

MUNI
SCI

Virové infekce přenášené krví

Blood-borne viral infections



Virová hepatitida C

Epidemiologie: před rutinním testováním dárců v ČR se většina nakazila transfúzí krve nebo krevních derivátů (do r. 1992)

Riziko: parenterální přenos (injekční uživatelé drog, tetování, piercing), přímý-předměty kontaminované krví (kartáčky, holicí strojky), sexuální přenos, vertikální

Celosvětově 3% infikovaných, v ČR asi 0,2% (podhodnoceno), 800-900 případů ročně

Patogeneze: vysoká frekvence mutací (6 různých genotypů), poškození buněk vlivem kombinace CPE a imunitní reakce hostitele. Možná reinfekce jiným typem viru.

Inkubační doba: 15-180 dní (většinou 5-12 týdnů)

Klinický obraz:

(1) **Akutní hepatitida C** – mírný až asymptomatický průběh, spíše anikterický (ikterus u 25% případů), fulminantní průběh u alkoholiků, nebo koinfekcí s HBV nebo HIV

(2) **Chronická hepatitida C** - (déle než 6 měsíců) – asymptomaticky, odhaleny při preventivních prohlídkách nebo při vyšetření jiného onemocnění, odhalení pozdě-obtížně léčitelné (dekomp. cirhóza, HCC)

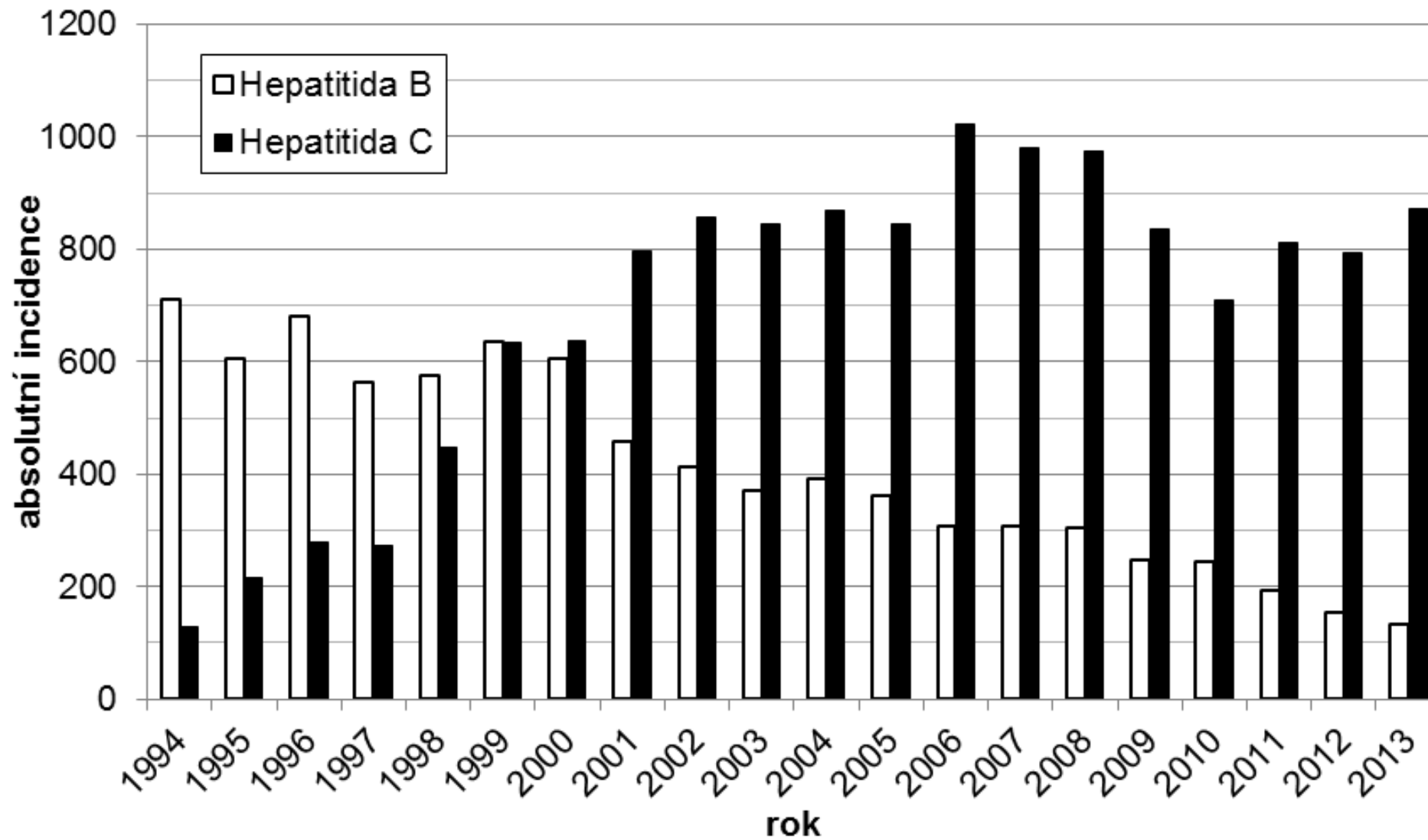
Diagnostika: sérologie (anti-HCV IgM ELISA), kvantifikace virové RNA v séru pomocí Real-time PCR

Léčba: symptomatická, interferon alfa, ribavirin, transplantace jater (pokročilá cirhóza, počátek HCC)

Prognóza: zhoršující faktory (vyšší věk, infekční dávka, koinfekce HBV a HIV, alkohol)

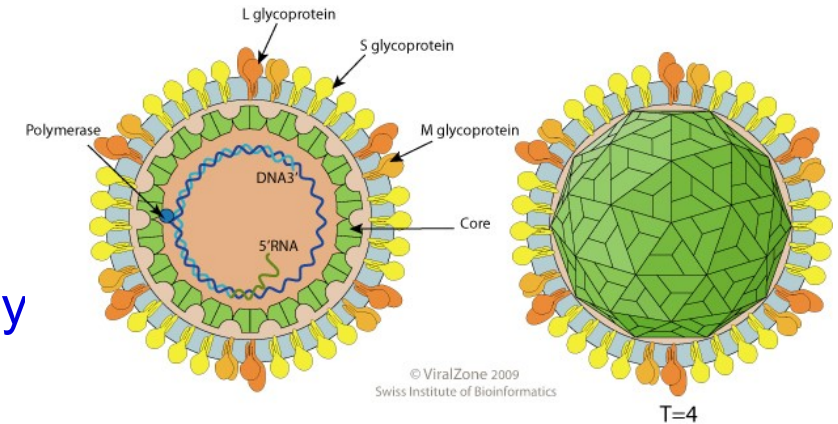
Prevence: vakcína nedostupná (vysoká gen. heterogenita viru)

Virová hepatitida C a akutní hepatitida B v ČR 1994–2013



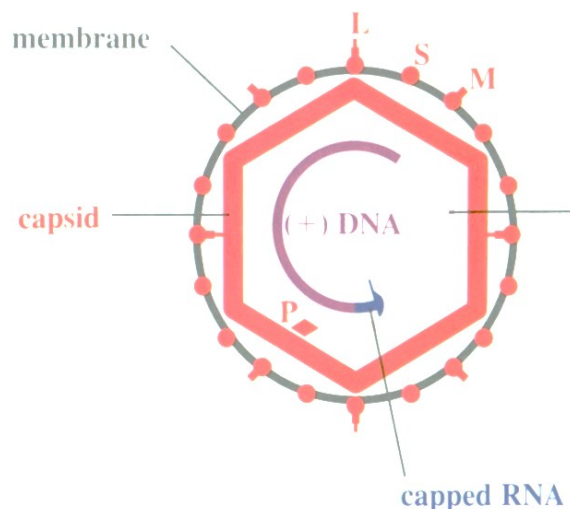
Čel: *Hepadnaviridae*

- hostitelé: člověk, opice, ptáci (kachny, volavky), netopýři (Hepatitis B-like)
- 350 mil. lidí infikováno HBV celosvětově (nejvíce Asie a Afrika), asi 0,5 mil. lidí ročně zemře v souvislosti s HBV
- tropizmus: hepatocyty (vysvětlení: některé transkripční faktory zde přítomny)
- bun. receptory: neznámé (patrně polymerní IgA nebo annexin V)
- onemocnění: hepatitida B, cirhóza jater, hepatokarcinom
- dsDNA (jeden řetězec nekompletní), obalené, sférické, velikost 42 nm
- cirkulární genom: 3,2 kb (velmi malý), kóduje 7 proteinů (efektivní replikace)
- mají vlastní enzym DNA polymerázu s funkcí reverzní transkriptázy
- DNA genom se replikuje přes RNA intermediát
- obal obsahuje tři glykoproteiny (S, M, L) - tvoří povrchový HBsAg ('australský antigen')
- lidské hepatocyty nejsou obvykle ihned zlikvidovány virem, ale přežívají i několik měsíců včetně neinfekčních partikulí – není vidět cytopatický efekt na inf. buňkách



