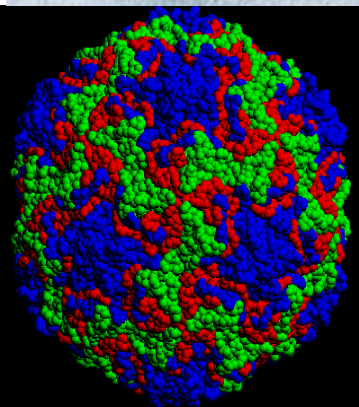
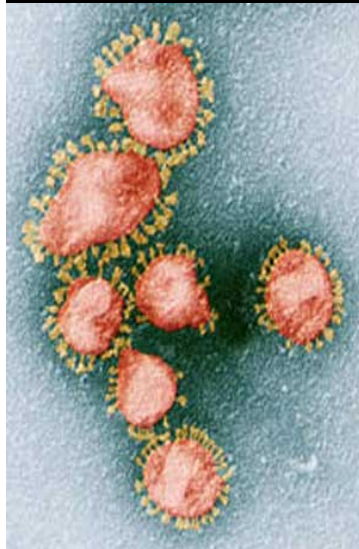
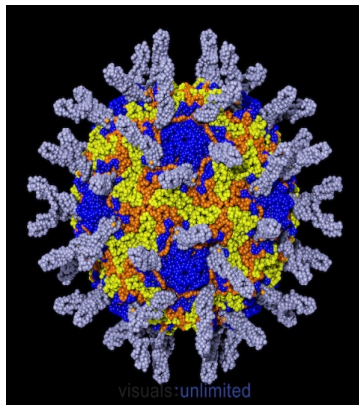




Patogênese II

Hepatites

&

HIV-1

BMM400

Enfermagem

Paolo Zanutto
Departamento de Microbiologia
Laboratório de Evolução viral e Bioinformática
pzanotto@usp.br



Parte 1

Hepatites Virais

Hepatite: definição

Manifestações clínicas

- Icterícia



- Falta de apetite
- Fezes claras
- Urina escura
- Prostração

Importância em Saúde pública: por quê?

Doença debilitante

Assintomática à óbito

Cronicidade

1947 - MacCallum

Hepatite A infecciosa

Hepatite B serica

1963 - Blumberg

Antígeno Austrália (Ag Au) -
aborígenes



1968 - Prince, Okochi e Murakami

Antígeno de superfície do VHB (Ag HBs)
corresponde ao Ag Au de Blumberg

Virus causadores de hepatite: tipos

- A Hepatite Infecciosa ou fecal-oral
- B Hepatite Sérica ou parenteral
- C Hepatite Não A-Não B
- D Hepatite Delta (Febre Negra de Lábrea)
- E Hepatite Não A- Não B
- F Hepatite F
- G Hepatite G (tipos GA e GB) Torque
Teno Vírus (TTV) (comensal?)



Vírus Hepatite A (VHA)

Família *Picornaviridae*

Gênero *Hepatovirus*

Tamanho 22 nm

Capsídeo icosaédrico (Ag HA)

Sem envoltório

Genoma RNA fita simples
polaridade mensageira

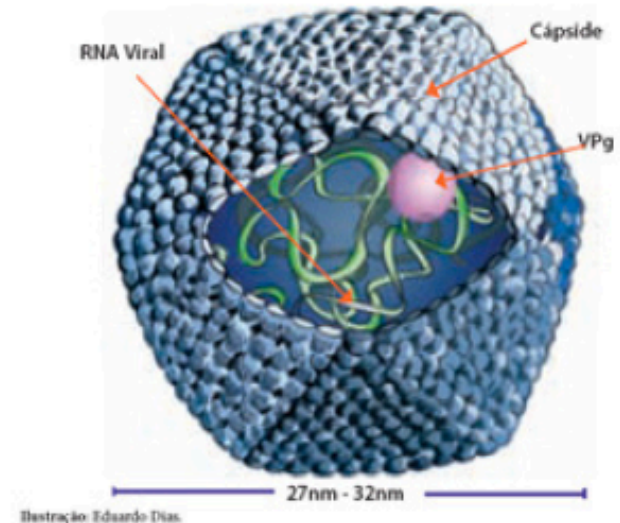
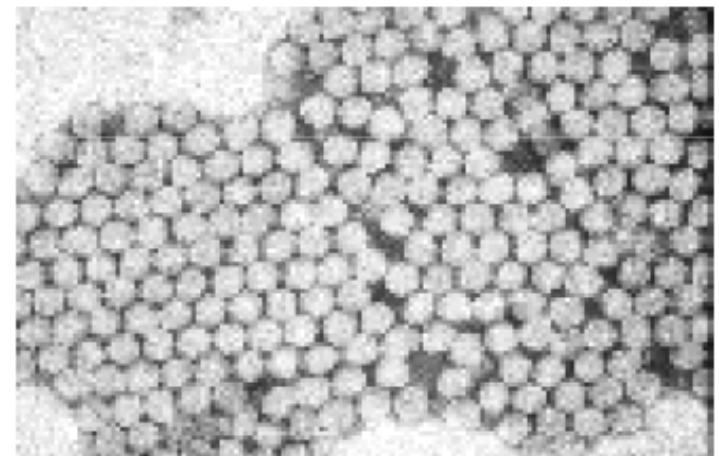


Ilustração: Edsardo Dias.



Vias de transmissão - VHA

Fecal-oral

Ingestão de água e alimentos
contaminados com material fecal

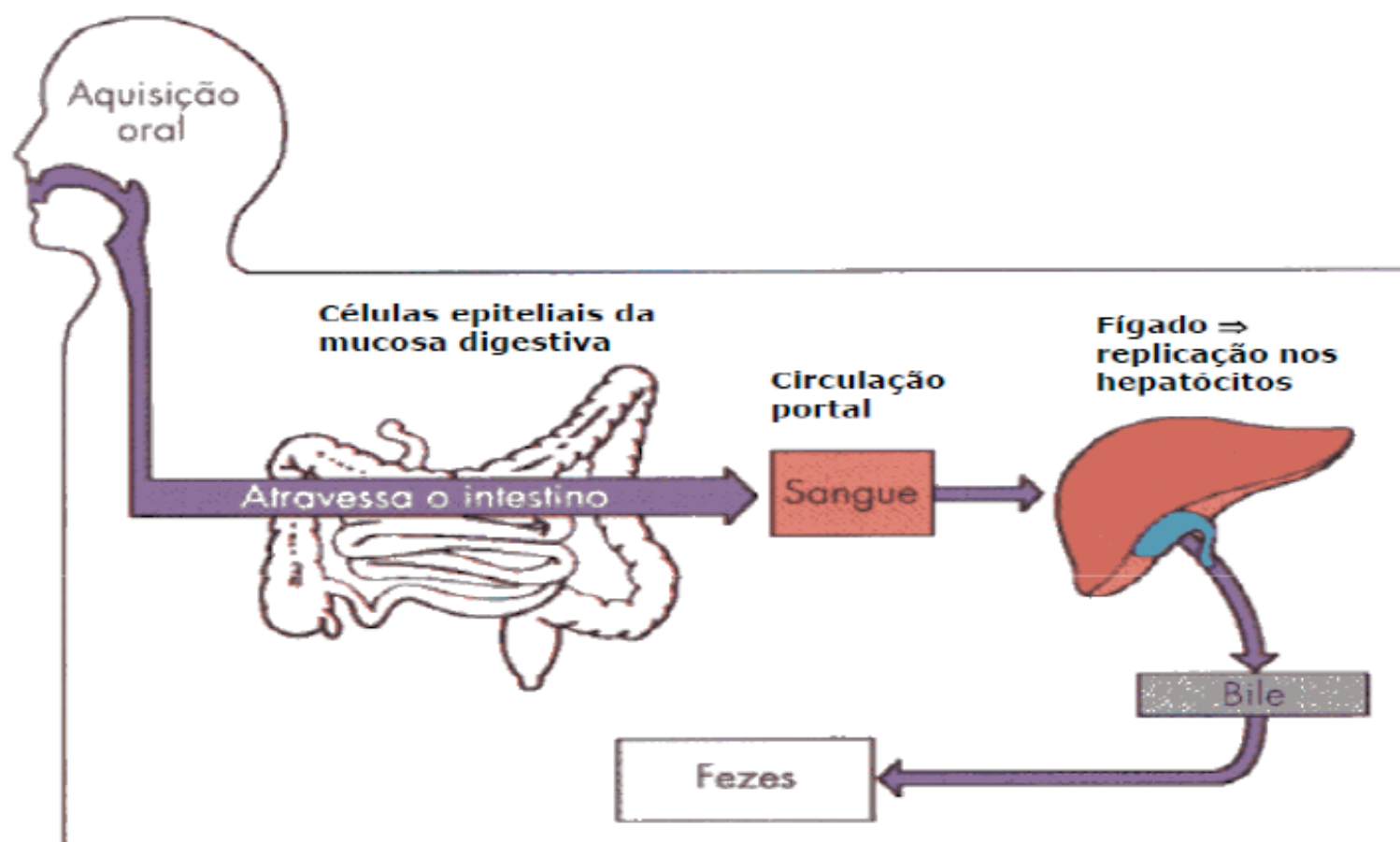
Contato direto
pessoa-pessoa

Saliva

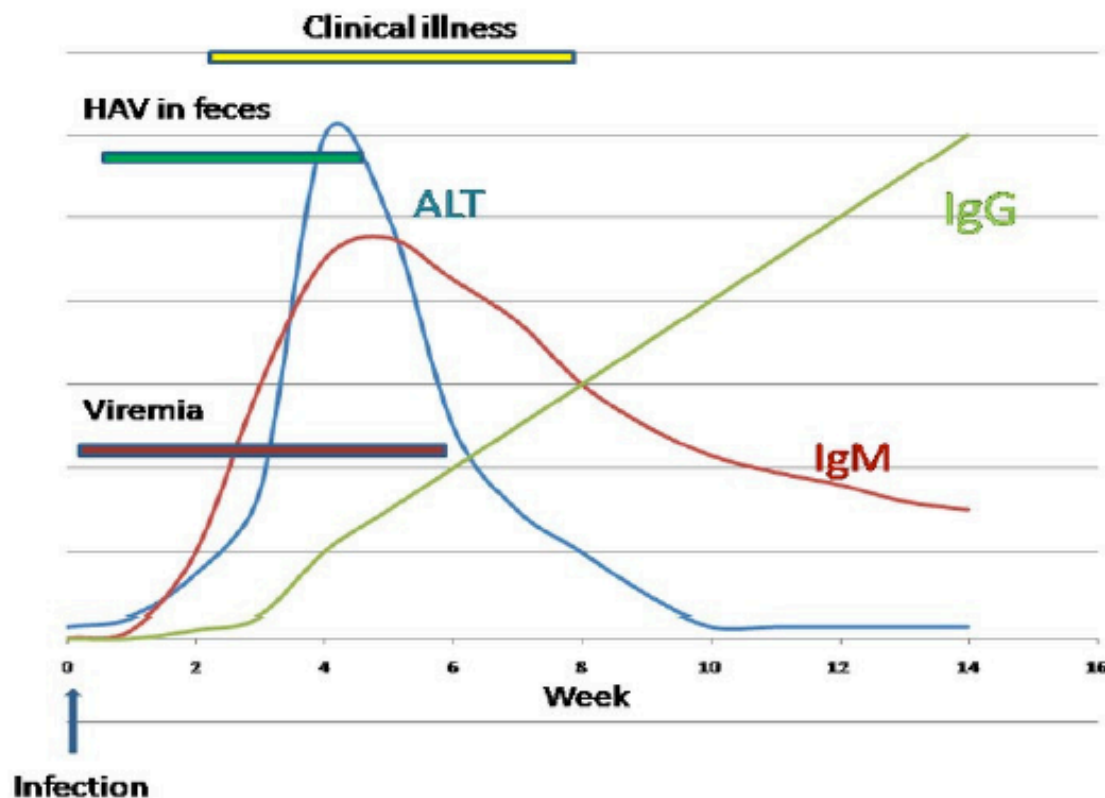
Veiculação por objetos
pessoais e
utensílios
(fômites)

Hábitos inadequados
de higiene

Patogenese HAV



Infecção aguda – marcadores da infecção



Profilaxia :

Higiene e Vacinas

Hepatite A: HAVRIX

2 doses

(intervalo de 6 meses a 1 ano)

Vírus da Hepatite B (VHB)

