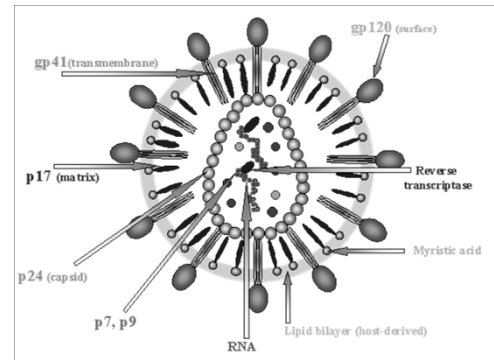


VIRUSUL IMUNODEFICIENȚEI UMANE (HIV)

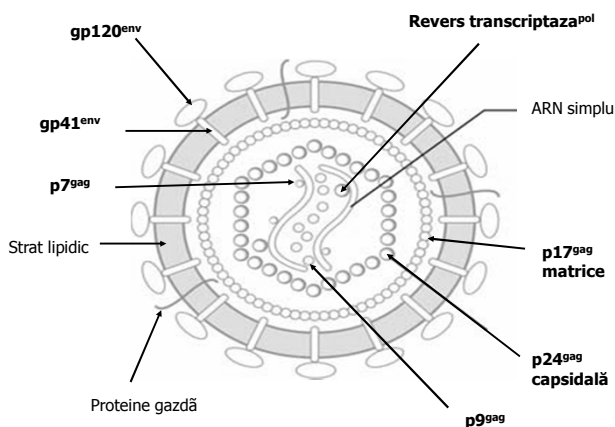
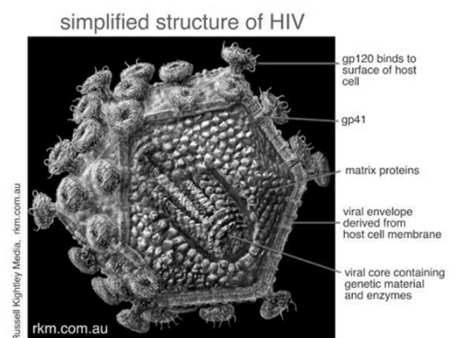
- Face parte din
 - familia Retroviridae, subfamilia Lentivirinae



STRUCTURA HIV

- virus ARN
- formă sferică
- diametrul 100 – 130 nm
- alcătuit din
 - nucleoid cilindric situat excentric
 - și o anvelopă

STRUCTURA HIV



Anvelopa virusului HIV

- formată din
 - membrană lipidică derivată din membrana celulei gazdă și
 - din proteine virus specifice
 - glicoproteina 41 (transmembranară)
 - traversează membrana bilipidică ancorând la exterior gp 120;
 - are rol în fuziunea anvelopei virale cu membranele celulelor gazdă
 - glicoproteina 120 (de suprafață)
 - plasată deasupra stratului bilipidic;
 - are rol în recunoașterea receptorilor celulari specifici de care se leagă.

Anvelopa virusului HIV

- anvelopa - căptușită spre interiorul particulei virale de o foiță proteică subțire = matricea virală
 - rol de factor stabilizant al particulei virale
 - formată din proteina virală p17
- Principala caracteristică :
 - marea variabilitate a anvelopei virale
 - se datorează unor mutații în urma cărora virusul
 - dobândește noi caractere de patogenitate
 - se poate sustrage sistemului imun (acțiunii anticorpilor neutralizanți).

Nucleoidul HIV

- conține
 - 2 filamente de ARN viral monocatenar
 - o serie de enzime necesare replicării virale:
 - p66 ▪ reverstranscriptaza (RTS) – catalizează în sens *retro* copierea informației genetice în cursul replicării virale;
 - p32 ▪ endonucleaza – asigură integrarea ADN-ului proviral în ADN-ul celulei gazdă;
 - p11 ▪ proteaza – scindează precursorii polipetidici ai genei *pol*/formându-se proteinele enzimatice mature (RTS, endonucleaza)