Neinfekční částice

- přítomnost neinfekčních částic, které se uvolňují z hepatocytů
- částice obsahují lipidový a obalový protein, ale neobsahují nukleokapsid
- tvar filamentární nebo sférický
- průměr 22nm, délka až 200nm
- přítomny hlavně v krvi, méně v játrech
- neinfekční částice počtem převyšují částice infekční
- důvod pro nadprodukcii neinfekčních partikulí – zřejmě lákadlo (vějička) pro imunitní systém, ochrana infekčních částic



Carter and Saunders, 2013

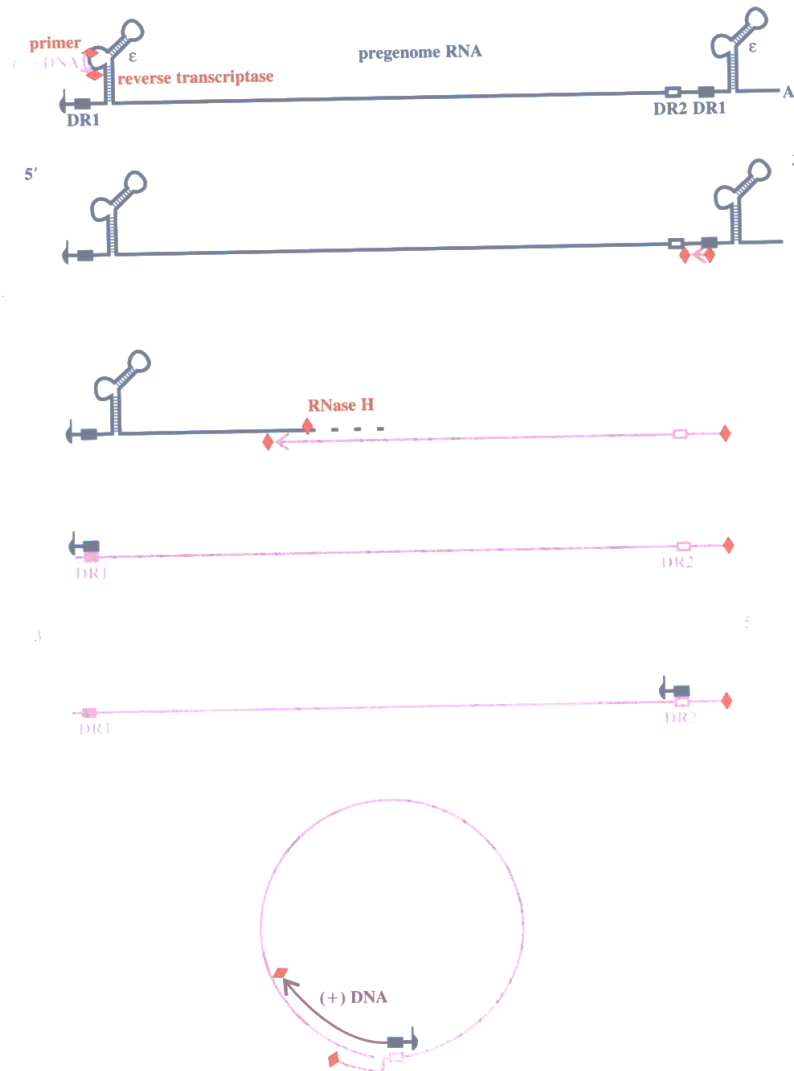
Structure	Diameter (nm)	Typical concentration (μg/ml)
Virion	42	0.1
Non-infectious particles		
Sphere	22	100
Filament	22	1