Família *Hepadnaviridae*

Gênero: *Orthohepadnavirus*

Espécie: Hepatitis B Virus

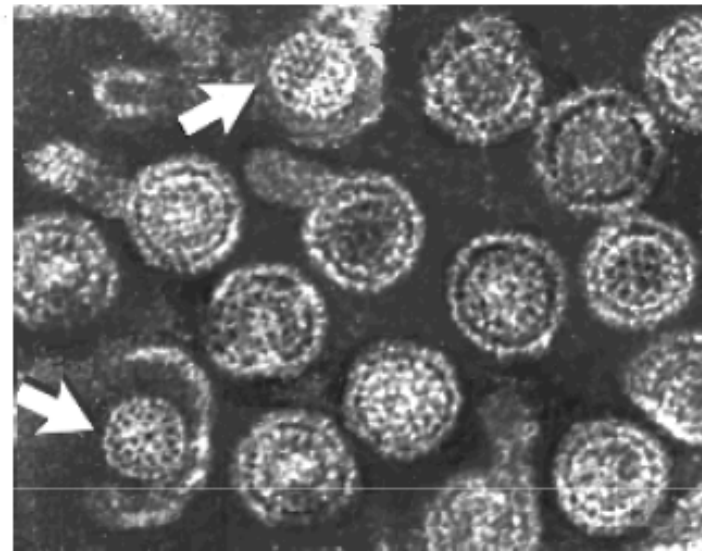
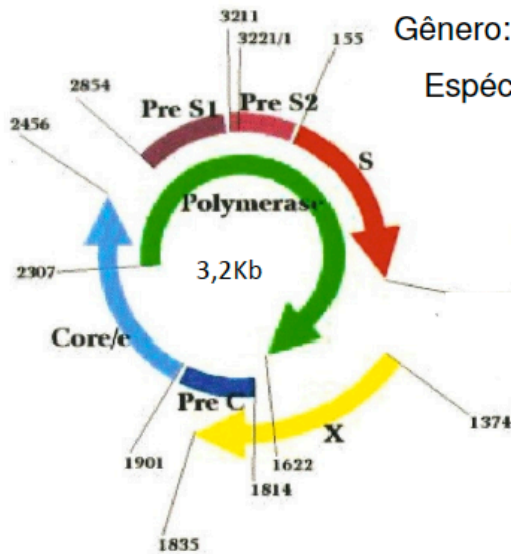
Tipos (A-G)

4 subtipos

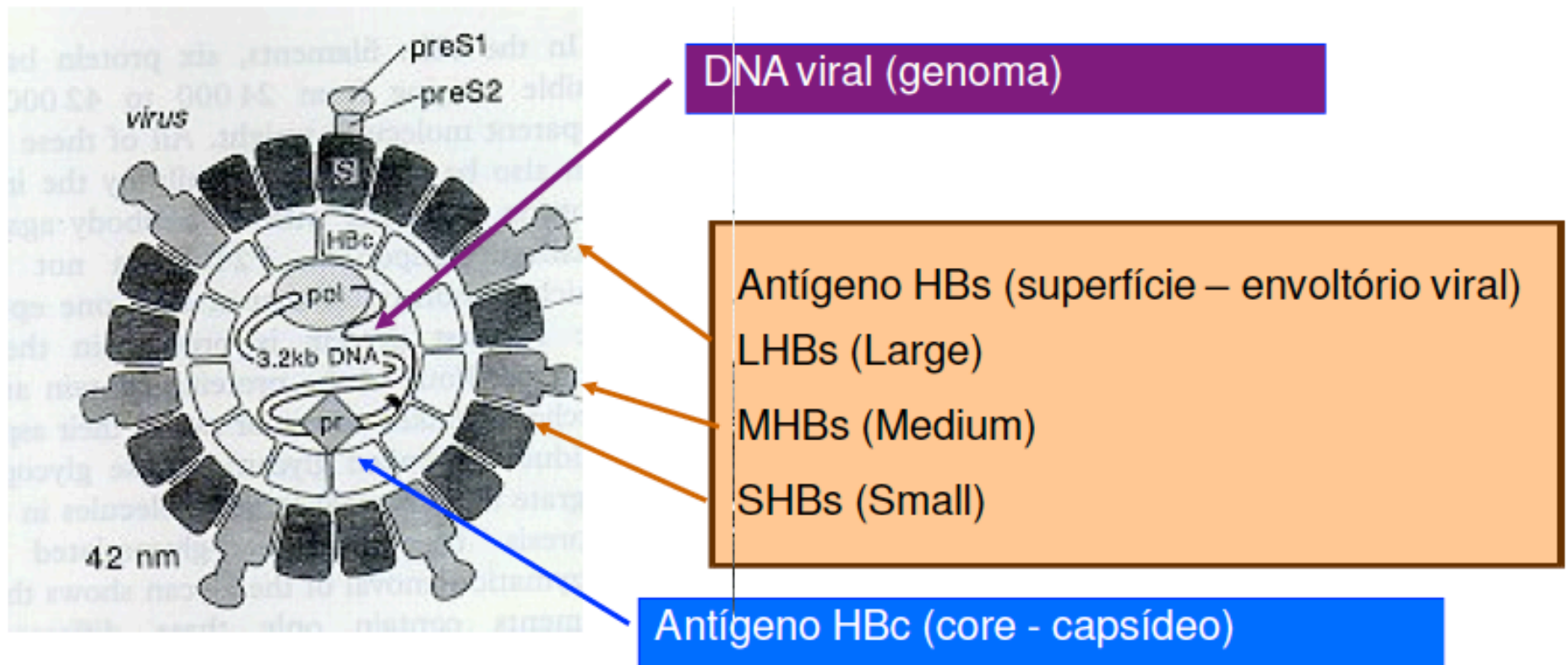
Tamanho 48-52 nm

Capsídeo esférico

Envoltório protéico



Estrutura da partícula viral infecciosa (Dane) e seus marcadores*

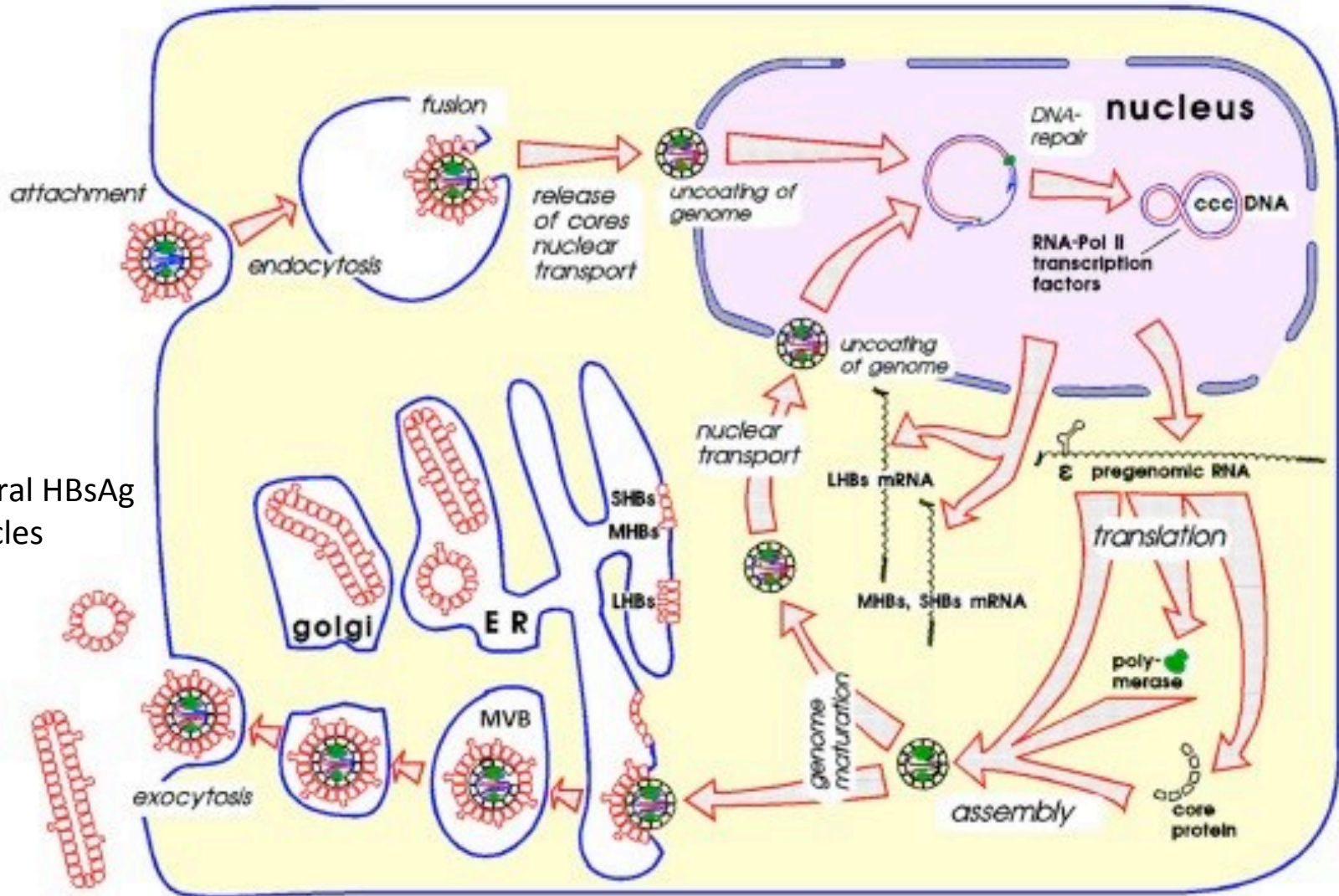


* Incluem também os anticorpos específicos

Ac anti-HBs, Ac anti-HBc, Ac anti-Hbe)

Life cycle of HBV

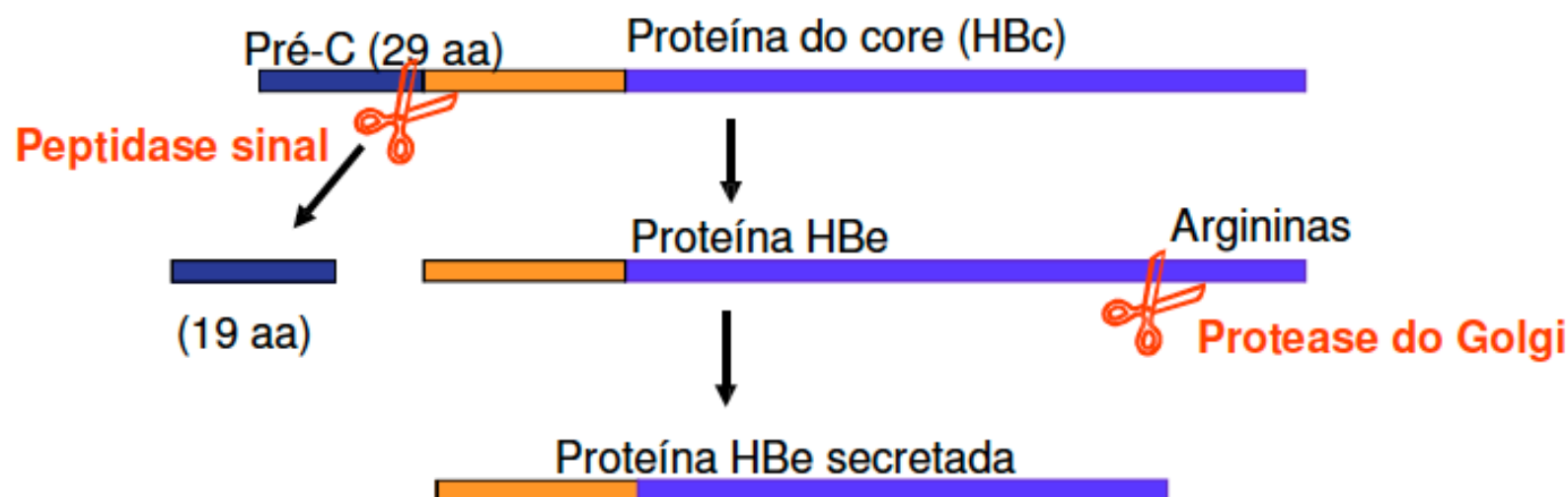
subviral HBsAg particles



covalently closed circular (ccc) DNA

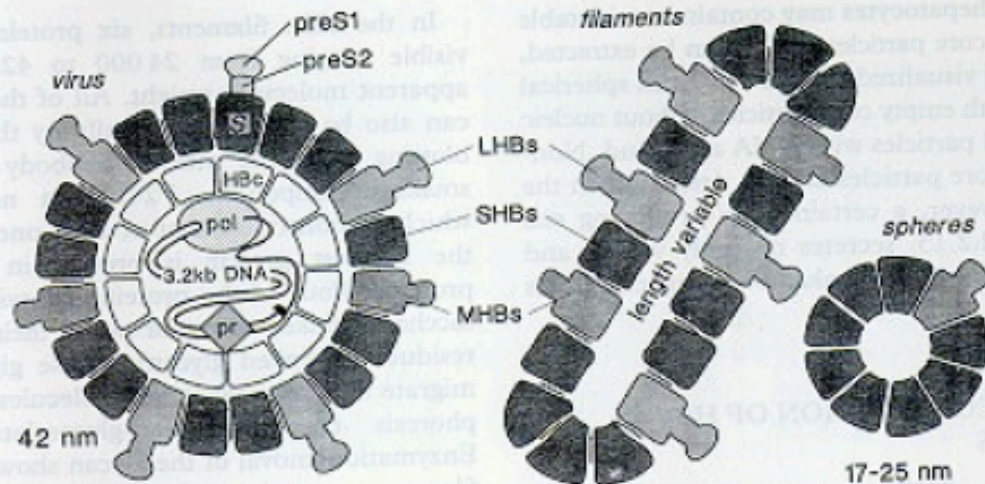
Estrutura da partícula viral infecciosa (Dane) e seus marcadores