Genomul viral

- cuprinde 9.193 de nucleotide fiind alcătuit din 3 grupe de gene:
 - a. gene structurale
 - b. gene reglatoare
 - c. gene de maturare

genele structurale

- **Gena *gag* (genom-associated gene)**
 - Codifică proteinele care formează miezul sau nucleul virusului:
 - p 17 – proteina matricei
 - p 24 – proteina capsidă
 - p 7 – proteina nucleocapsidei
- **Gena *pol* (polymerase)**
 - Codifică:
 - p 66 – RTS
 - p 11 – proteaza
 - p 32 – integraza (endonucleaza)
- **Gena *env* (envelope)**
 - Codifică glicoproteinele care alcătuiesc învelișul virionului:
 - Gp 160 – glicoproteina precursor care prin scindare dă naștere la:
 - **gp 120 (de suprafață)**
 - **gp 41 (transmembranară)**

genele reglatoare

- **gena *rev***
 - reglarea expresiei virale – activatoare a producției de virus
- **gena *nef***
 - reglatoare negativă a producției de virus;
 - pare să aibă acțiune de supresie asupra replicării virusului fiind responsabilă de stadiul de integrare provirală latentă în nucleul celulei gazdă
- **gena *tat* – transactivatoare**
 - implicată în relația cu factorii de transcriere celulari

genele de maturare

- Neesențiale *in vitro* în culturile de celule
- Esențiale pentru patogenitate *in vivo*
 - **gena *vif***
 - promovează infectivitatea virionilor
 - **gena *vpu***
 - crește proporția particulelor virale extracelulare
 - **gena *vpr/vpx***
 - genă accesorie cu activitate neprecizată

CICLUL REPLICATIV AL HIV

- ATAȘARE
- FUZIUNE
- PĂTRUNDERE
- REVERSTRANSCRIERE
- INTEGRARE ÎN NUCLEUL CELULEI
- TRANSCRIPTIJA
- TRANSLAȚIA
- ASAMBLARE
- ÎNMUGURIRE

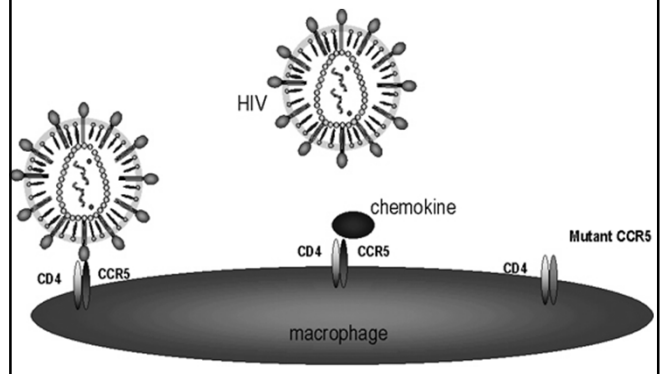
ATAȘARE HIV

- de membrana celulelor țintă care poartă pe suprafața lor :
 - Receptor CD4
 - Receptori alternativi:
 - galactozilceramid pt. oligodendrocite, astrocite
 - Coreceptori moleculari:
 - CXCR4 pt. limfocite;
 - CCR5 pt. macrofage

ATAȘARE HIV

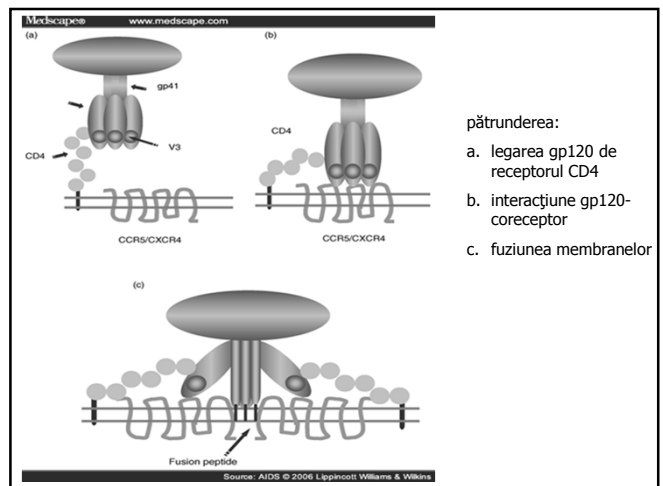
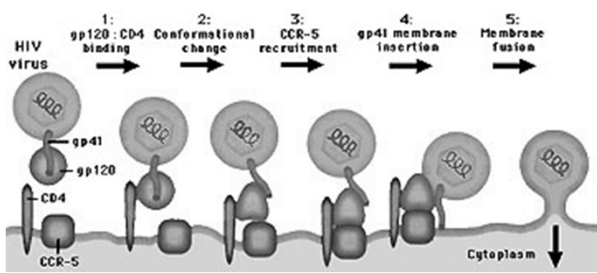
- Celulele țintă sunt:
 - limfocitul T
 - limfocitul B
 - monocitul
 - macrofagul
 - astrocitul
 - oligodendrocitul
 - fibroblastul din piele etc.
- Rol în recunoașterea receptorilor specifici și fixarea virusului de aceștia - gp 120.