Replikace a exprese u hepadnavirů

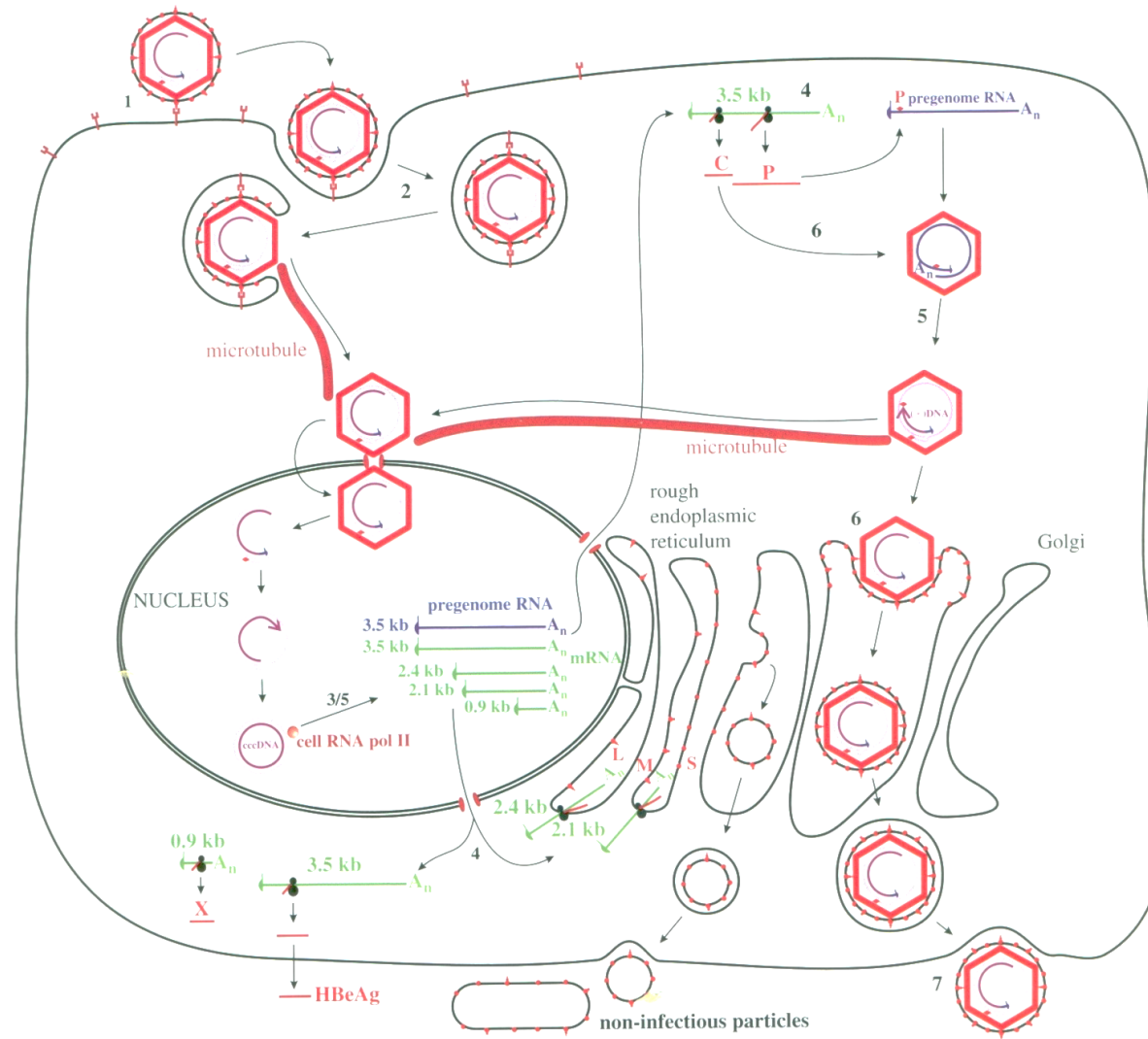
Replikace: jádro/cytoplazma

- virus se spojí s receptory host. buňky skrze hlavní povrchový antigen a vstupuje do buňky endocytózou, poté dojde k fúzi membrány endozómu a obalu viru
- relaxovaná kruhová DNA (RC-DNA) uvnitř kapsidu je transportována prostřednictvím mikrotubulů k jádru
- DNA je uvolněna skrze jaderný pór a konvertuje za pomoci ligázy do formy covalently closed circular DNA (cccDNA)
- cccDNA je templátem pro transkripci (RNA pol II)-pregenomické RNA (pgRNA) a subgenomické mRNA-syntéza všech virových proteinů
- pgRNA enkapsidována s P proteinem reverzně transkribována uvnitř nukleokapsidu a do (-) ssDNA templátu generujícího nové RC-DNA (+/-dsDNA)
- transport RC-DNA zpět do jádra vede 1) k tvorbě nových cccDNA (akumulace gen. materiálu v jádru)
- NEBO nukleokapsid obsahující RC-DNA pučí na kompartmentech mezi ER a GA, kde získá obalové proteiny a pomocí exocytózy opustí buňku

Syntéza HBV (dsDNA) prostřednictvím reverzní transkriptázy



Strategie replikace hepadnavirů (shrnutí)



Virová hepatitida B

Závažný zdravotnický problém současnosti (hlavně rozvojové země)

Epidemiologie: během života se nakazí až 2 mld. osob, chronicky infikováno asi 400 mil. osob (nejvíce Čína) Rozvojové země: nákaza nejčastěji v dětském věku (vertikálně i horizontálně)

Vyspělé země: injekční uživatelé drog, promiskuita

ČR: poslední sérologický přehled (HBsAg: 0,56% osob) 250-300 případů ročně-trvalý pokles, vysoká proočkovanost (součást hexavakcíny), vakcinace rizikových skupin (novorozenci HBsAg, hemodialýza, zdravotníci)

Patogeneze: zánik hepatocytů vlivem imunitní reakce, pravděpodobnost přechodu do chronicity závisí na věku infekce a imunitním stavu hostitele

Inkubační doba: 30-180 dní (nejčastěji 2-3 měsíce)

Klinický obraz: heterogenní

(1) akutní hepatitida B – benigní onemocnění, spontánní uzdravení

0,1-1% fulminantní onemocnění s vysokou mortalitou, prodromální stádium (subfebrilie, bolesti kloubů)

děti-anikterický průběh, dospělí (ikterus-nespecif. příznaky/asymptomaticky)

(2) chronická hepatitida B – (déle jak 6 měsíců)

a) **HBsAg + pacienti s perzistující aktivní virovou replikací** - infekce wild type nebo mutantní typ (převládá)-zvýšení hladiny jat. enzymů, zánětlivý stav s možností přechodu do cirhózy.

Antivirová terapie

Virová hepatitida B

b) **inaktivní nosič HBsAg** – v podstatě zdravý, možnost reaktivace, sérologicky pozitivní HBsAg), bez klinických a patologických příznaků, hladina ALT beze změn

ke stavu nosičství dochází spontánně (sérokonverze u 10-20% chroniků) nebo po antivirové terapii

Nosiči jsou sledováni, neléčí se

Komplikace: fulminantní hepatitida, chronická hepatitida, cirhóza, hepatocelulární karcinom

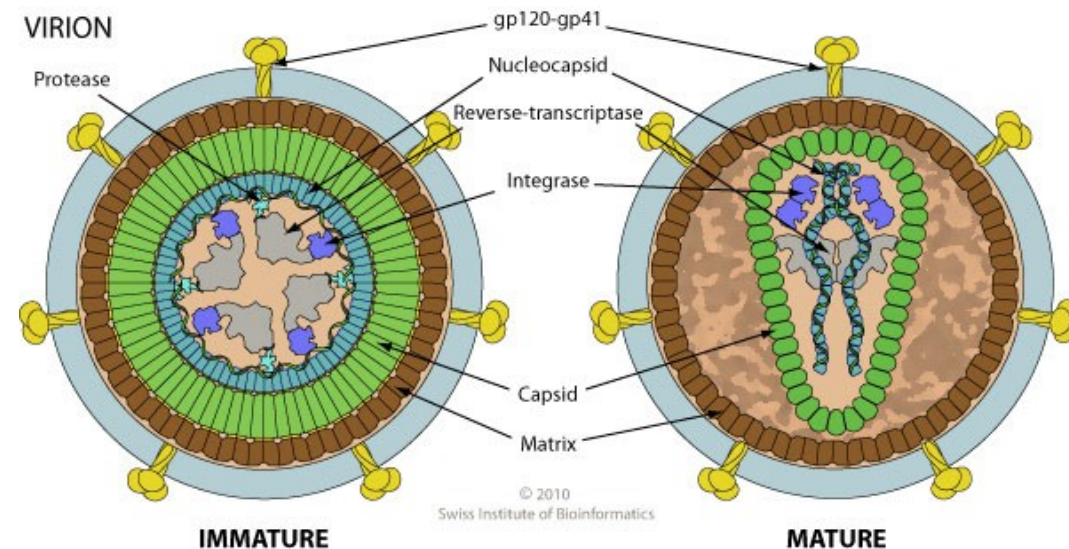
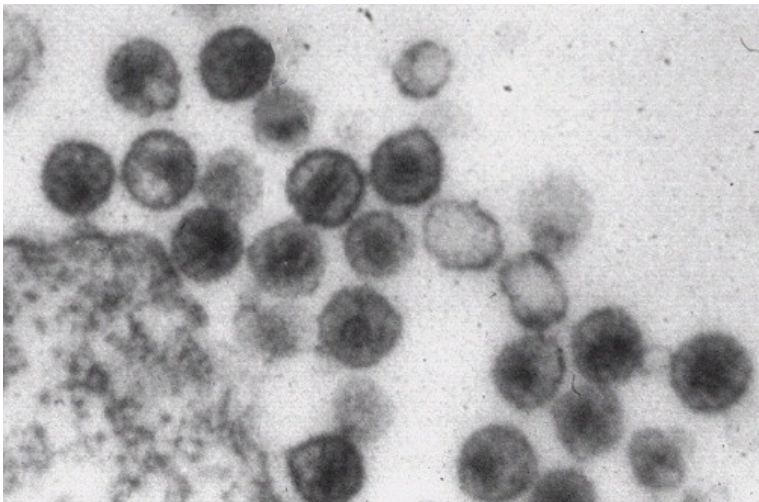
Léčba: zábrana progresu chronické hepatitidy do jaterní cirhózy, dekompenzace cirhózy a vzniku HCC

Suprese virové replikace-interferon (kontraindikace cirhóza), entecavir, tenofovir, lamivudin (překonané-tvorba rezistentních mutant HBV)

Diagnostika: sérologie-komplikovaná, nejcitlivější detekce HBV DNA (kvantifikace virémie Real-time PCR)

Čel: *Retroviridae*

- hostitelé: obratlovci (savci-feline leukemia virus, ptáci-Rous sarcoma virus, ryby, obojživelníci)
 - buněčné receptory: CD4 (HIV)
 - onemocnění: HIV, HTLV-1
 - obalený, sférický až pleomorfní, velikost 80-110nm
 - lineární (+)ssRNA genom 7-11 kb, dvě RNA kopie genomu (dimer)
 - každá kopie obsahuje také tRNA=primer binding site (PBS)
- endogenní retroviry