Proteína não estrutural – Antígeno e (AgHBe)



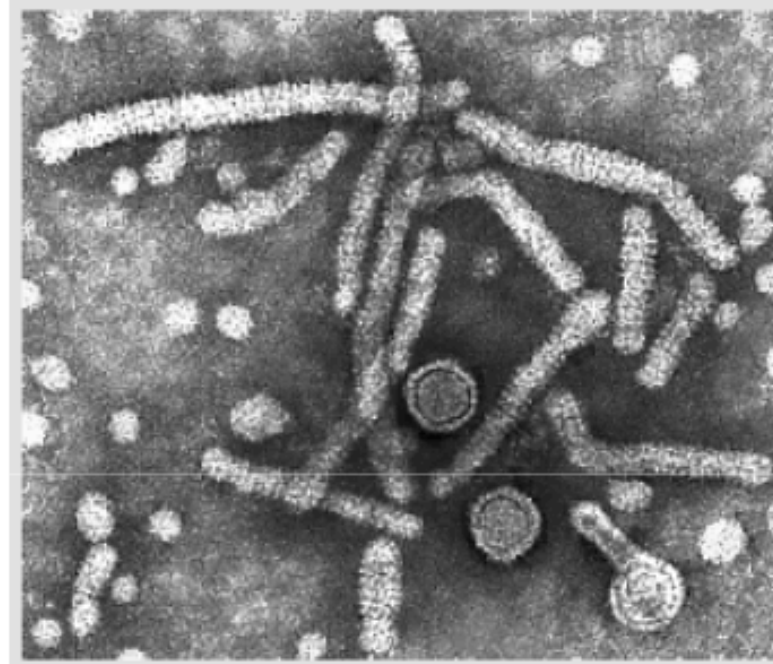
Indica
multiplicação viral
em andamento no
fígado

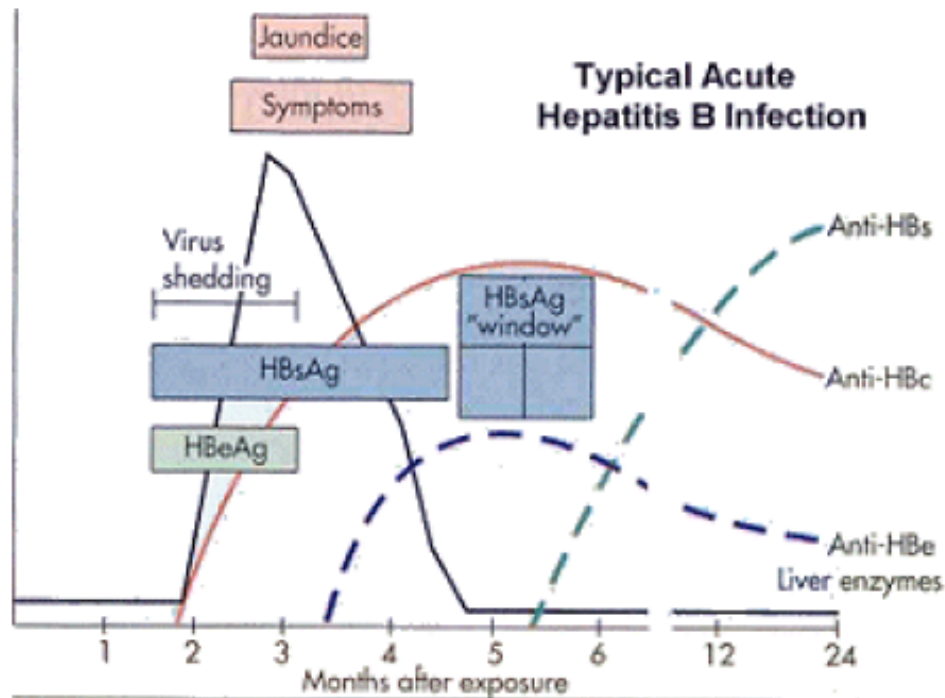
Tipos de partículas virais



Dane

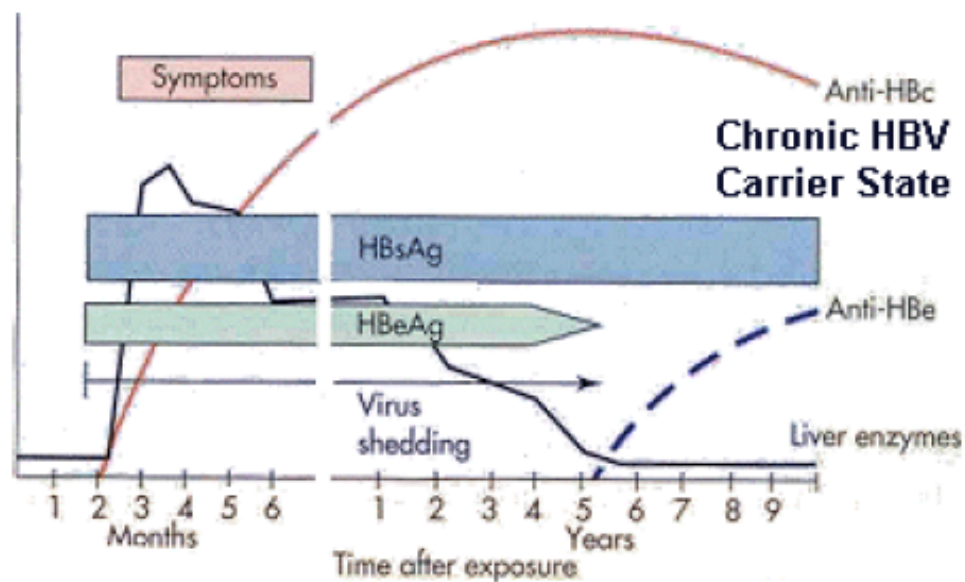
Filamentosas e
globulares





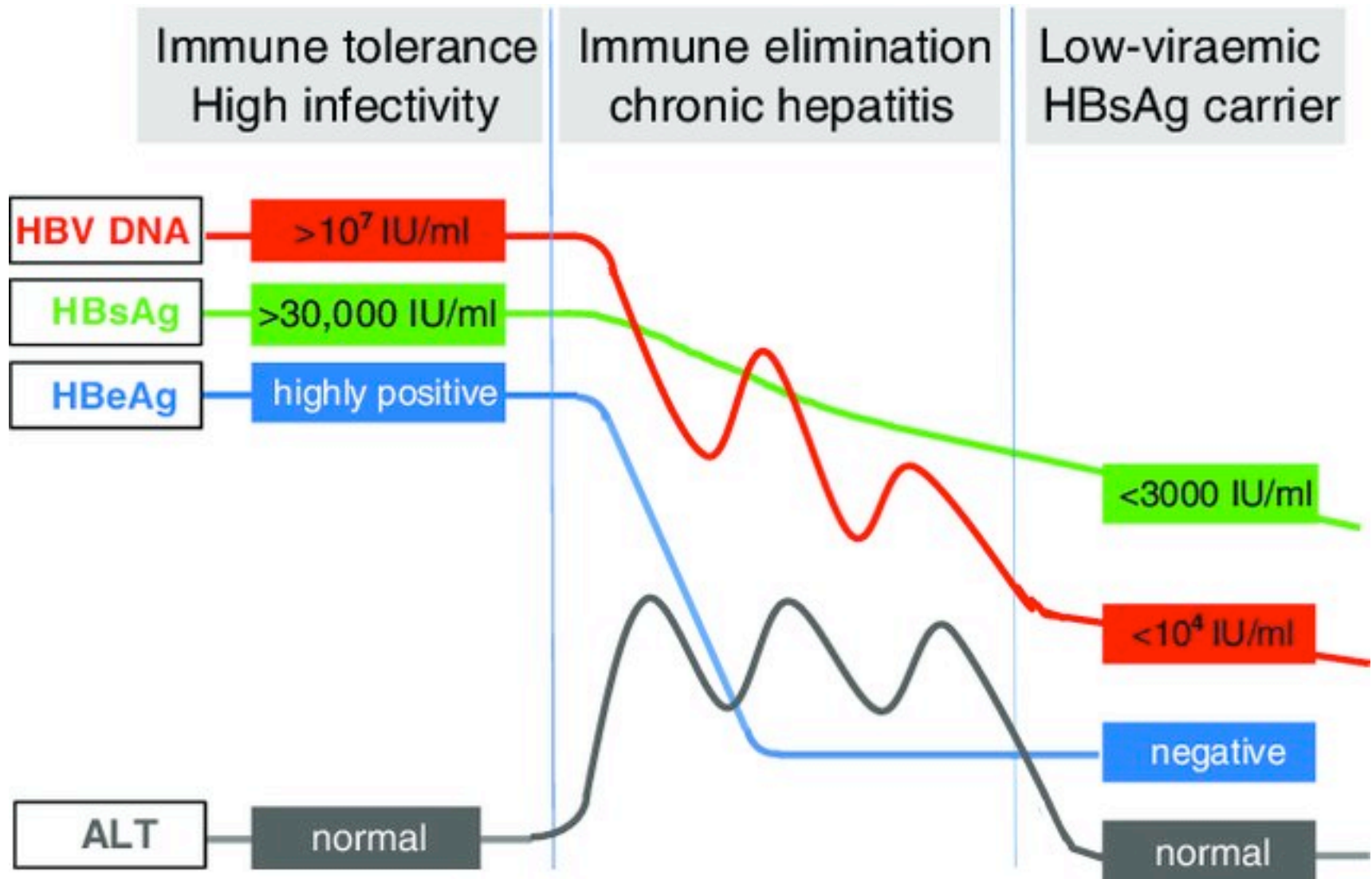
Evolução do quadro clínico baseado na análise dos marcadores virais

Infecção aguda



Infecção crônica

The three phases of chronic HBV infections.



Sangüínea:

- ➡ Uso de drogas injetáveis
- ➡ Transplantes e fatores coagulantes (VIII e IX)
- ➡ Hemodiálise
- ➡ Transfusão sangüínea (controle adequado)
- ➡ Profissionais da área de saúde - 1 a 2%
- ➡ Tatuagens e *piercings* - risco indeterminado



Sexual ➡ risco médio
dependente de outros fatores

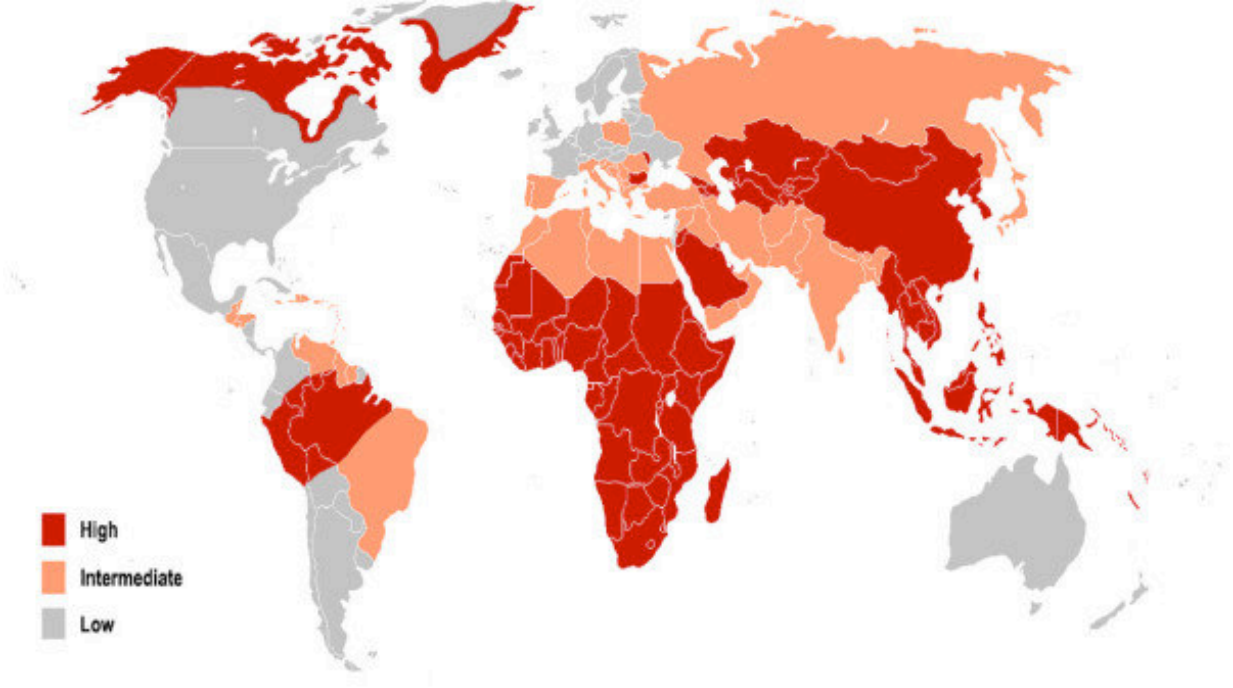
Perinatal ➡ parto (cesárea/normal)
(mães sabidamente positivas - risco 5 a 6%)
➡ aleitamento
(não documentado)

Contato

Pessoa-pessoa
Objetos pessoais e
utensílios
Saliva

Prevalence (top) and
genotype distribution
(bottom) of HBV
infections.

