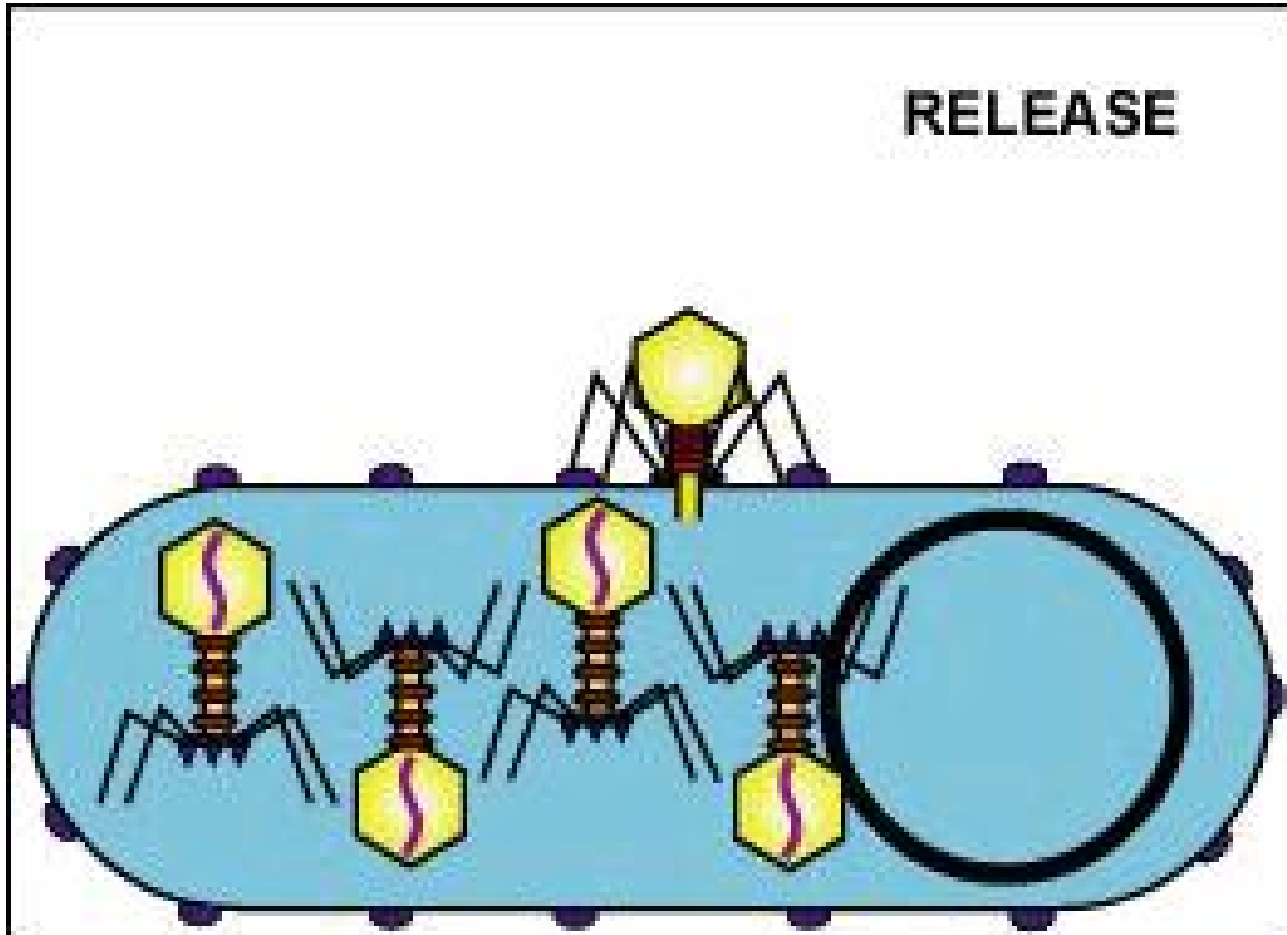


REPLICATION AND MATURATION

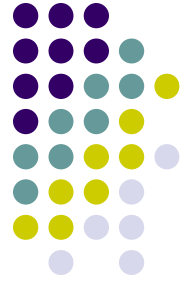