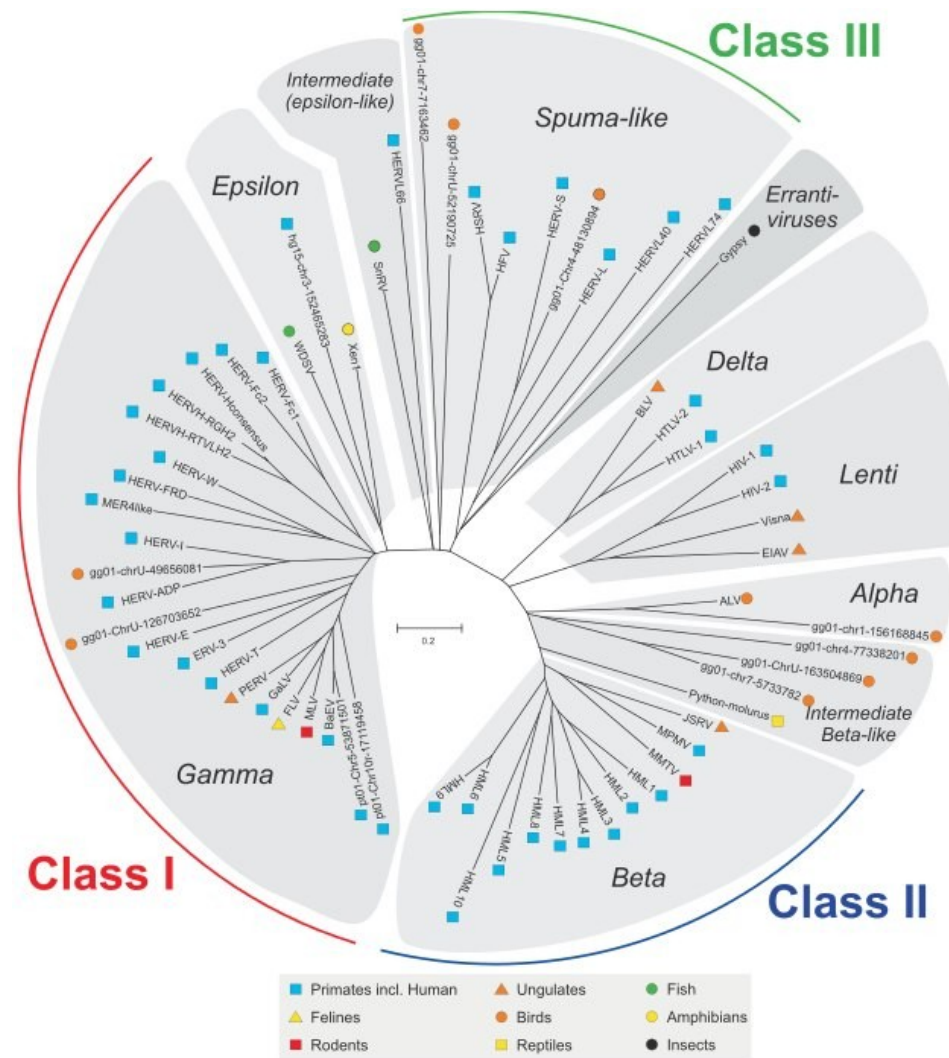
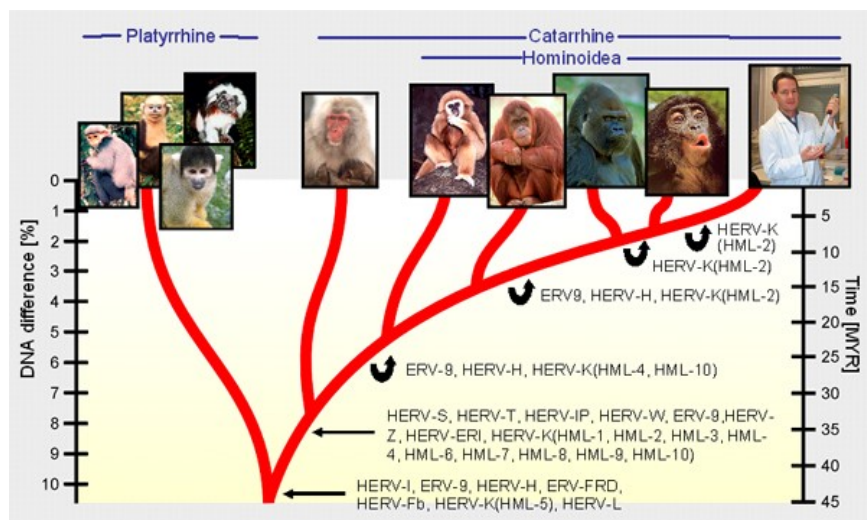


Endogenní retroviry

'human endogenous retroviruses' = HERVs

až 8% genomu člověka

zkoumá se poz. i neg. dopad na lidské zdraví



Virologická synapse: HIV

Přímý přenos viru z buňky do buňky

pokud jsou infikované buňky v blízkém kontaktu s dalšími k viru citlivými buňkami, dojde mezi nimi k přenosu viru tzv.

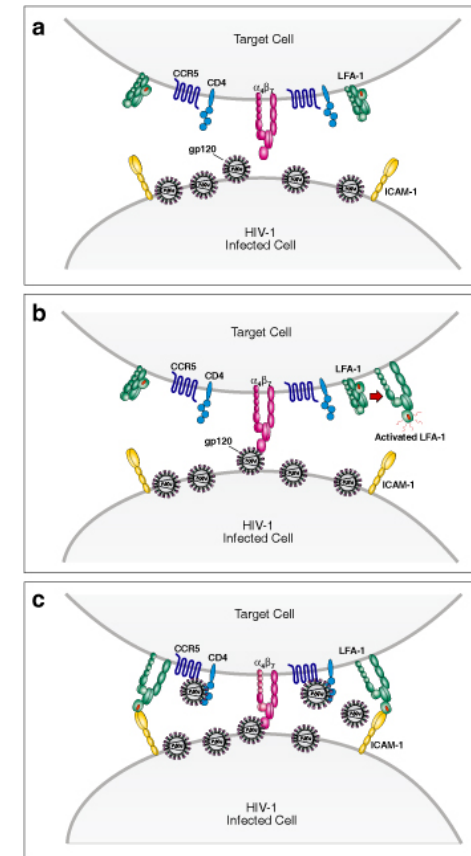
virologická synapse (např. u HIV)

součinnost cytoskeletu host. buňky

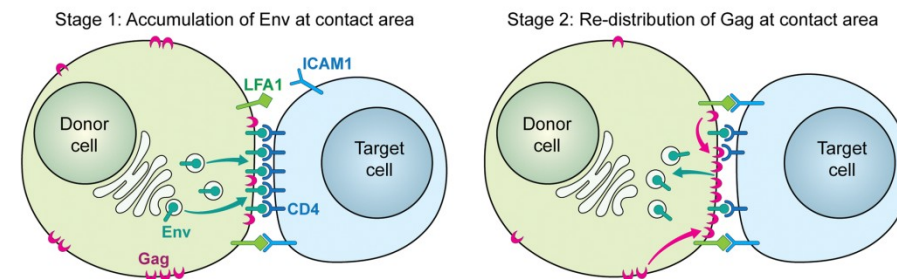
efektivní obrana proti hostitelské buňce (únik neutralizačním protilátkám)

Real et al.: "Live imaging of HIV-1 transfer across T-cell virological synapse to epithelial cells that promotes stromal macrophage infection", Cell Reports

[https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(18\)30570-9](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(18)30570-9), DOI: 10.1016/j.celrep.2018.04.028