HBV subgenotype A2,
present in the most
popular hepatitis B
vaccines, is only prevalent
in the low endemic
regions of the Americas
and Europe. This means
that >99% of all HBV
carriers have other HBV
subgenotypes.



Vírus da Hepatite B

Inativação por agentes físicos e químicos

Agentes físicos:

Calor: Autoclavação a 121 °C por 20 min
Calor seco (estufa) 160 °C por 1 h.

Radiação: UV

Agentes químicos:

Hipoclorito de sódio (500 mg cloro livre por L) 10 min,
2% Glutaraldeído em T.A. por 5 min,
5% de formalina em água,
Álcool isopropílico a 70%
 β -propiolactone

<http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo20022/en/index2.html#stability>



Tratamento

Hepatite viral crônica B:

Interferon:

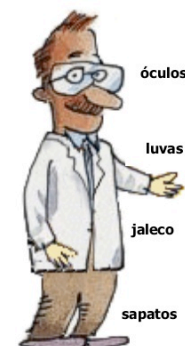
- interferon-alfa,
- peg-interferon-alfa (interferon peguilado)

Drogas antivirais:

- lamivudina,
- adefovir,
- entecavir,
- telbivudina
- tenofovir.

Equipameto de
Proteção Individual
(EPI)

Proteção da saúde
e integridade física
do trabalhador



Profilaxia Hepatite B

Administração de gamaglobulina

Vacinação

Uso de preservativos

Cuidados no consultório

Atenção às Normas de Biossegurança

Uso de EPI

Vírus da Hepatite C (HCV)

Família *Flaviviridae*

Gênero *Hepacivirus*

Espécie: Hepatite C vírus

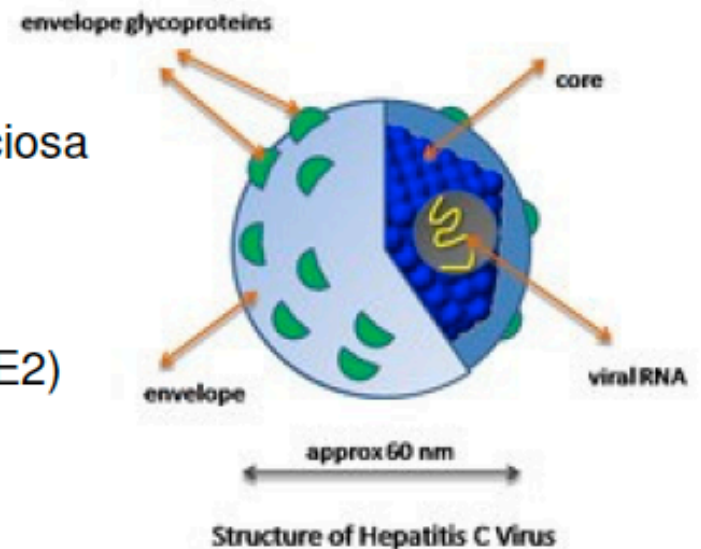
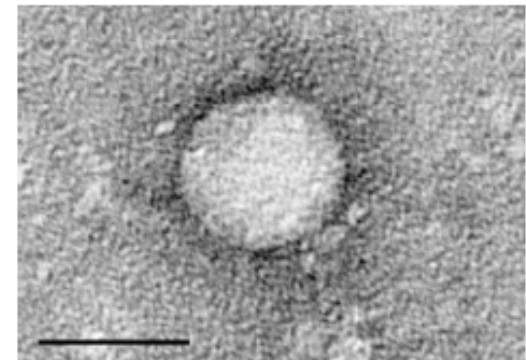
Genótipos 1 a 11

Alta variabilidade genética

Vírus RNA fita simples positiva infecciosa

Tamanho de 55 a 65 nm

Com envoltório (glicoproteínas E1 e E2)



Vírus da Hepatite C (HCV)

Inativação por agentes físicos e químicos

- exposição a solventes lipídicos
- Temperatura 60 °C por 10 h ou
 100 °C por 2 min em solução aquosa
- formaldeído (1:2000) a 37 °C por 72 h
- β -propiolactona
- radiação UV

<http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo2003/en/index2.html#morphology>



Vírus da Hepatite C (HCV)

Alta cronicidade

Maioria das infecções subclínicas

Diagnóstico laboratorial (RT-PCR)

Não ocorre transmissão por vetores como na febre amarela

Não há vacina



Vírus da Hepatite C (HCV)

Tratamento clássico:

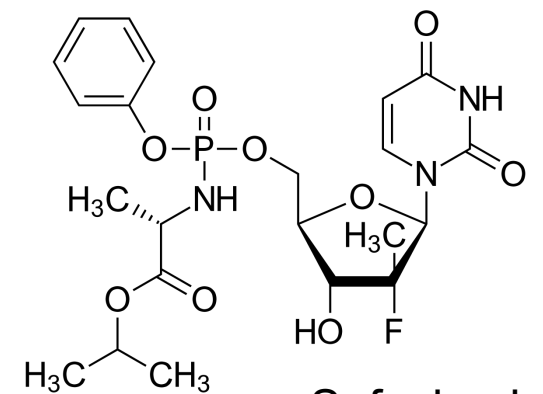
Interferon- α tratado com PEG (“pegylated interferon- α)
+
Ribavirina

Tipos 1 e 4 (mais resistentes) - duração de 48 semanas

Tipos 2 e 3 e demais – duração de 24 semanas

Profilaxia

Idem para Hepatite B



Sofosbuvir

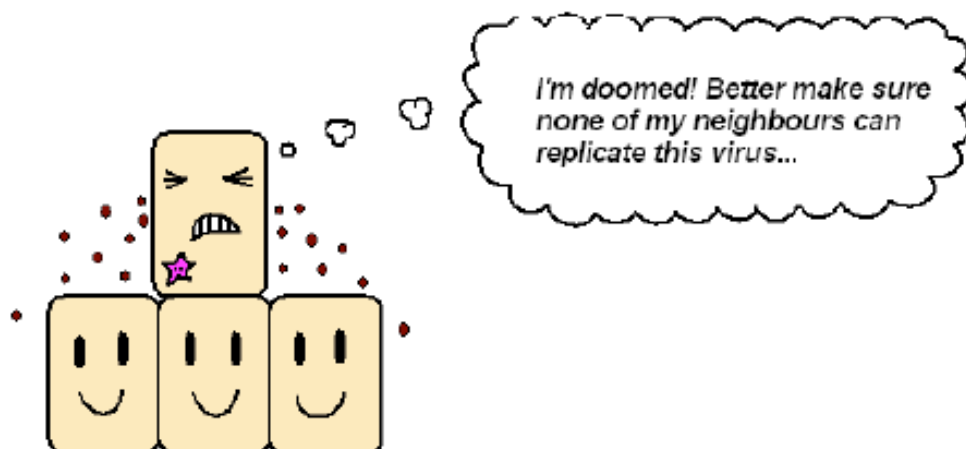
Interferons

são glicoproteínas produzidas por células infectadas por vírus.

três tipos:

- alfa, produzido por linfócitos B e monócitos,
- beta, por fibroblastos
- gama, por linfócitos T-helper e NK.

O **interferon-alfa-2b** (IFN-alfa) age diretamente contra o vírus e também aumenta a resposta imune (tem atividade antiviral, antiproliferativa e imunomoduladora).



Agente da Hepatite D - vírus satélite

- ❖ Genoma: RNA fita simples circular - 1,7 kb
ribozyme - autoclivagem e re-ligação
- ❖ Envoltório protéico: AgHBs (VHB)
- ❖ Antígeno específico: AgHD (nucleoproteína)
2 formas: P24 (fase aguda) e P27 (fase crônica)

Infecção:

- ❖ Co-infecção: HBV/VHD
- ❖ Super-infecção:
HBV pré-existente nos hepatócitos

Hepatite fulminante

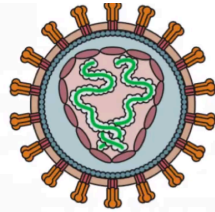


Efeito citotóxico da proteína P24
no núcleo do hepatócito.

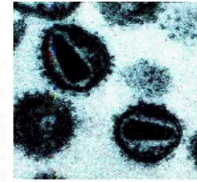


Parte 2

HIV como modelo de patogênese
viral

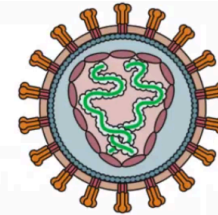


HIV is a lentivirus



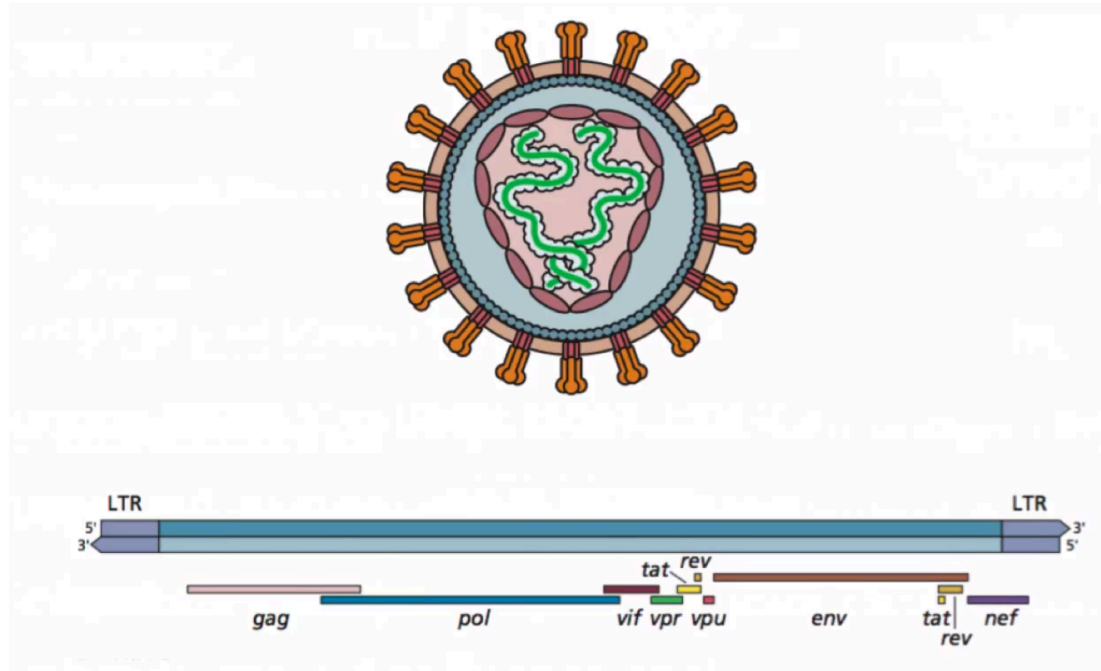
- First isolated in 1983 from the lymph node of a patient with lymphadenopathy in Paris; 2008 Nobel to Montagnier & Barré-Sinoussi
- 1984 blood test developed
- Electron microscopy and sequence analysis revealed HIV to be a lentivirus, known group of retroviruses

Retroviridae



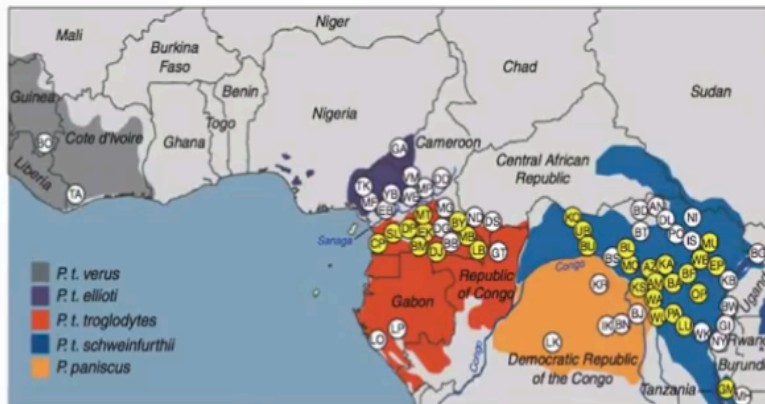
- *Orthoretrovirinae* (subfamily)
 - *Alpharetrovirus* (*Avian leukosis virus*)
 - *Betaretrovirus*
 - *Gammaretrovirus*
 - *Deltaretrovirus* (*Human T cell lymphotropic virus 1, 2, 3*)
 - *Epsilonretrovirus* (*Walleye dermal sarcoma virus*)
 - *Spumavirus*
 - *Lentivirus* (*Human immunodeficiency virus 1, 2*)

Mapa físico do HIV-1. Genoma de um retrovírus complexo.



