

VIROLOGIA

Envelope

VIRUS A DNA		VIRUS A RNA		
ss	ds	ss (-)	ss (+)	ds
Parvovirus	Adenovirus	Orthomyxovirus	Togavirus	Reovirus
	Poxvirus	Paramyxovirus	Picornavirus	
	Papovavirus	Rabdovirus	Flavivirus	RETROVIRUS ssRNA (+) HIV
	Herpesvirus	Bunyavirus	Calicivirus	
	Hepadnavirus	Arenavirus	Astrovirus	
		Filovirus	Coronavirus	
			HEV	

PATOLOGIA

Parvovirus	V ^o Malattia (B19)
Adenovirus	Sindrome alle alte vie respiratorie
Poxvirus	Vaiolo
Papovavirus	<ul style="list-style-type: none"> - HPV → Tumore al collo dell'utero - Polyomavirus: - BKV → Cistite emorragica <li style="padding-left: 20px;">- JCV → Leucoencefalopatia multif. progressiva
Herpesvirus	<ul style="list-style-type: none"> - α (HSV1, HSV2, VZV) → herpes, varicella - β: - CMV → problemi per chi ha AIDS e gravidanza in corso <li style="padding-left: 20px;">- HHV6 e 7 → VI^o malattia - γ: - EBV → mononucleosi infettiva <li style="padding-left: 40px;">→ latenza nei linfociti B (tumore) - HHV8 → Sarcoma di Kaposi in pazienti con HIV
Orthomyxovirus	Influenza
Paramyxovirus	<ul style="list-style-type: none"> - Pneumovirus → virus respiratorio sinciziale - Paramyxo → parainfluenza <li style="padding-left: 20px;">→ parotite <li style="padding-left: 20px;">→ morbillo
Togavirus	Rosolia
Zoonosi DIRETTA	<ul style="list-style-type: none"> - Rabdovirus → rabbia - Arenavirus → febbre di Lassa <li style="padding-left: 20px;">→ coriomeningite linfocitaria - Bunyavirus → Hantavirus → febbre emorragica - Filovirus → Ebola <li style="padding-left: 20px;">→ Marburg
Zoonosi INDIRETTA	<ul style="list-style-type: none"> - Arbovirus (encefaliti) → α-togavirus <li style="padding-left: 20px;">→ flavivirus (West Nile) <li style="padding-left: 20px;">→ bunyavirus (Toscana) - Arbovirus (febbri emorragiche) → flavi virus → febbre gialla <li style="padding-left: 20px;">→ Dengue
V. Gastroenteriti	<ul style="list-style-type: none"> - Reovirus - Calicivirus - Astrovirus
Coronavirus	SARS nel 2003
Picornavirus	<ul style="list-style-type: none"> - Enterovirus → poliomielite <li style="padding-left: 20px;">→ coxackie A (lesioni vescicolari) <li style="padding-left: 20px;">→ coxackie B (miocarditi e pleurodinia) <li style="padding-left: 20px;">→ echovirus (meningite asettica)

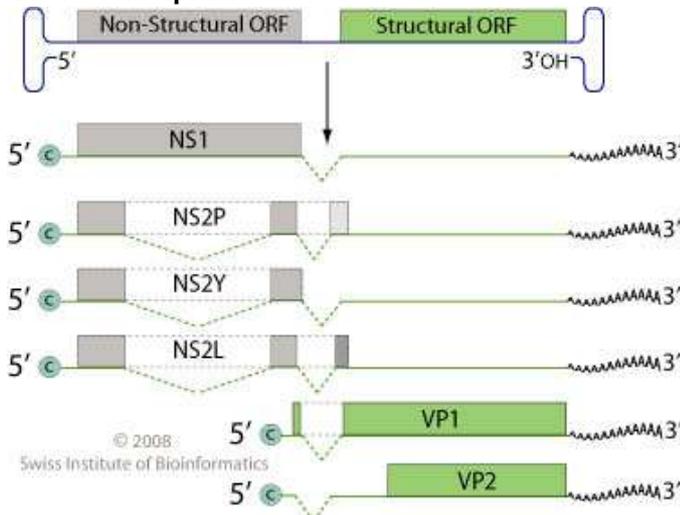
	<ul style="list-style-type: none"> - Rhinovirus → raffreddore comune - Hepatovirus → epatite A (consumo frutti di mare)
HEV	Epatite E
HCV	Epatite C (fa parte dei Flaviviridae, infetta uomo e scimpanzé)
HBV	Epatite B
Retrovirus	<ul style="list-style-type: none"> - HTLV1 e 2 - HIV

PARVOVIRUS.