RELEASE

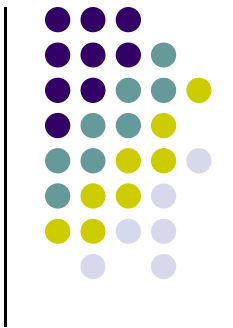
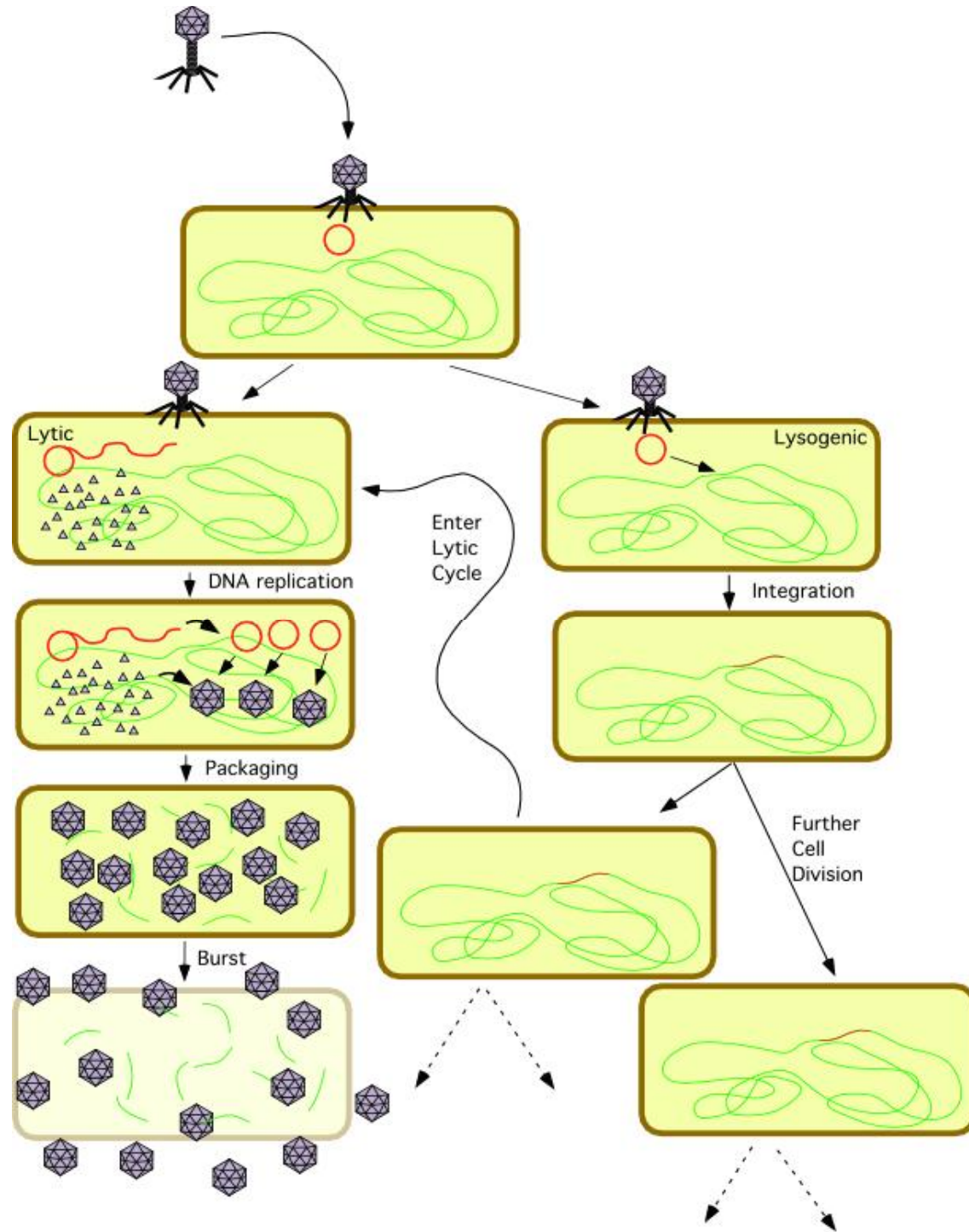