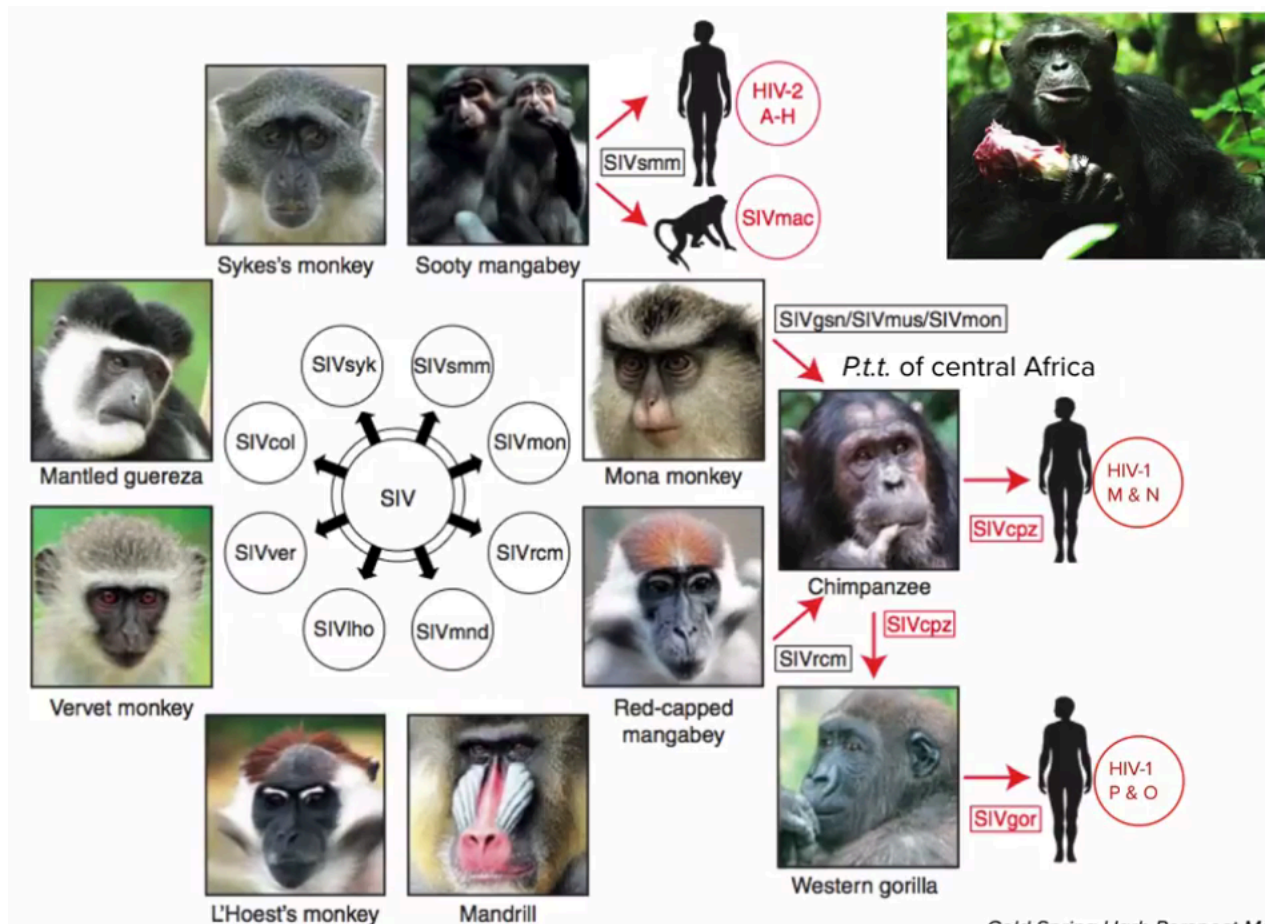
What was the source of HIV-1?

- SIV first isolated from chimpanzee in 1989 (SIVcpz)
- Analysis of >7,000 chimpanzee fecal samples from 90 field sites confirmed natural SIVcpz reservoir
- Only *Pan troglodytes troglodytes* and *P. T. schweinfurthii* harbor SIVcpz



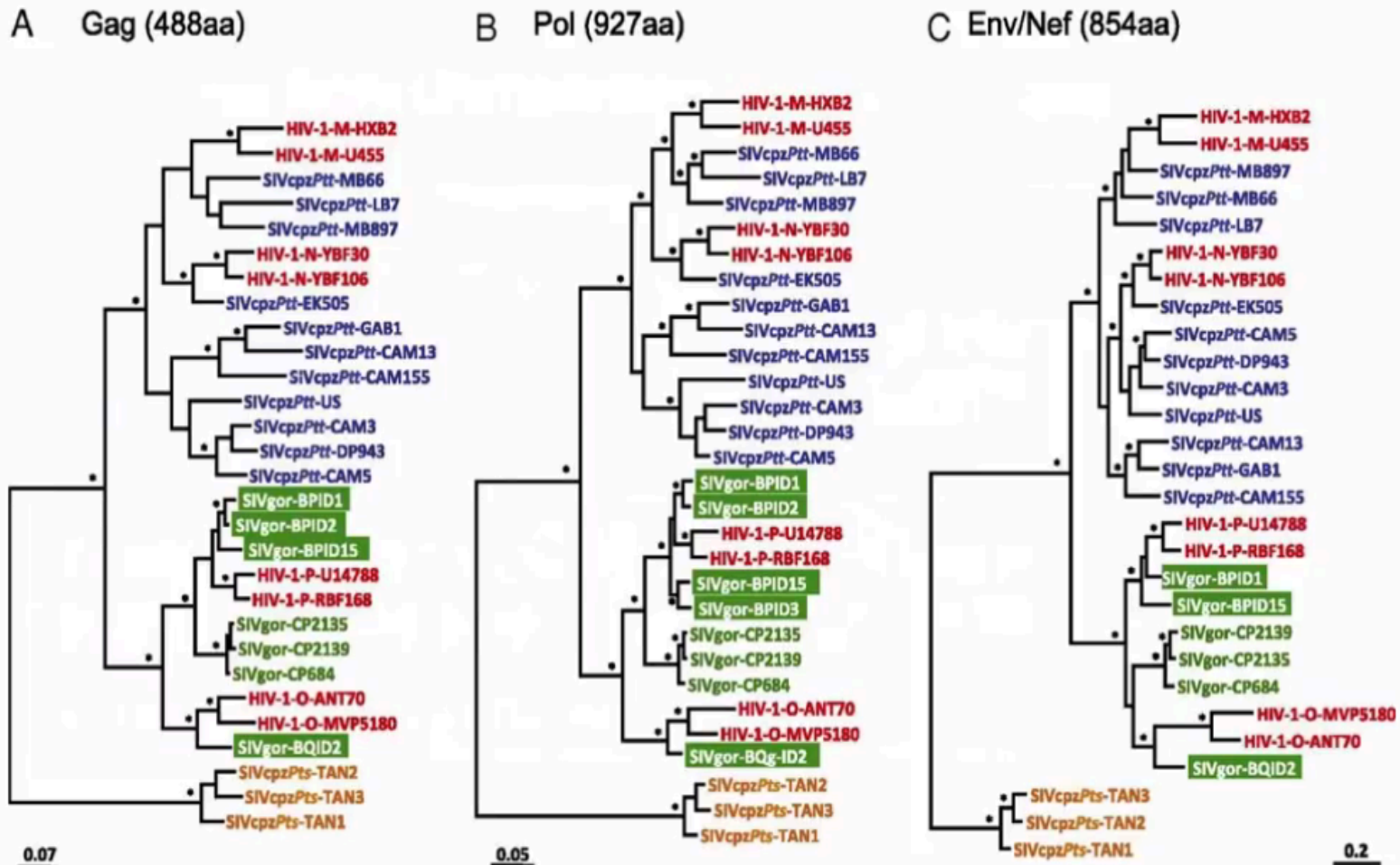
Urina e fezes foram usadas para isolar SIVcpz pela Beatrice Han. Pontos amarelos são positivos por SIV. O mais próximo do HIV foi o do Congo (área vermelha no Oeste da África).

HIV: de zoonoze para pandemia

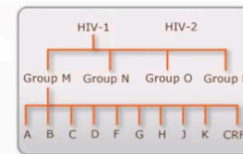


Macacos do velho mundo infectados há muito tempo por SIVs. SIVcpz (HIV-1) é um recombinante entre Mona nonkey SIV e o Red-capped mangabey SIV. P&O são infrequentes em humanos e vem do SIVcpz de gorila. M&N, P&O são 4 introduções independentes em humanos.

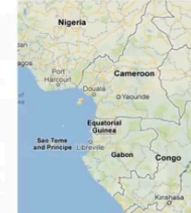
Quatro ramos (taxa em vermelho) indicam as entradas independentes do SIV em humanos



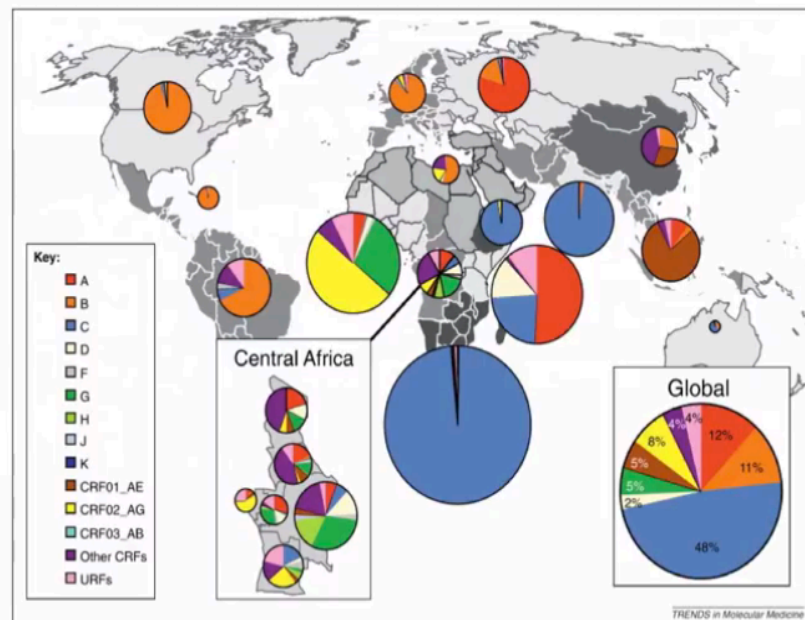
HIV-1 diversity



- Four groups based on sequence alignment
- Group M (main): 99% of all HIV-1 infections
- Group O (outlier): <1% of infections, limited to Cameroon, Gabon, neighboring countries
- Group N: Only 13 cases, Cameroon
- Group P: Only 2 cases, Cameroon
- *Each from an independent transmission event of SIV to humans*

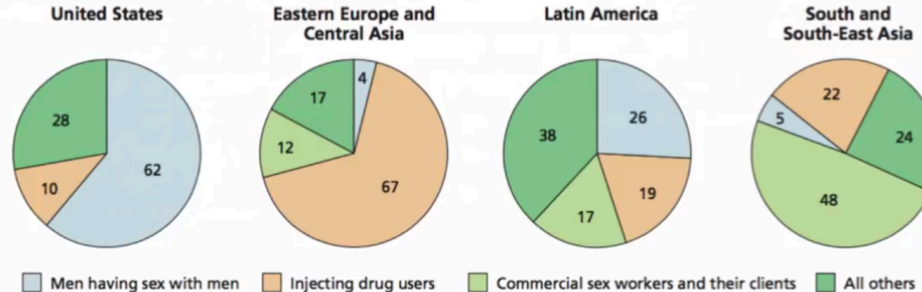


- Subtype C (50%), B and A (10-12%), G (6%), CRF02_AG (5%), CRF01_AE (5%), D (2.5%) of all HIV-1 infections
- Subtypes F, H, J, K limited transmission (<1%)



Transmission

- HIV is not a particularly infectious virus, not contagious like measles virus (R_0 2-5)
- Not spread by respiratory, alimentary, or vector routes