ATAȘARE HIV



FUZIUNEA

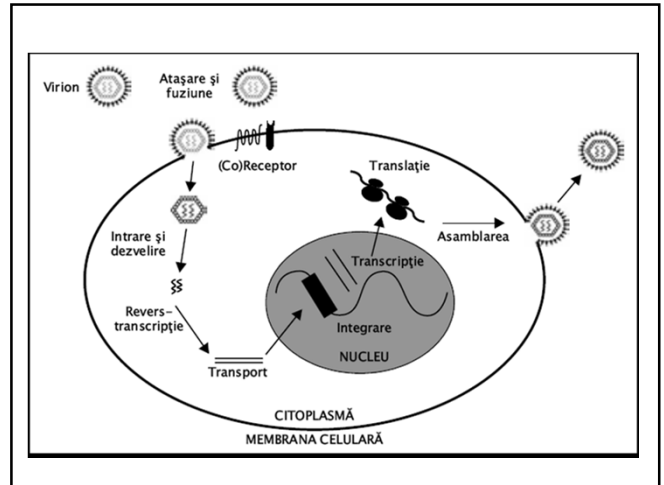
- anvelopei virale cu membrana celulară
 - rol important gp 41



- pătrunderea:
- a. legarea gp120 de receptorul CD4
 - b. interacțiune gp120-coreceptor
 - c. fuziunea membranelor

PĂTRUNDEREA virusului în celulă

- virusul își pierde învelișul;
- are loc conversia ARN-ului viral în ADN proviral bicatenar prin reverstranscriere catalizată de RTS
- ADN-ul proviral bicatenar este translocat în nucleul celulei gazdă, transformat în ADN circular și inserat în genomul acesteia prin integrază



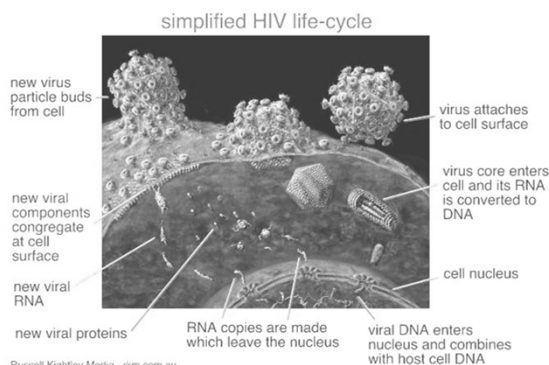
- integrarea copiei ADN a genomului viral în genomul celulei gazdă → infecție latentă sau persistentă
- în această etapă nu se sintetizează proteine virus specifice → sistemul imun nu se mobilizează!!
- Principala cale de diseminare a virusului în această etapă este
 - transmiterea celulară, prin fuziunea membranei celulei infectate cu membrana celulei neinfectate
 - în cursul replicării celulare de la celula mamă la celula fiică

ACTIVAREA virusului latent

- sub acțiunea unor factori insuficient cunoscuți
 - Prin transcripție ADN-ul proviral este transformat în ARN mesager și prin translație în glicoproteine - proteine ale anvelopei și în enzime.
 - Genomul viral este împachetat într-o „particulă infecțioasă”, este deplasat spre membrana celulei gazdă;

ELIBERAREA

- noilor particule virale prin **INMUGURIRE**



DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL INFECȚIEI HIV

DIAGNOSTIC SEROLOGIC

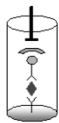
- investigații de triaj
 - imuno-enzimatic ELISA
- de confirmare
 - imunoamprente
 - radioimunoprecipitare
 - imunofluorescență
- de diferențiere (HIV 1/2)
- tehnici rapide de diagnostic

Metode imunoenzimatic ELISA

- **enzyme-linked immunosorbent assay**
- Permite detectarea anticorpilor.
- Este posibilă determinare cantitativă
- La reacții participă:
 - un reactant imunologic atașat de un suport solid (peretele unui recipient)
 - un reactant imunologic marcat enzimatic - peroxidaza
 - substrat specific (cromogenic)
 - substanțe pentru stoparea reacției
- Reacțiile au loc în aparate automate, semiautomate.