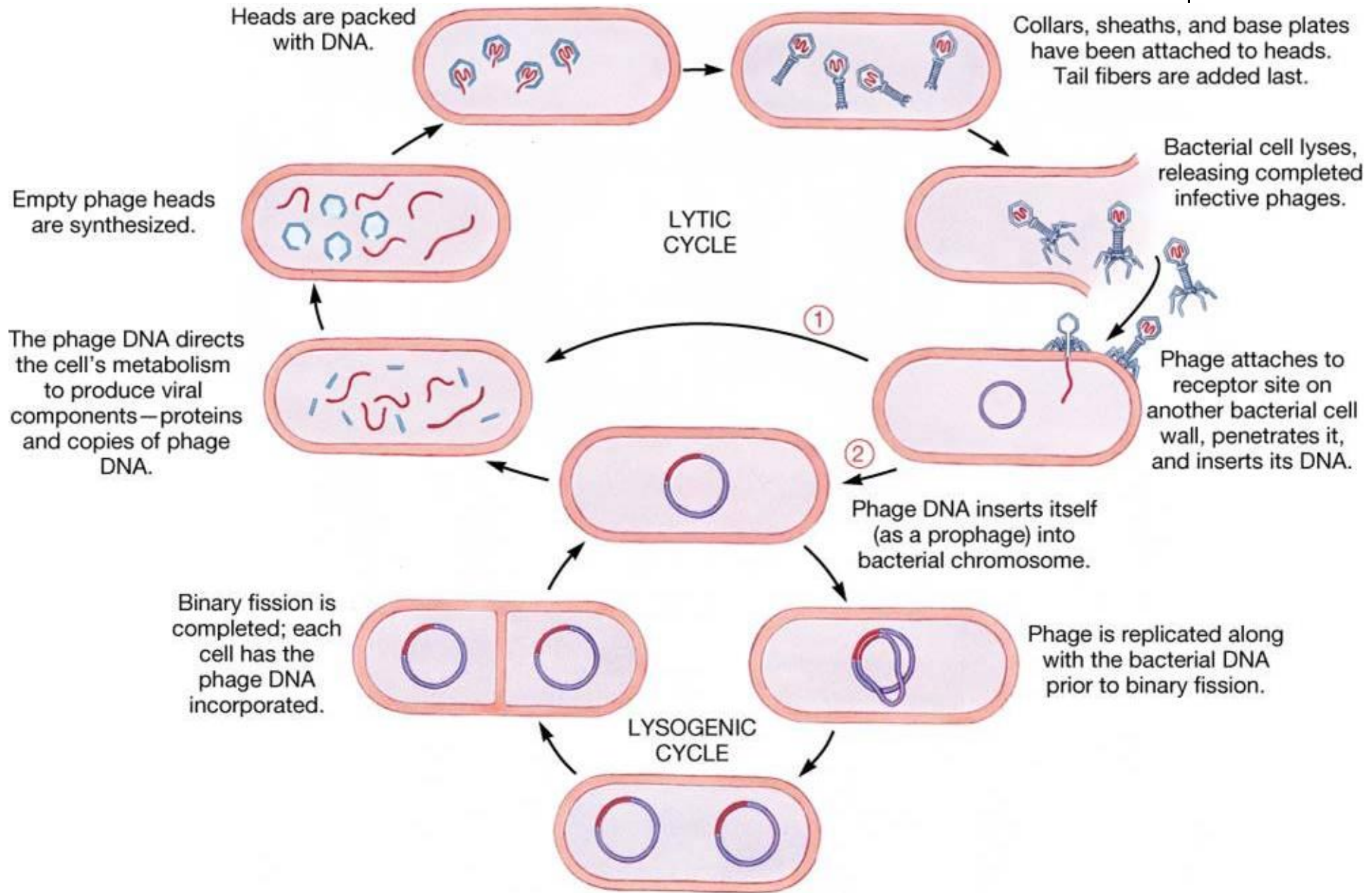
INFECTIA NON LITIC SAU LIZOGEN : FAGII TEMPERATI