Isolation of infectious HIV-1 from body fluids

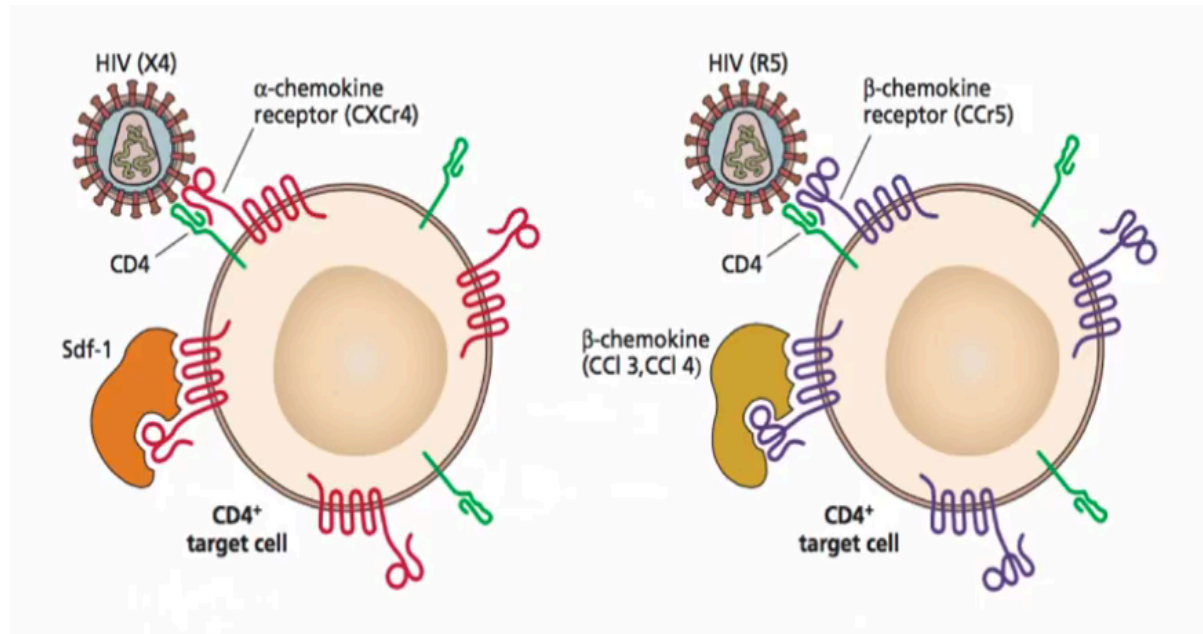
Risk of transmission of HIV-1

Mode	Risk
Sexual transmission	
Female-to-male	1 in 700 to 1 in 3,000
Male-to-female	1 in 200 to 1 in 2,000
Male-to-male	1 in 10 to 1 in 1,600
Parenteral	
Transfusion of infected blood	95 in 100
Needle sharing	1 in 150
Needle stick	1 in 200
Needle stick /AZT PEP	1 in 10,000
Mother to infant	
Without AZT	1 in 4
With AZT	<1 in 10

Fluid	Virus isolation ^b	Estimated quantity of virus ^c
Cell-free fluid		
Cerebrospinal fluid	21/40	10–10,000
Ear secretions	1/8	5–10
Feces	0/2	None detected
Milk	1/5	<1
Plasma	33/33	1–5,000 ^d
Saliva	3/55	<1
Semen	5/15	10–50
Sweat	0/2	None detected
Tears	2/5	<1
Urine	1/5	<1
Vaginal-cervical	5/16	<1
Infected cells		
Bronchial fluid	3/24	Not determined
PBMC	89/92	0.001–1% ^d
Saliva	4/11	<0.01%
Semen	11/28	0.01–5%
Vaginal-cervical fluid	7/16	Not determined

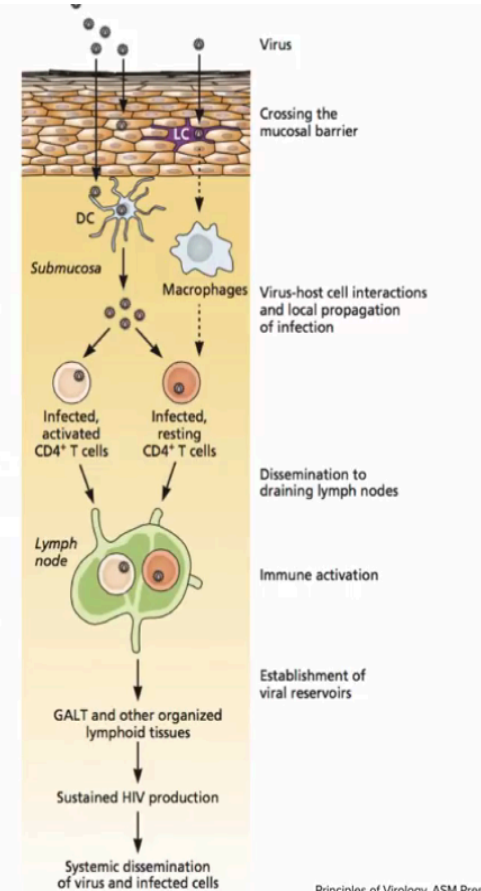
Primary HIV Infection: Clinical characteristics

- 50-90% of infections are symptomatic
- Symptoms generally occur 5-30 days after exposure
- Symptoms and signs
 - Fever, fatigue, malaise, arthralgias, headache, nausea, vomiting, diarrhea
 - Lymphadenopathy, pharyngitis, rash, weight loss, mucocutaneous ulcerations, aseptic meningitis
 - Leukopenia, thrombocytopenia, elevated liver enzymes
- Median duration of symptoms: 14 days



Primary HIV Infection

- Virus-dendritic cell interaction (no activation)
 - Infection typically with CCR5 binding strains
 - Importance of DC-SIGN (dendritic cell-specific, Icam-3 grabbing nonintegrin)
- Delivery of virus to lymph nodes
- Active replication in lymphoid tissue
- High levels of viremia and dissemination
- Down-regulation of virus replication by immune response
- Viral set point reached after ~6 months

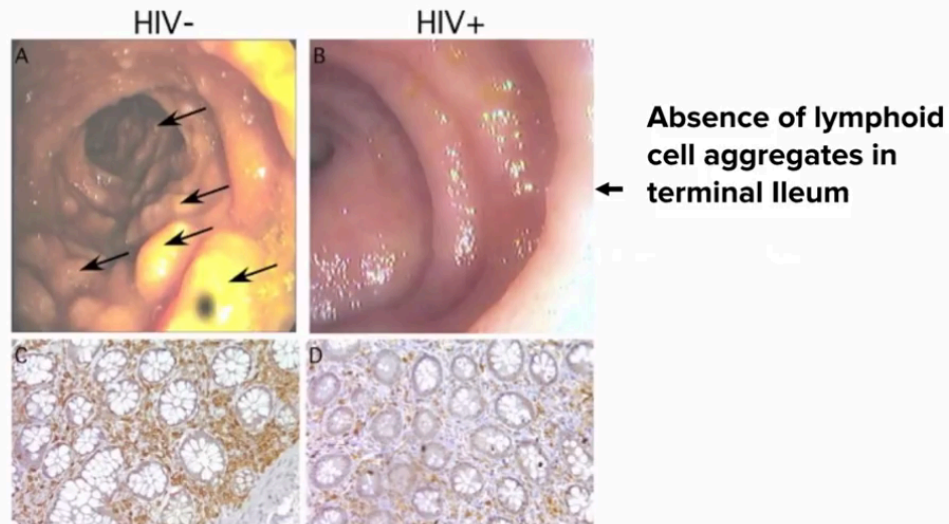


Vírus introduzido no sangue e faz contato com DC-SIGN (integrina específica de células dendríticas). As integrinas são proteínas de adesão presentes na membrana celular inseridas de forma transmembrânica, com uma extremidade externa que se liga a componentes da matriz e outra extremidade que se liga, através da proteína talina à porção do citoesqueleto constituído de actina. GALT “gut-associated lymphatic tissue”

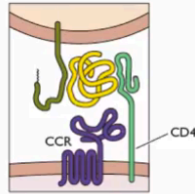
Primary HIV Infection: Clinical characteristics

- 50-90% of infections are symptomatic
- Symptoms generally occur 5-30 days after exposure
- Symptoms and signs
 - Fever, fatigue, malaise, arthralgias, headache, nausea, vomiting, diarrhea
 - Lymphadenopathy, pharyngitis, rash, weight loss, mucocutaneous ulcerations, aseptic meningitis
 - Leukopenia, thrombocytopenia, elevated liver enzymes
- Median duration of symptoms: 14 days

GI associated lymphoid tissue following acute infection



Host genes that determine susceptibility

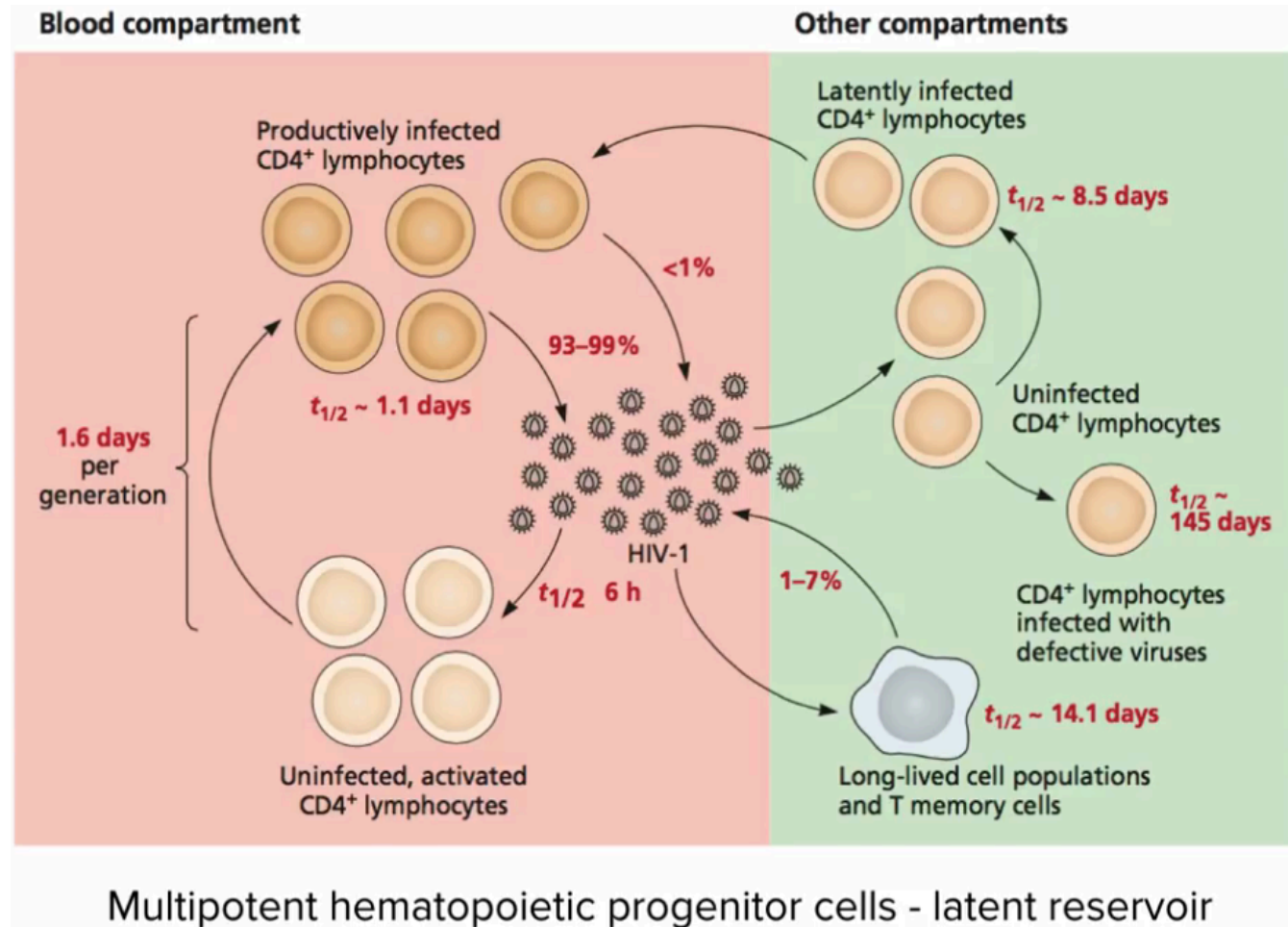


- Ccr5-delta32 mutation protects vs HIV-1 infection
- Present in 4-16% of European descent
- Stem cell therapy cured German AIDS patient (<http://www.virology.ws/2014/09/06/the-berlin-patient/>)
- Disrupting *ccr5* with nucleases, crispr/cas