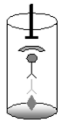
Metode imunoenzimatic ELISA

Detectarea antigenelor



- Y anticorpi specifici
- anticorpi marcați enzimatic
- ◆ antigen?
- substrat cromogen

Detectarea anticorpilor



- ⊥ stoparea reacției
- anticorp antioglobulinic marcat
- Y anticorp?
- ◆ antigen cunoscut

Metode imunoenzimatic ELISA

- până la 5% rezultate false, prin erori tehnice.
- ELISA pozitivă trebuie confirmată prin
 - folosirea altor teste ELISA bazate pe alte principii
 - test de confirmare tip Western Blot (WB).
- Testele fals pozitive:
 - boli de colagen,
 - hepatite cronice,
 - malarie
 - persoane cu anumite fenotipuri HLA.

Testul Western Blot

- permite identificarea individuală a anticorpilor anti-HIV specifici antigenelor virale.
- Antigenele sunt separate prin electroforeză și transferate pe membrane de nitroceluloză care se incubează cu serul pacientului.
- Anticorpii din ser leagă specific proteinele virale și sunt identificați prin comparare cu controale standard.
- o probă este pozitivă dacă prezintă benzi pozitive pentru cel puțin două din cele trei antigene majore *gag, pol, env*.

Testul Western Blot

- Criteriile CDC de interpretare:
- cel puțin 2 din următoarele benzi:
 - p24, gp41 sau gp160/120 pentru un test pozitiv
 - nici una pentru un test negativ
 - prezența oricărei alteia pentru un rezultat indeterminat

TESTELE RAPIDE

- conțin suspensii microscopice de particule (latex, gelatină, hematii tanate) cuplate cu antigen viral.
- Anticorpul din serul testat aglutinează aceste particule care formează un depozit vizibil cu ochiul liber sau la microscop după numai 5 minute.
- utile în zone endemice, dacă este necesară rapiditatea în orientarea diagnosticului serologic
- nu necesită echipamente speciale

METODE DIRECTE

- Replicarea virală demonstrată prin:
 - evidențierea și dozarea antigenului p24,
 - detectarea unor secvențe genomice prin amplificare genică
 - izolarea virusului.
- Aceste tehnici evidențiază infecția în timpul „ferestrei imunologice” (seroconversiei).

METODE DIRECTE Ag p24

- determinarea cantității de antigen p24 liber din plasmă sau supernatantul din culturi celulare.
- Antigenemia p24 are valori mai mari inițial și apoi mai mici, tardiv în timpul infecției cu HIV
- tehnică ELISA de tip sandwich,
 - anticorpii anti-p24 se găsesc în godeuri
 - se incubează cu serul sau plasma pacientului
 - antigenul liber se leagă specific
 - este măsurată intensitatea culorii.

METODE DIRECTE Ag p24

- O caracteristică a infecției cu HIV
 - coexistența antigenului p24 cu anticorpii anti-p24 pe tot parcursul bolii, în concentrații diferite.
 - Creșterea antigenului p24 la valori detectabile în faza de seroconversie sau în faze terminale limitează utilizarea acestui test doar pentru aceste perioade.

Reacția de polimerizare în lanț (PCR)

- Tehnica constă în amplificarea ADN existent în cantități foarte mici printr-o serie de cicluri replicative.
- oferă informații despre încărcătura virală. Cuantificarea acesteia este utilă în:
- diagnosticul infecției, îndeosebi la nou-născuții din mame seropozitive
- urmărirea evoluției bolii
- evaluarea eficacității diverselor tratamente antiretrovirale.

EPIDEMIOLOGIA INFECȚIEI HIV

SURSA DE INFECȚIE

- persoane infectate HIV
- pacienți cu SIDA
- Aceștia elimină virusul prin sânge, spermă, secreție vaginală.
- Mai este infecțios: Icr, lichid amniotic
- Cantitate foarte mică de virus este prezentă în fecale, salivă, lacrimi, urină, lapte matern

TRANSMITERE

- **contact sexual**
 - homosexual (SUA, Europa)
 - heterosexual (Africa – prevalență crescută la femei: 1 din 4 are infecție HIV)
 - factori de risc:
 - parteneri multipli,
 - sodomia,
 - raporturi buco-genitale,
 - contact sexual în timpul menstruelor, etc.