Struttura

- DNA a singolo filamento di circa 5.500 nt, complementare (di solito) a mRNA
- Capside icosaedrico formato da 60 capsomeri composti di 2-3 proteine VP1-3
- VP2 deriva dal clivaggio proteolitico di VP1
- Senza envelope
- Diametro 16-26 nm
- Resistente alla inattivazione da pH, solventi e temperature elevate (1h a 50°C)

Genoma e Replica



Le estremità sono palindrome e formano delle forche che fungono da innesco per il packaging.

L'assemblaggio del virione avviene nel nucleo, dopo che il capsido vi è entrato.

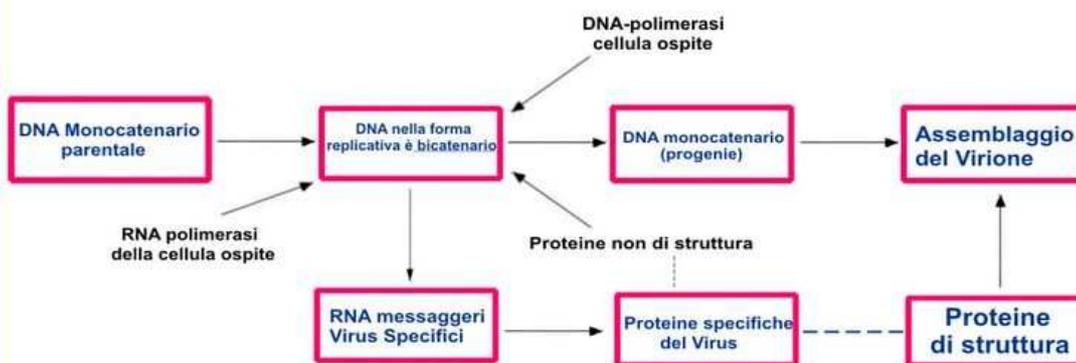
Il virione viene liberato per lisi dell'ospite.

Patogenesi

Il virus si trasmette tramite aerosol e presenta un'intensa viremia, replica nei tessuti con cellule che si

dividono molto velocemente quindi ha tropismo per il fegato fetale, il midollo e l'epitelio. Dopo due settimane dall'infezione si evidenzia un abbassamento dei reticoli citi e quindi dell'Hb. La malattia ha

Schema delle fasi della replicazione dei Parvovirus



principalmente due fasi. Nel momento di viremia più alto si hanno febbre e crisi plastiche transitorie. Con la produzione di IgM si passa alla seconda fase (RUSH) con il recupero dell'Hb.

Se la malattia viene contratta da una donna incinta si può avere IDROPE FETALE che può causare la morte del feto prima della 20° settimana di gestazione oppure può causare anemia nel nascituro. Può essere trattata con successo in utero tramite trasfusioni.

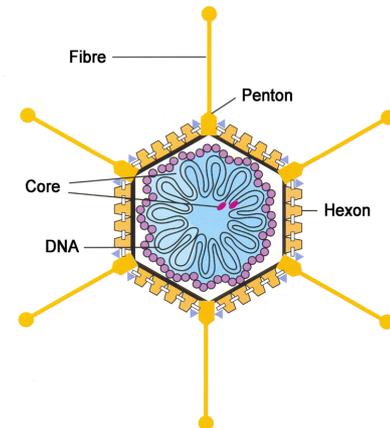
Diagnosi

Diretta con uso della PCR che dimostra la presenza del virus nel sangue.

ADENOVIRUS.

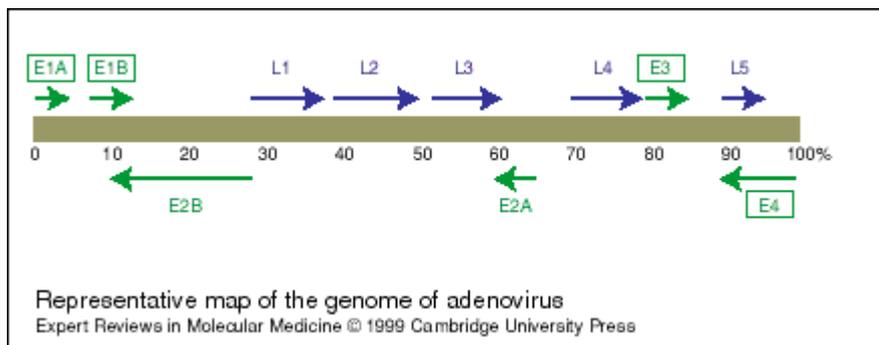
Struttura

- DNA a doppia catena di circa 30-38 Kbp che ha la capacità teoretica di codificare per 30-40 geni
- Senza envelope
- Capside icosaedrico composto da almeno 10 proteine organizzate in esoni e pentoni
- Le fibre protrudenti dai pentoni interagiscono con il bersaglio cellulare



Nell'ospite immunocompetente causa infezioni auto-limitanti, in quello immunocompromesso può causare infezioni disseminate con conseguenze severe e anche gravi nei bambini trapiantati di midollo.