Established HIV Infection

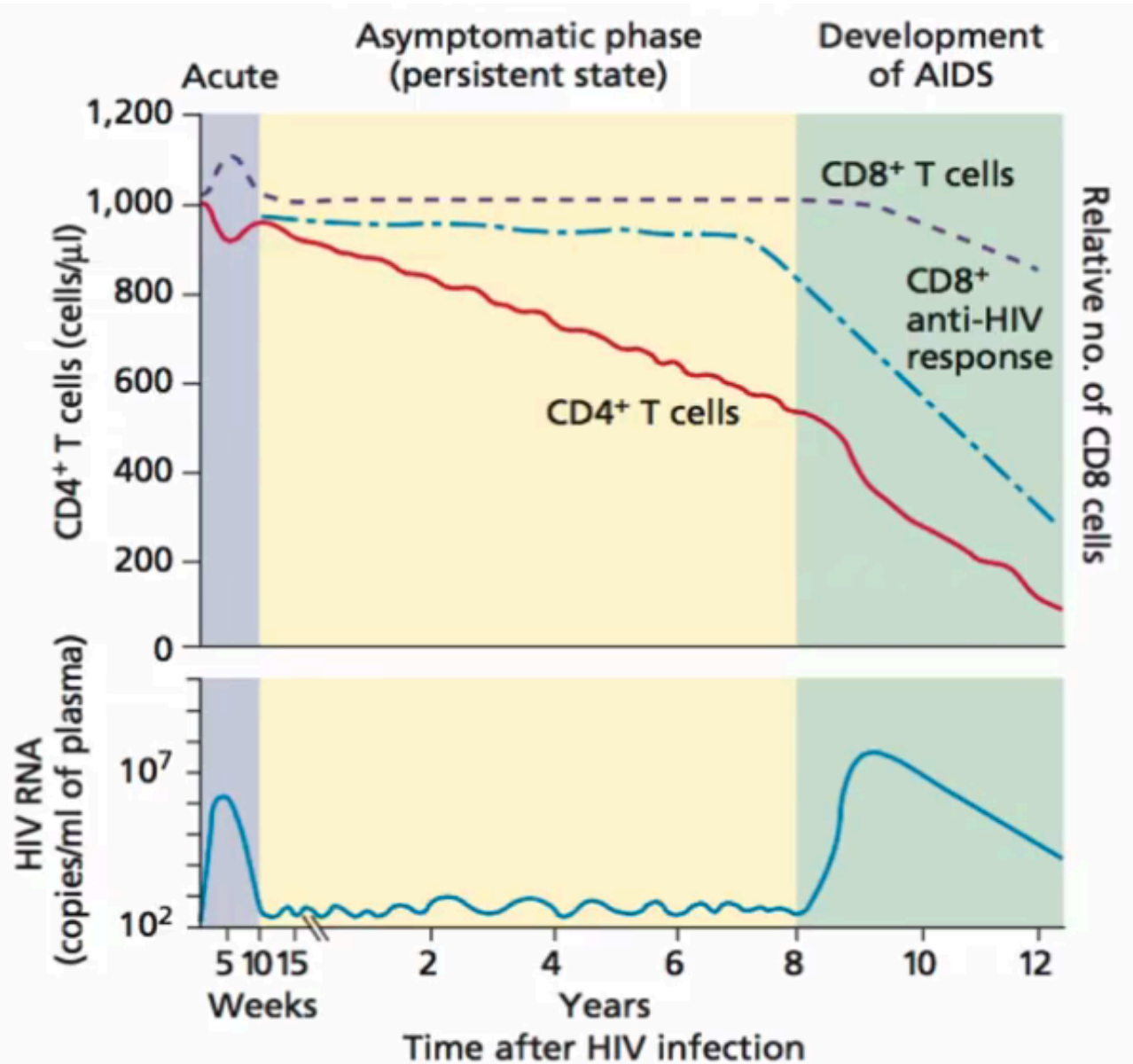
- Active viral replication throughout course of disease
- Major reservoirs of infection exist outside of blood
 - Lymphoreticular tissues (Gastrointestinal tract - GALT)
 - Central nervous system
 - Genital tract
- At least 10×10^9 virions produced and destroyed each day
- $T_{1/2}$ of HIV in plasma is <6 h and may be as short as 30 min

Santuários & Reservatórios

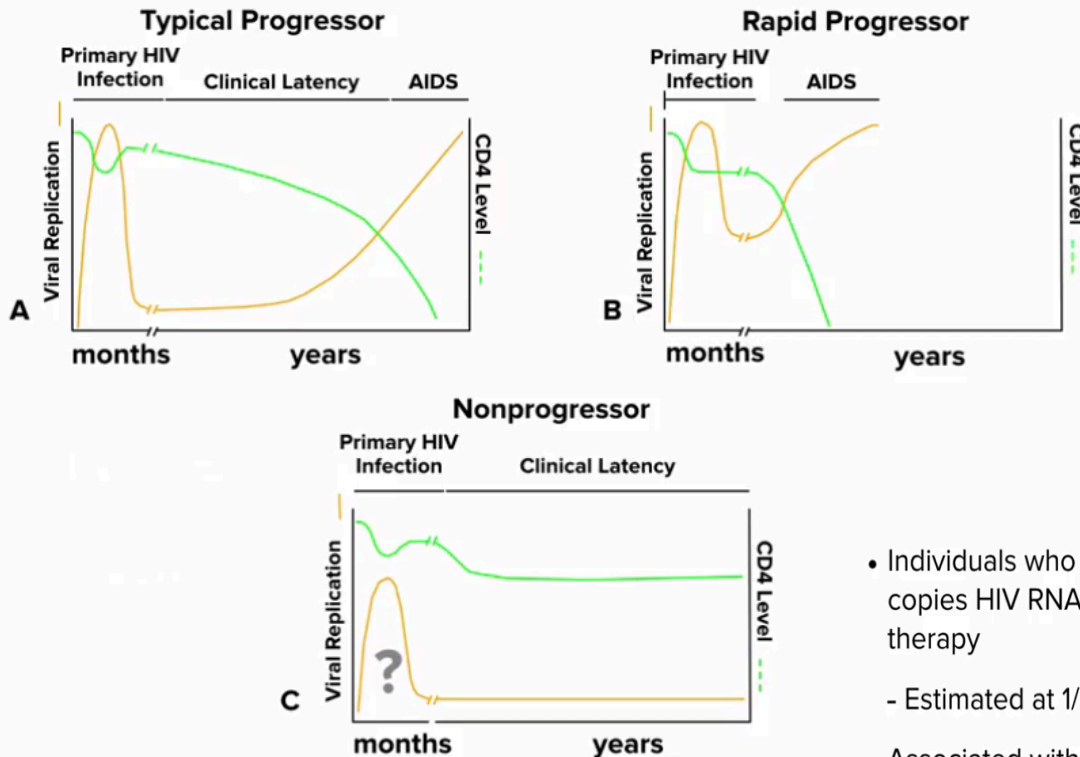


HIV-1 replica em linfócitos CD4⁺ células ativadas. Outros compartimentos são infectadas como: (i) o tecido linfóide associado ao intestino e (ii) células de memória que residem na medula e podem manter infecção latente por HIV-1 pela vida toda do portador.

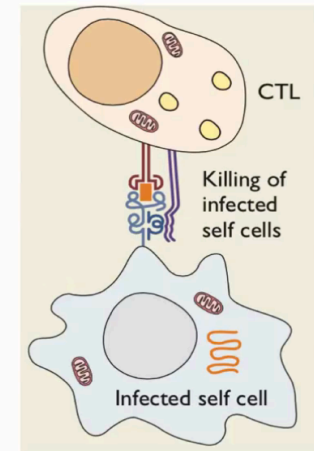
Progressão



The variable course of HIV-1 infection



Virus susceptibility mapping to MHC



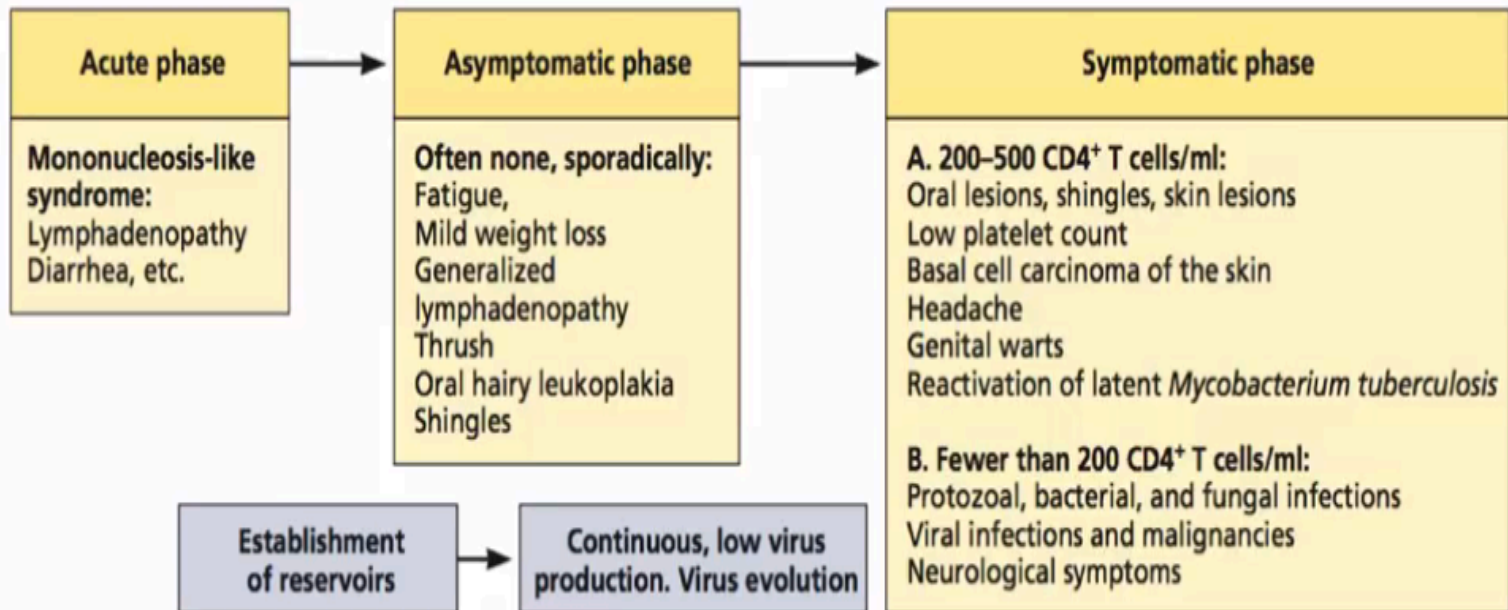
Elite HIV Controllers

- Individuals who maintain normal CD4 counts and undetectable viral loads (1-30 copies HIV RNA/ml of plasma) for >10 years in the absence of antiretroviral therapy
 - Estimated at 1/300 infected persons
- Associated with favorable HLA (MHC) types (esp HLA B57 and B27) and T-cell responses (CD4 and CD8) to Gag
- Not associated with attenuated viruses

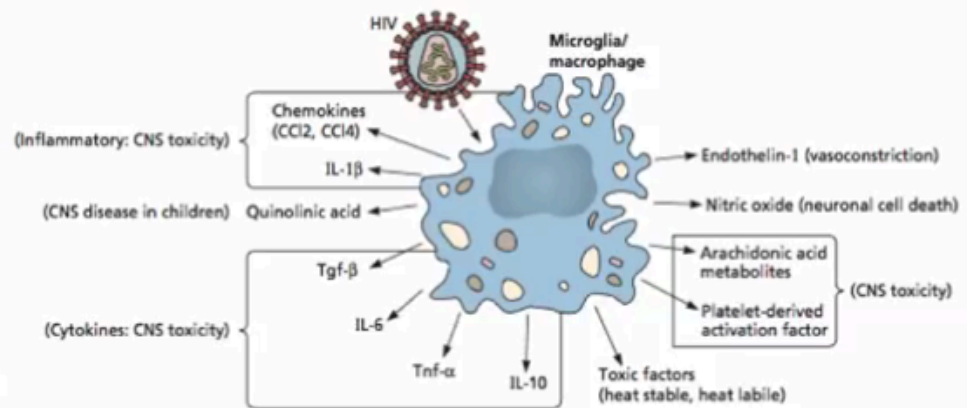
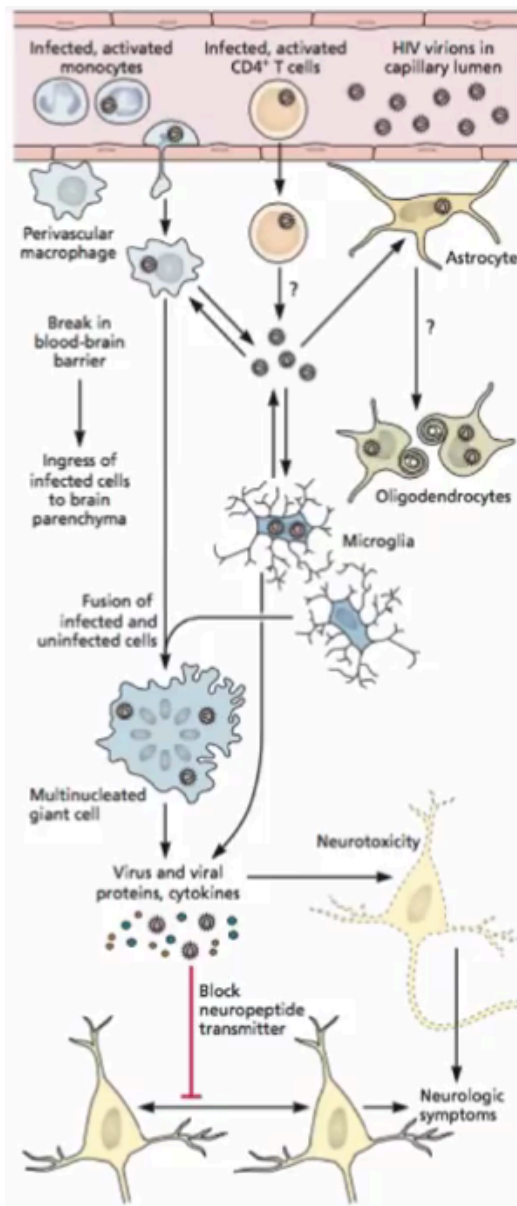
Sistema antígeno leucocitário humano HLA (sigla em inglês: Human leukocyte antigen), é um complexo genético que codifica o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) humano. Situa-se no locus 21 do braço curto (p) do Cromossoma 6. Os genes HLA são altamente polimórficos (diversificados em forma e com muitos alelos diferentes) permitindo a grande especificidade do sistema imune adaptativo.