- **Fagii temperati (moderati)** atunci când infectează o bacterie pot:
 - sau induce un ciclu complet de multiplicare, ce duce la *liza bacteriei*,
 - sau, mai frecvent, după injectarea ADN-ului, să integreze acest ADN în cromozomul bacterian prin recombinație specifică (lizogenizare), formând un **profag**
 - sau să rămână în citoplasm sub formă de *plasmid* .

În ultimele două cazuri bacteria nu moare și, multiplicându-se, replică genomul viral concomitent cu propriul său genom: bacteria (cultura) este numită *lizogen* . Ea posedă și transmite descendenților capacitatea de a produce fagi în absența infecției.

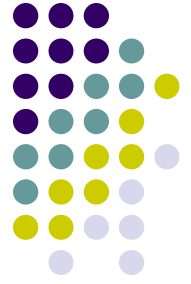




Proprietățile culturilor lizogene



1. ***Inducia ciclului litic.*** Profagul prezintă o stare de virulență potențială. Menținerea stării de lizogenie implică sinteza unui represor proteic, codificat de fag. Dispariția lui duce la *inducia ciclului litic*. Inducia se poate declanșa spontan la un număr limitat de celule sau poate fi provocată la majoritatea celulelor, de ex., la acțiunea unor mutageni, ca razele ultraviolete sau mitomicina C.