Formation of Virological Synapse



J Gregory ©2018 Mount Sinai Health System

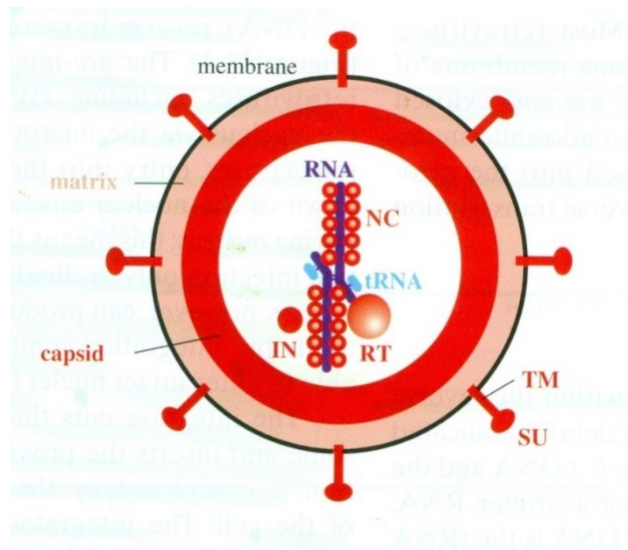
Organizace genomu retrovirů

Tři hlavní regiony kódující proteiny:

gag (group specific antigen) – interní strukturní proteiny

pol (polymerase) – enzymy

env (envelope) – obalové proteiny



Carter and Saunders, 2013

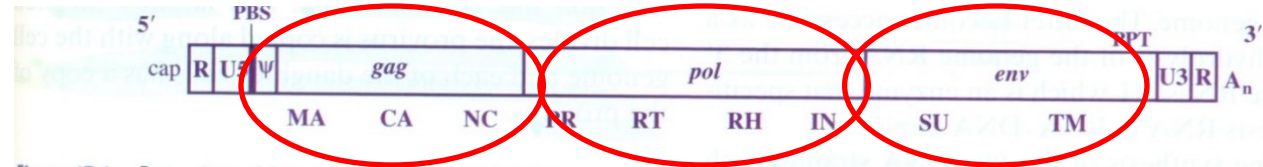


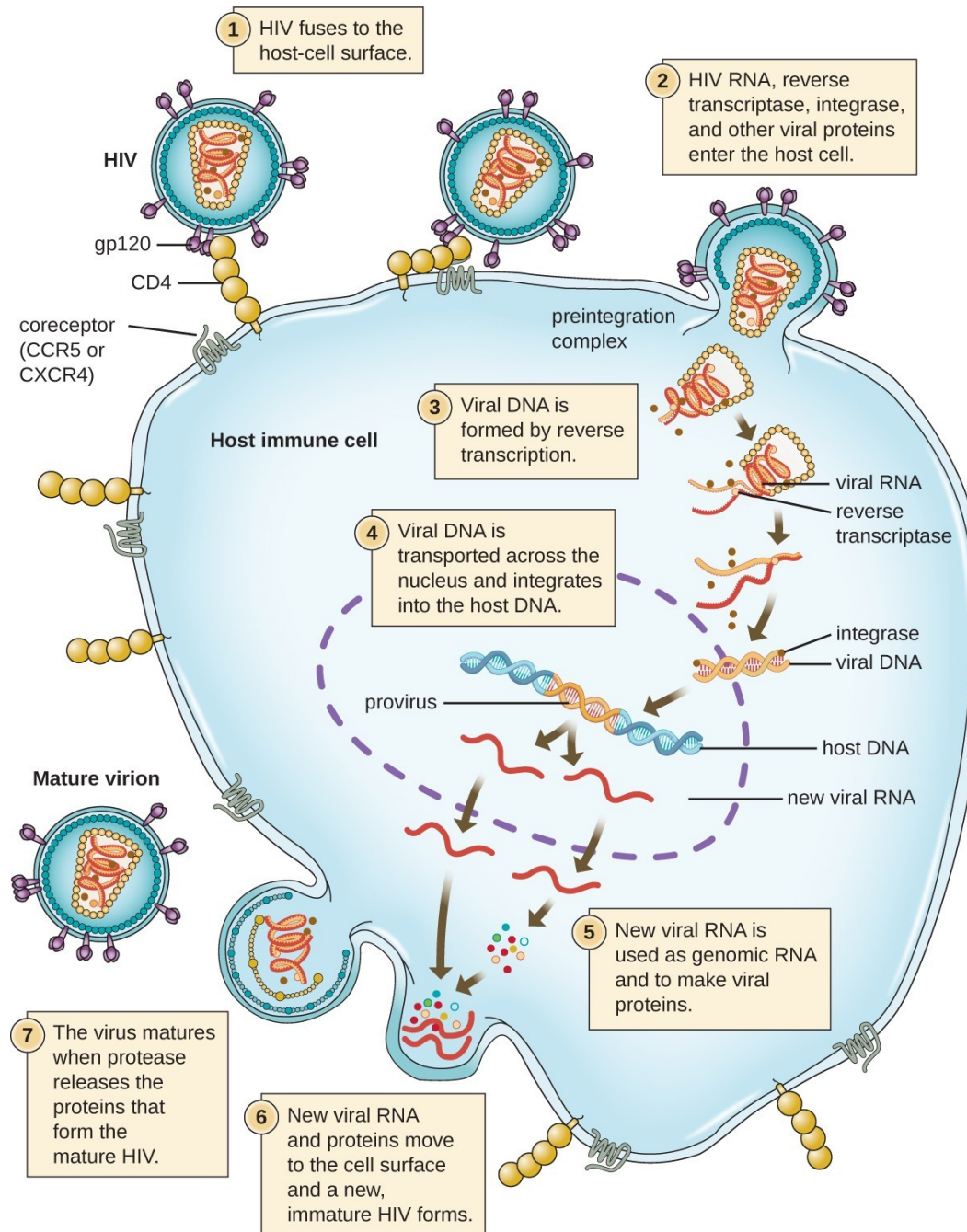
Figure 17.1 Retrovirus virion and genome organization

Genes	<i>gag</i>	group-specific antigen
	<i>pol</i>	polymerase
	<i>env</i>	envelope
Proteins	CA	capsid
	IN	integrase
	MA	matrix
	NC	nucleocapsid
	PR	protease
	RH	ribonuclease H
	RT	reverse transcriptase
	SU	surface glycoprotein
	TM	transmembrane glycoprotein
Sequences with roles in replication	PBS	primer binding site
	PPT	polypurine tract
	R	repeat sequence
	U3	unique sequence at 3' end of genome
	U5	unique sequence at 5' end of genome
	ψ	Greek letter psi, from packaging signal