TRANSMITERE

- **Transmitere parenterală:**
 - transfuzii
 - transplante
 - contact cu sânge contaminat
 - accidente medicale
 - injecții cu același ac

TRANSMITERE

- **Transmitere materno-fetală:**
 - Intrauterină
 - riscul infecției fătului este de 30 – 50%
 - Intrapartum
 - expunere la sângele mamei și la secreția vaginală
 - Postpartum
 - prin lapte matern

Prevenire

- comportament sexual fără risc
- sterilizarea corectă a instrumentarului medico-chirurgical
- triajul corect, strict al donatorilor de sânge și de organe
- screening-ul gravidelor

INFECTARE

- durata de supraviețuire a virionului – 6 ore
- ! imperios necesară infectarea unei celule CD4 / receptori pt.virus
- ! la locul contaminării
 - virusul înglobat în celulele din prima linie a sistemului imun
 - celule dendritice
 - macrofage
 - monocite

INFECTARE

- sistemul monocito-macrofagic
 - prezintă virusul celulelor cu memorie (limfocit T)
 - protejează virusul față de antiretrovirale

ISTORIA NATURALĂ A INFECȚIEI HIV

ETAPE

- infecția primară
- stadiul asimptomatic (perioadă de latență)
- stadiul simptomatic (imunodepresie minoră)
- SIDA (imunodepresie majoră)

INFECȚIA PRIMARĂ

expunere → infecție $\xrightarrow[80\%]{5-30 \text{ zile}}$ semne și simptome

- febră ușoară, faringită
- sindrom mononucleozic: febră înaltă (1 lună), erupție rujeoliformă, mialgii, artralgii, cefalee
- limfadenopatii, scădere ponderală, faringită, tulburări gastro-intestinale, transpirații nocturne, ulceratii bucale

INFECȚIA ASIMPTOMATICĂ

- luni sau ani în funcție de:
 - vârsta pacientului
 - calea de transmitere
 - starea sistemului imun
 - 8,3 ani → adult, transfuzie
 - câteva luni – 3 ani → copii

INFECȚIA ASIMPTOMATICĂ

- limfadenopatia cronică generalizată

! marker foarte sensibil al infecției HIV

- 2 sau mai mulți ggl
 - diametrul > 1 cm
 - elastici, nedureroși
 - în 2 locuri diferite sau inghinal
 - persistenți 3 – 6 luni
 - etiologie necunoscută

INFECȚIA SIMPTOMATICĂ

- imunodepresie minoră
- afecțiuni clinice comune recurente / persistente
 - astenie fizică
 - subfebrilitate
 - transpirații nocturne
 - diaree trenantă (peste 1 lună)
 - herpes zoster multimetameric
 - candidoză bucală recidivantă
 - leucoplazia păroasă a limbii etc.

SIDA

- după 2 – 8- 10 ani de la infecție
- imunodepresie majoră
- infecții oportuniste
 - pneumocistoză pulmonară
 - toxoplasmoză cerebrală
 - cryptosporidioză
 - candidoză esofagiană
 - sarcom Kaposi diseminat etc.

SIDA

- afectat orice organ, dar mai frecvent
 - plămânul
 - SNC
 - "complex de demență HIV" – adult
 - "encefalopatie progresivă" - copil
 - tubul digestiv

DATE GENERALE HIV/SIDA ÎN LUME Decembrie 2009

- Număr persoane în viață cu HIV/SIDA
 - Total 33,3 milioane (31,4 – 35,3 milioane)
 - Adulți 30,8 milioane (29,2 – 32,6 milioane)
 - Femei 15,9 milioane (14,8 – 17,2 milioane)
 - Copii < 15 ani 2,5 milioane (1,6 – 3,4 milioane)
- Persoane infectate cu HIV în anul 2009
 - Total 2,6 milioane (2,3 – 2,8 milioane)
 - Adulți 2,2 milioane (2,0 – 2,4 milioane)
 - Copii < 15 ani 370 000 (230 000 – 510 000)
- Decese datorate SIDA în 2009
 - Total 1,8 milioane (1,6 – 2,1 milioane)
 - Adulți 1,6 milioane (1,4 – 1,8 milioane)
 - Copii < 15 ani 260 000 (150 000 – 360 000)

Sursa: AIDS epidemic update: December 2010