AIDS

- <200 CD4⁺ T cells/ml
- Protozoal: *Pneumocystis*, *Toxoplasma*, *Isospora*, *Cryptosporidium*, microsporidia
- Bacterial: *Mycobacterium*, *Treponema*
- Fungal: *Candida*, *Cryptococcus*, *Histoplasma*
- Viral: CMV, HSV
- Immune activation: HIV replicates better in activated T cells
- Malignancies: EBV lymphoma, Kaposi's sarcoma, anogenital carcinoma
- Neurological symptoms: aseptic meningitis, myelopathies, neuropathies, AIDS dementia complex



Neurological symptoms



Monócitos e linfócitos T ativados e infectados passam pela barreira hematocefálica. Liberam partículas virais que podem infectar astrócitos e talvez oligodendrócitos.

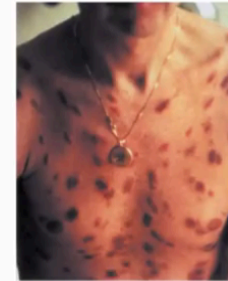
Monócitos fundem com célula da micróglia formando células gigantes multinucleadas.

Neurônios não são infectados mas sofrem neurotoxicidade, bloqueio de neuro transmissores peptídicos e morte causados por partículas virais, proteínas virais e citocinas infectadas.

HIV and cancer

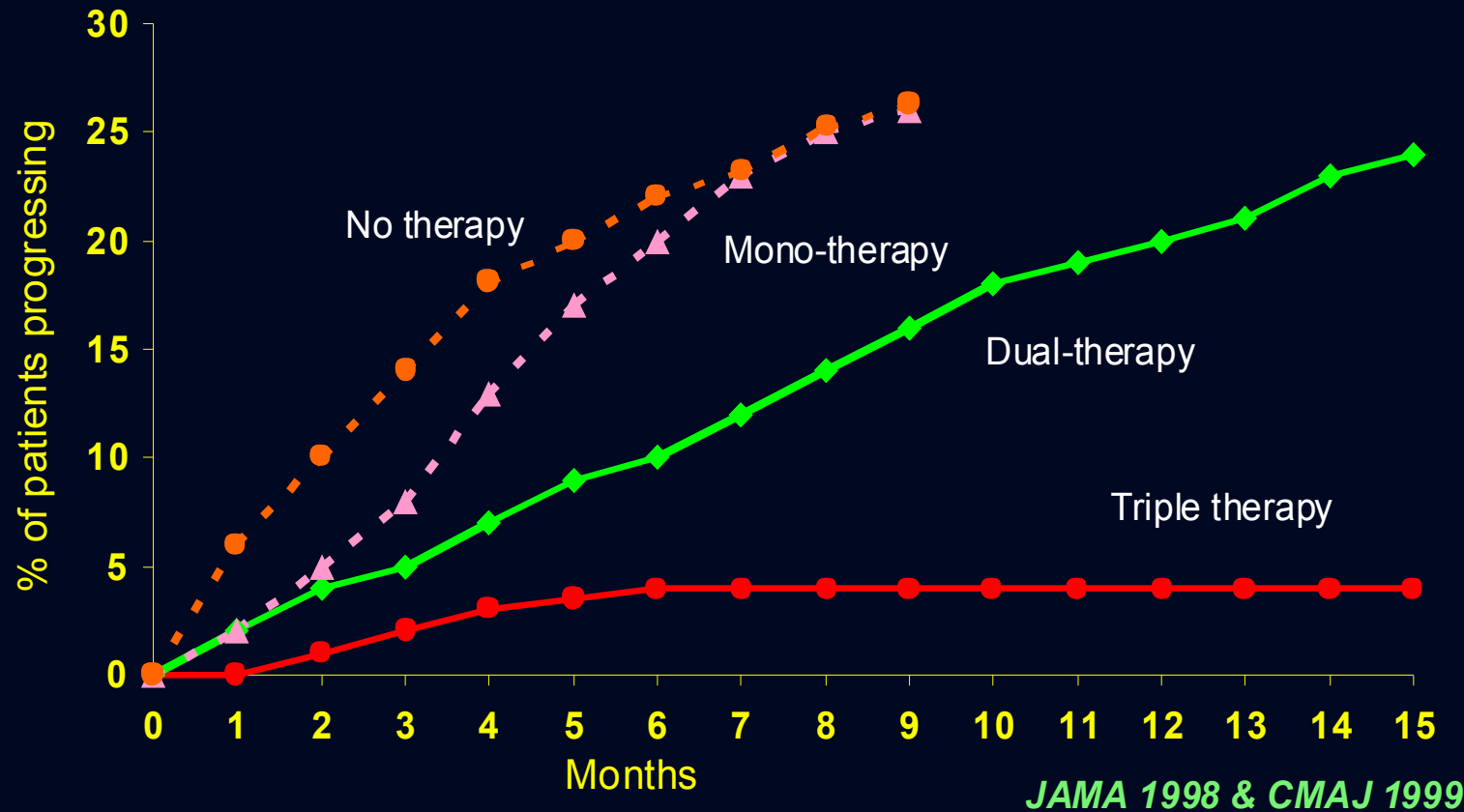
- HIV-1 infection leads to increase incidence of malignancy: 40% of infected individuals
- An indirect effect of dysregulation of the immune system
 - Absence of proper immune surveillance
 - High levels of cytokines leads to inappropriate cell proliferation, replication of oncogenic viruses (EBV, HHV8, HPV), angiogenesis

Kaposi's sarcoma

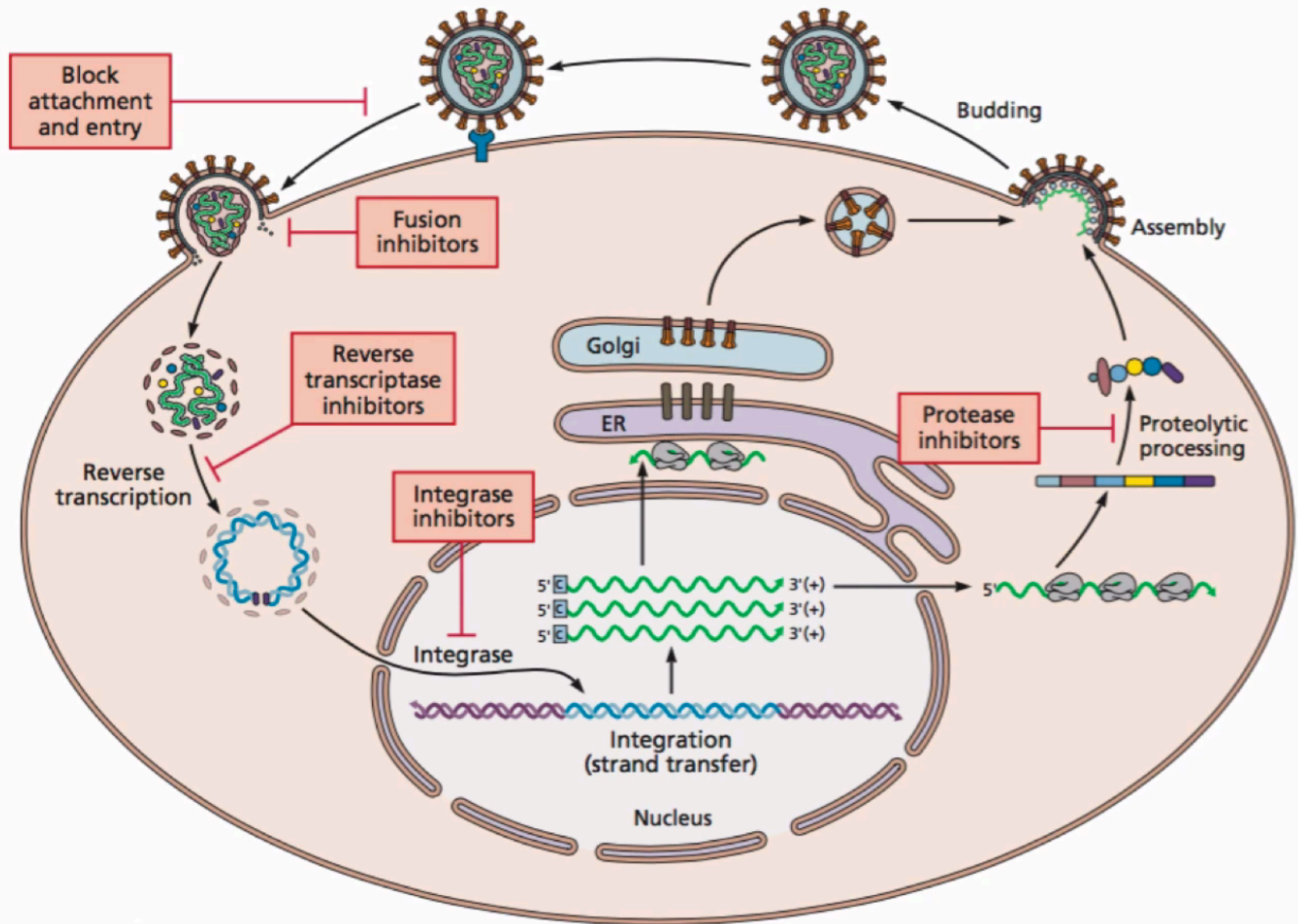


- Described 1872 by Hungarian physician
- Pre-AIDS: mainly in older Mediterranean men
- Occurs in 20% of HIV-1 infected homosexual men, 2% of HIV-1 infected women, transfusion recipients
- Infection with human herpesvirus 8 is necessary for development of KS

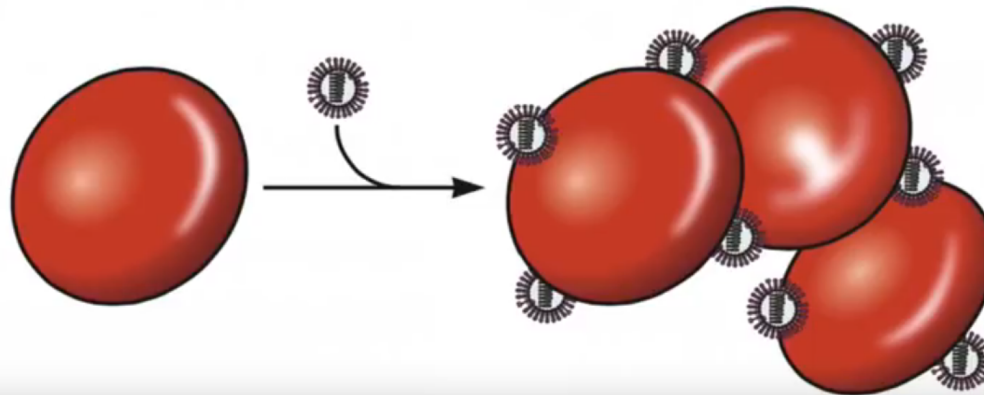
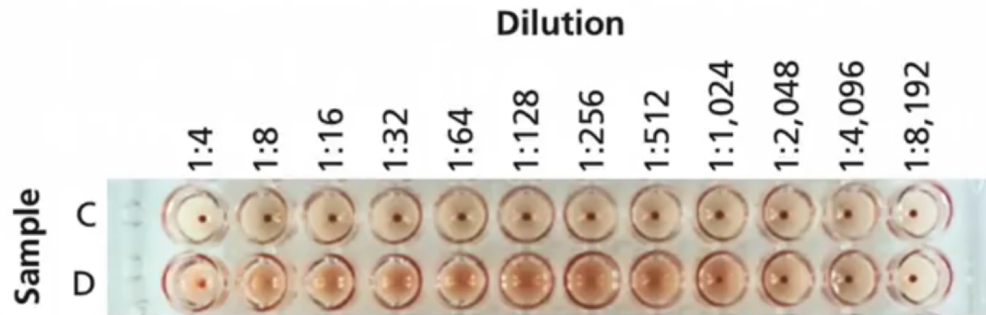
PROGRESSION TO AIDS/DEATH



Targets for intervention: HIV replication



Hemagglutination



- Primeiro ensaio quantitativo para detecção viral (neste ensaio o vírus da gripe liga-se a açúcares na superfície de hemácias).
- O título é 512 unidades de hemoaglutinação. Veja que a 1:1024 forma-se um pellet de hemácias como nos controlos sem vírus.
- No primeiro poço (1:4) o gene N (neuroaminidase) libera os vírus das hemácias e impede a hemoaglutinação.

Até logo!!!!!!

pzanotto@usp.br