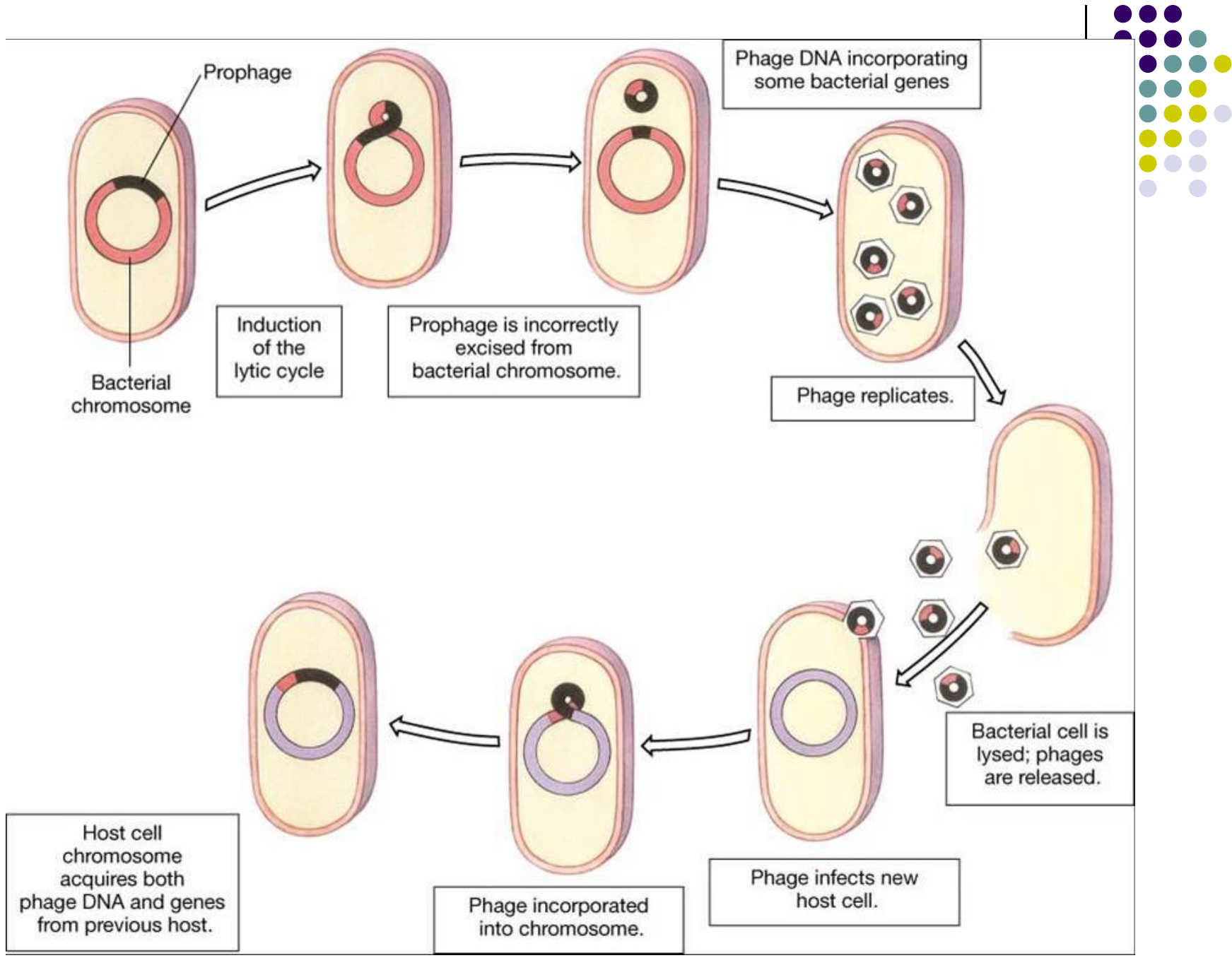


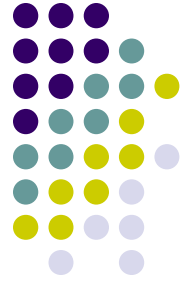
Ca urmare, când sistemul SOS este activat, proteina **RecA** scindează represorul proteic al fagului, permiând expresia ciclului litic. Pentru aceasta profagul trebuie să fie *excizat* - operație invers integrării. Excizia este efectuată de către proteina **xis**, codificată de fag. Urmează replicarea genomului, sinteza componentelor fagului și fagii asamblați sunt eliberați prin liza celulei (profagul - gen potențial letal!).



În timpul replicării fagului moderat fragmente de ADN bacterian pot fi introduse din eroare în particulele virale. Acești fagi pot în continuare introduce în cromosomul altor bacterii ADN bacterian capturat – proces de transfer genetic numit *transducie*.

Natura genelor bacteriene transferate poate fi diferită : gene din apropierea locului de inserție a fagului (*transducie specifică*) sau fragmente de ADN bacterian introduse din întâmplare în capsida fagului (*transducie generalizată*)