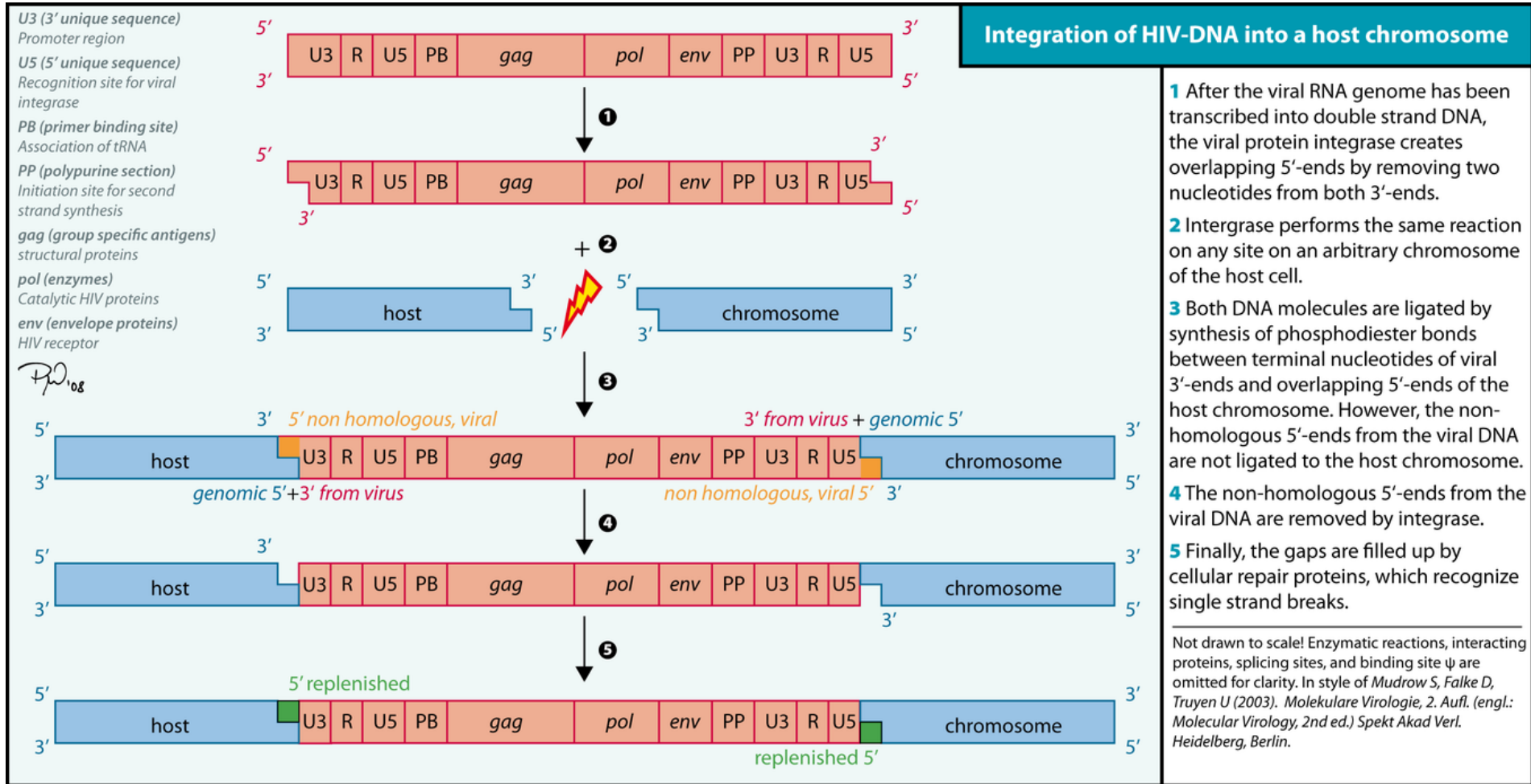
Replikace u retrovirů

1. virus se spojí s receptorem host. buňky (např. CD4) skrze SU glykoprotein, což způsobí konformační změny TM proteinu, který spustí fúzi membrány viru s cyt. mem. buňky (většina retrovirů), u některých retrovirů však fúze obalu viru s mem. endozómu
2. částečné obnažení, dojde k tvorbě **reverse transcription complex** - (+)ssRNA genom je reverzní transkriptázou přepsán do dsDNA molekuly
3. provirová DNA asociovaná s některými virovými proteiny je transportována pomocí mikrotubulů do jádra jako **pre-integration complex**
4. dsDNA molekula je náhodně ale kovalentně integrována do genomu host. buňky **virovou integrázou**
5. integrace **provirové ds DNA** je dokončena za účasti DNA reparačních mechanismů buňky
6. transkripce proviru bun. RNA polymerázou (tvorba mRNA a genomické RNA)
7. export nekompletních RNA z jádra a translace na ER - produkce Env, Gag a Gag-Pol polyproteinů
8. Env produkt transportován do GA, kde dojde ke štěpení na SU a TM, dále glykosylovány a transport k CM translace proteinů gag a gag-pol
9. sestavování viru na cytoplazmatické membráně (tvorba dimeru, připojení tRNA, gag a gag-pol)
10. v průběhu pučení nebo po pučení dojde ke štěpení komplexu gag a gag-pol virovou proteázou, produkty štěpení gag je matrix protein, kapsid a protein nukleokapsidu a pol jsou enzymy
11. uvolnění kompletních (zralých) virionů z buňky

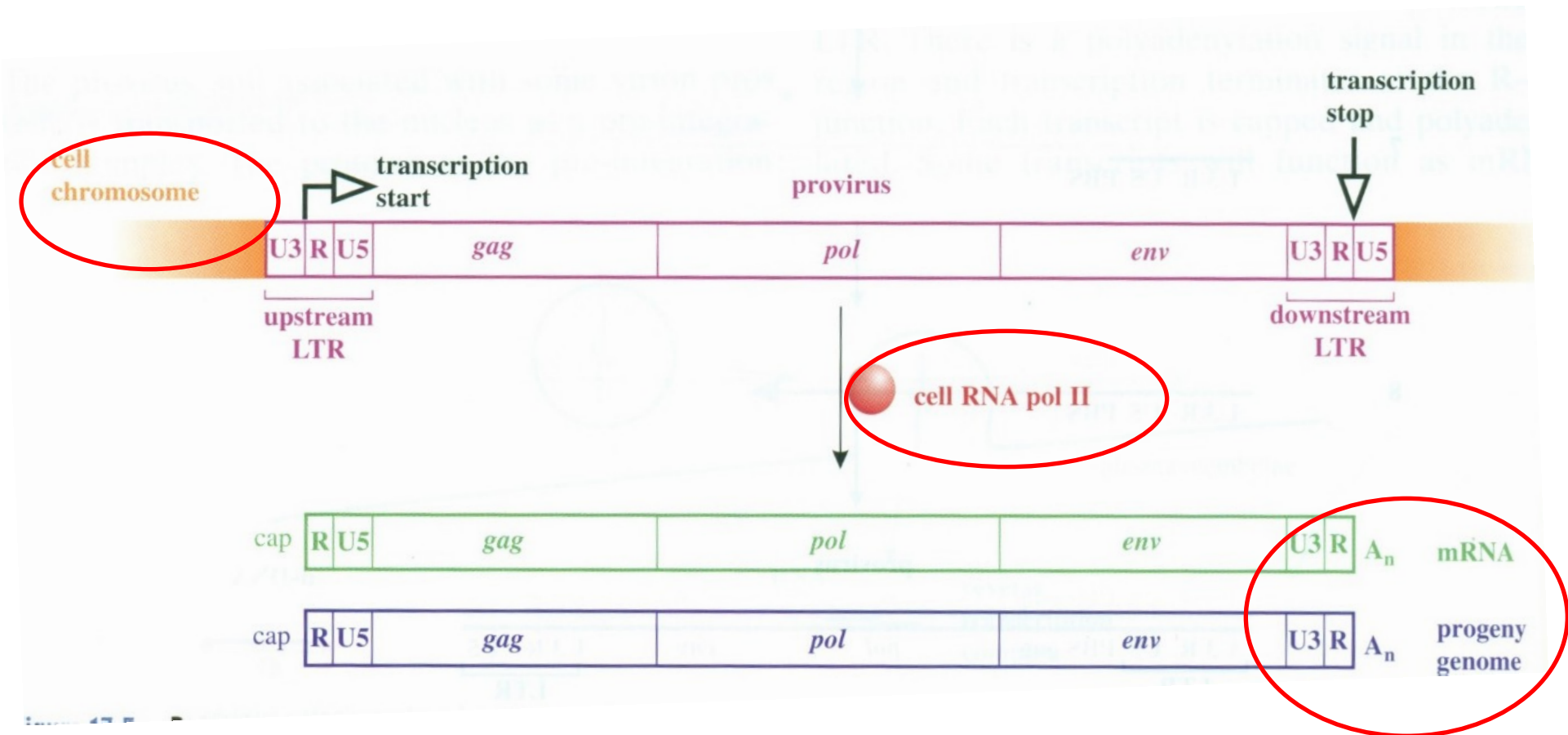
Zjednodušený infekční cyklus HIV



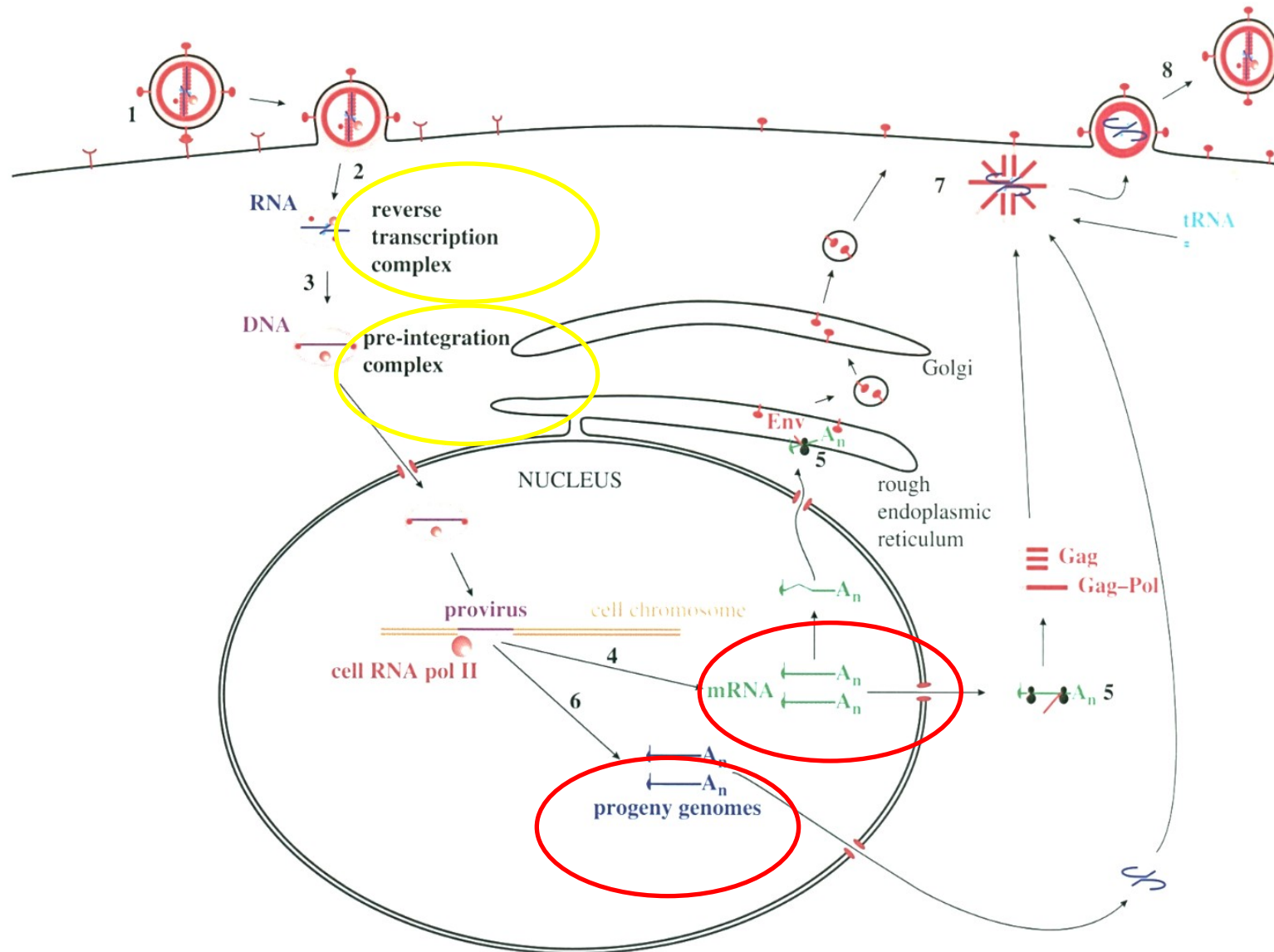
Začlenění provirové DNA do chromozómu hostitelské buňky



Transkripce u retrovirů



Strategie replikace u retrovirů (shrnutí)



Infekce vyvolané retroviry

AIDS – syndrom získaného imunodeficitu

soubor klinických forem onemocnění (oportunních infekcí a malignit), které se rozvinou v důsledku destrukce funkcí imunitního systému působením viru HIV

Epidemiologie – HIV-1 1981 (San Francisco a New York-homosexuální populace mladých mužů s Kaposiho sarkomem nebo pneumocystovou pneumonií, posléze u narkomanů, hemofiliků a jiných příjemců krevních derivátů, identifikace viru 1983 na Pasteurově ústavu, HIV-2 identifikován 1986 (vzácná forma, Afrika)

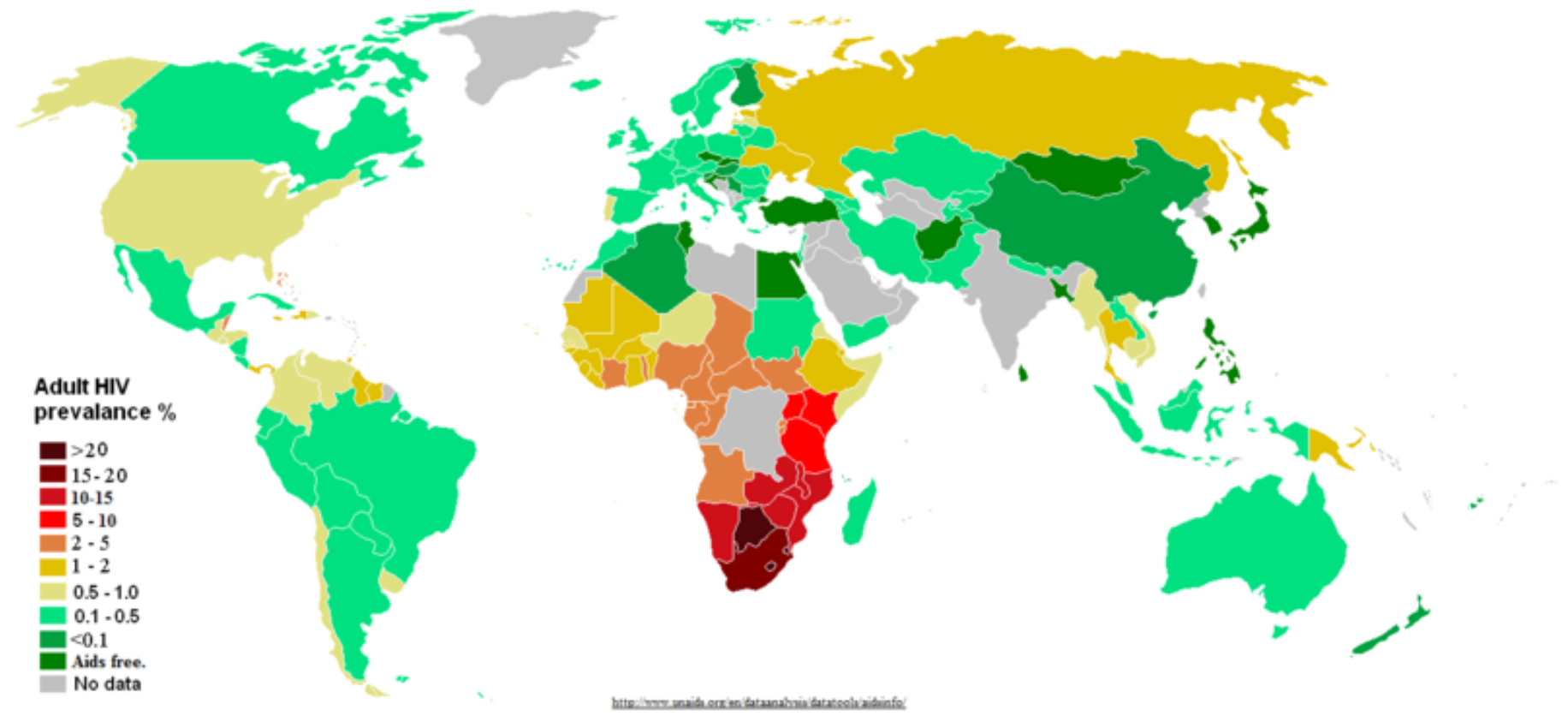
2009 celosvětově asi 35 mil. lidí nakaženo HIV