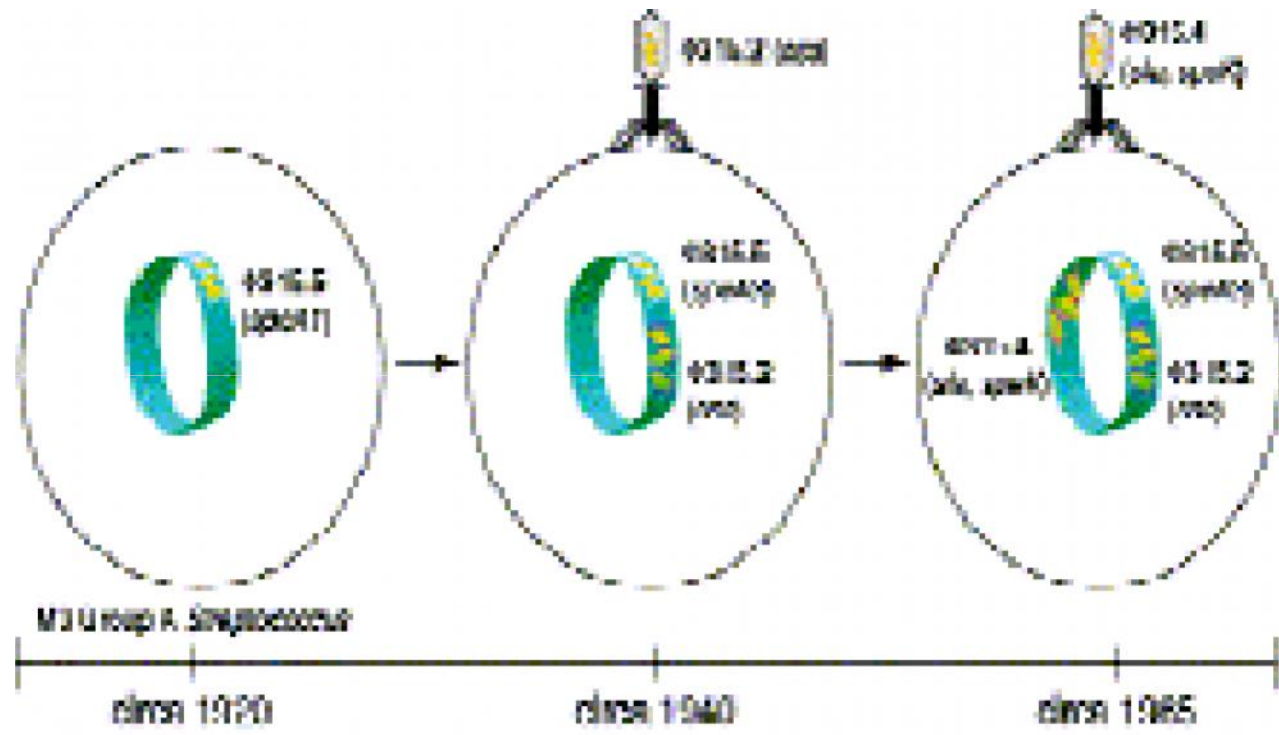
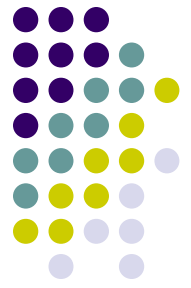




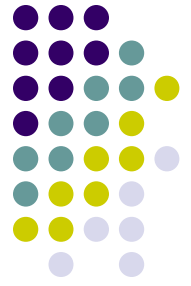
2. **Imunitate contra suprainfectiei.** Bacteriile lizogene sunt *imune la fagul virulent omolog profagului g zduit*. Acest fag se adsoarbe, injecteaza ADNul, dar f r a se replica sau provoca liza.

3. **Conversie fagic** (modificarea fenotipului celulei cauzat de genele profagului).

Bacteriile infectate cu un fag pot prezenta unele caractere absente la celulele neinfectate. Aceast *conversie fagic* poate fi cauzat de expresia unor gene ale fagului de c tre celule, sau de inactivarea unor gene cromozomale la integrarea profagului. De ex., tulpinile de *Corynebacterium diphtheriae* care provoac difteria sunt lizogenizate de un anumit tip de fagi care codeaza i exprim o toxin puternic ; toxina eritrogen a *Streptococcus pyogenes* , etc



APLICAREA PRACTICĂ A FAGILOR



În domeniul *terapeutic*

- Tratatamentul și profilaxia bolilor infecțioase

În domeniul *diagnostic*

- *Fago-identificarea* – identificarea tulpinilor bacteriene necunoscute cu ajutorul fagilor omologi (metoda Otto, Furt, etc)



- *Lizotipizarea* (fagotipajul). Permite diferențierea unor tulpini din cadrul aceleiași specii (subdivizarea speciei în lizotipuri/fagovaruri).

Este utilizat pentru tulpini de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhi*, .a.

Lizotipul reprezintă un marker epidemiologic.

Fagii reprezintă un model de studiu pentru geneticieni, fagii temperați se utilizează în ingineria genetică (ei pot asigura transferul de material genetic prin transducție).