V ČR asi 2000 případů HIV pozitivních

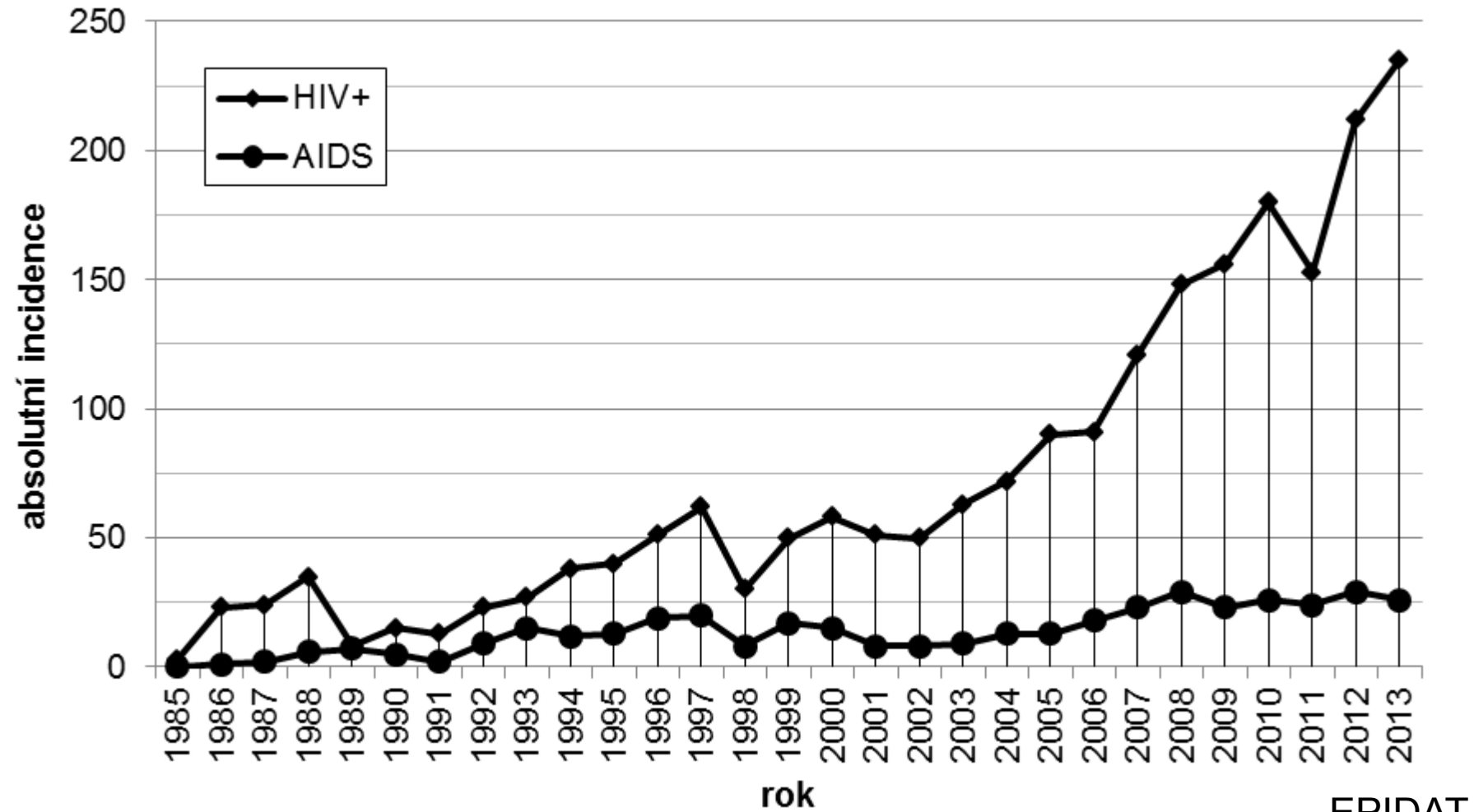
Přenos:

- 1) sexuální (vaginální sekret a sperma),
- 2) parenterální (krev-narkomani, dříve také transfúze)
- 3) vertikální (nejčastěji během porodu nebo při kojení)

Prevalence HIV ve světě



HIV/AIDS u občanů ČR a osob s trvalým pobytem 1985–2012



Poznámka: HIV+ - nově zjištěné HIV-positivní osoby; AIDS - nově zjištěné plné rozvinutí AIDS

Infekce vyvolané retroviry

Klasifikace HIV dle CDC (1993) zařazuje HIV infikované pacienty do tří klinických a tří laboratorních kategorií (dle počtu CD4 lymfocytů)

Klinická kategorie A

Primární infekce, 2-6 týdnů po nákaze, obraz chřipky nebo IM, někdy exantém, nebo zcela asymptomaticky, pokles CD4 lymfocytů

Lab: antigen p24, anti-HIV (dny až týdny)

Poté antigen vymizí, CD4 se normalizuje, přechod do asymptomatického stádia-bez příznakové období 2-15 let (lab kat. 1 a klinická A), mírný pokles CD4

Klinická kategorie B

Pokles CD4 lymfocytů (lab. kat. 2), časně symptomatické stádium, malé oportunní infekce (klinická kat. 2B)

horečka více jak 38,5°C déle než měsíc, průjem déle než měsíc

orofaryngeální/vulvovaginální kandidóza

recidivující Herpes zoster

trombocytopenie

neuropatie dolních končetin

Infekce vyvolané retroviry

Klasifikace HIV dle CDC (1993)

Klinická kategorie C

pokles lymfocytů pod 200/mm³, pozdní symptomatické stádium, **velké oportunní infekce**, nádory, HIV encefalopatie definující AIDS

Délka stádia 1-4 roky, průběh může být až fatální

Infekce vyvolávají agens za standardních podmínek nepatogenní nebo velmi málo patogenní pneumocystová pneumonie (indikativní onemocnění AIDS)

mykotické agens *Pneumocystis jiroveci* – na počátku neproduktivní kašel, dušnost, sufebrilie, posléze úbytek hmotnosti kandidóza (orální i systémová)

toxoplazmóza

nádorové onemocnění – Kaposiho sarkom (červeno-hnědo-fialové eflorescence na kůži), postižení vnitřních orgánů (respirační trakt, srdce, GIT, lymfatické uzliny)

Diagnostika: symptomatologie obtížná, virologická a sérologická detekce viru a protilátek, EM, PCR, detekce Ag p24 (protein kapsidu), **sérologie anti-HIV (ELISA a konfirmace WB)**

Bezpečnost práce s HIV: virus citlivý ve vnějším prostředí (vázan na krev, sperma, vaginální sekret, slzy), v zaschlých tekutinách nepřežije

Postexpoziční profylaxe – kombinace antiretrovirových léčiv

Infekce vyvolané retroviry

Antiretrovirová terapie

HAART – highly active antiretroviral therapy

v poslední době nahrazena cART – combination antiretroviral therapy

tj. kombinace 3 virostatik s antiretrovirovou aktivitou nejméně ze dvou různých skupin

Cíl: suprese virové replikace a regenerace imunitních funkcí

Dnes HIV/AIDS typickou chronickou chorobou (k dispozici 29 virostatik)

Prof. Holý – objevitel sloučenin k léčbě HIV (tenofovir-Viread), Truvada-i k prevenci

Skupiny virostatik

(1) Nukleosidové anebo nukleotidové inhibitory reverzní transkriptázy – kompetice falešných prekurzorů s fyziologickými nukleosidy (nukleotidy)– inkorporace falešných bazí a vznik nefunkční DNA (Viread, Truvada)

(2) Nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy – váží se přímo na RT

(3) Proteázové inhibitory – zabraňují konečnému zrání virové částice. Proteáza štěpí zbytek polyproteinu za vzniku strukturních i replikačních proteinů (RT, integráza)

(4) Integrázové inhibitory - blokuje integrázu, která je odpovědná za začlenění virové RNA ve formě DNA do hostitelského genomu

(5) Inhibitory vstupu – interakce léčiva před vstupem do buňky

(6) Inhibitory fúze – brání fúzi viru s membránou cílové buňky (receptorem CD4)

Infekce vyvolané parvoviry

Pro člověka patogenní pouze Parvovirus B19 (rod *Erythrovirus*)

Onemocnění: pátá nemoc (erythema infectiosum)

Epidemiologie: kosmopolitní výskyt, u nás nejvyšší frekvence v zimě a na jaře, výskyt u dětí školního věku, rodinný výskyt, epidemický výskyt v uzavřených kolektivech

Zdrojem nákazy člověk s inaparentní nebo manifestní nákazou

Přenos: kapénkově, krví a krevními deriváty, **vertikálně**

Inkubační doba: 10-18 dnů

Etiopatogeneze: vstupní brána dýchací cesty, napadá prekurzory erytrocytů v kostní dřeni (útlum dozrávání erytrocytů), virus proniká do kůže a kloubů

Intrauterinní infekce: závažná anémie plodu, hydrops (riziko zejména v první polovině těhotenství)

Klinický obraz: exantém na tvářích, později i na trupu a zevních stranách končetin, někdy na dlaních a ploskách nohou, proměnlivost intenzity exantému dle zevních podmínek (teplo, chlad), lymfadenopatie, polyartritida

Komplikace: artritida, myokarditida, hepatitida, trombocytopenie, neuropatie, encefalopatie

U imunosuprimovaných aplazie (útlum) funkce kostní dřene

Diagnostika: IgM, izolace viru, PCR Léčba: symptomatická, při aplastické krizi krevní transfúze, u osob s imunodeficitem indikovány imunoglobuliny

Erythema infectiosum