Genoma e replica



Come tutti i virus senza envelope adenovirus entra ingannando la cellula, ovvero sfruttando un recettore di membrana e facendo credere di essere una sostanza utile, quindi entra per endocitosi. Il recettore per gli adenovirus è una proteina appartenente alla superfamiglia della immunoglobuline denominata CAR (coxsackievirus adenovirus receptor, recettore per entrambi i virus). Gli adenovirus umani della specie B riconoscono invece la proteina di membrana CD46 (un recettore per il complemento).

Dopo l'entrata nella cellula si assiste alla formazione di un endosoma, con conseguente scapsidamento ed entrata del virus nel nucleo.

Qui il DNA viene letto in entrambi i versi. Le proteine E1A, prodotte prima della replicazione del DNA, attivano la trascrizione dei geni precoci le cui proteine:

- Sono necessarie per la sintesi di DNA virale
- Interferiscono con la regolazione del ciclo cellulare (E1A, E1B legame a pRB e p53)
- Alterano l'espressione dei geni dell'ospite
- Bloccano il trasporto dei messaggeri cellulari (E4, E1B)
- Interferiscono con le difese antivirali (E3 e down regolazione di antigeni MHC class I)

A questo punto inizia la sintesi di DNA virale. Ad entrambe le estremità del genoma ci sono sequenze ripetute invertite che funzionano come origine di replicazione, il processo è uguale a quello che avviene nelle cellule umane.

Nella fase tardiva della replicazione vengono trascritti i geni L che andranno a comporre le proteine strutturali. Il trascritto primario viene tagliato al 3' e poli-adenilato e subisce poi lo splicing. L'assemblaggio avviene nel citoplasma e la maturazione nel nucleo; le particelle tendono ad accumularsi nel nucleo formando cristalli contenenti il DNA che possono rimanere a lungo nella cellula.

Patogenesi

Le infezioni causate da Adenovirus sono per lo più asintomatiche e vengono trasmesse per via aerea o alimentare, c'è la possibilità di un'infezione persistente occulta che può essere riattivata dopo anni. A seconda del sierotipo virale la patologia può essere diversa.

Diagnosi diretta

La PCR è molto utilizzata, è il metodo migliore per la dimostrazione del virus, ma la sensibilità potrebbe essere fuorviante nel diagnosticare adenovirus latenti (inf. occulta).

Diagnosi sierologica

E' utile per una diagnosi retrospettiva, deve dimostrarsi un incremento di almeno 4 volte del titolo anticorpale.

Le tecniche utilizzate rilevano anticorpi gruppo-specifici (non protettivi), il titolo decade in fretta.

Trattamento e prevenzione

Il rischio di infezioni è alto nelle condizioni di vita in comunità (scuola, caserme militari, ecc), non nella popolazione generale.

Terapia : nessuna

Vaccino : prodotto e utilizzato in USA dal 1971 al 1996 un vaccino vivo attenuato che è risultato efficace nel proteggere le reclute militari, ma veniva trasmesso a contatti ed è stato ritirato.

Prevenzione e controllo : nella cheratocongiuntivite epidemica trasmessa dall'acqua:

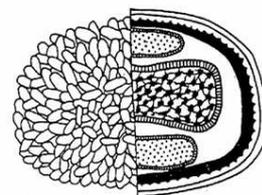
- La disinfezione con cloro delle acque di piscine
- Il mantenimento della asepsi nelle visite oculistiche
- La sterilizzazione degli strumenti usati

POXVIRUS.

Struttura

- Virione a struttura complessa con forma ovale o a mattone, grandezza: 200-400 nm
- Dotato di un involucro esterno con lamelle derivato dalla membrana cellulare che avvolge quello interno acquisito nel citoplasma
- Il core centrale (DNA e proteine) biconcavo contiene gli enzimi necessari per iniziare la replicazione nel citoplasma
- La funzione dei due corpi laterali è sconosciuta
- DNA lineare a doppia elica di circa 130-230 Kbp

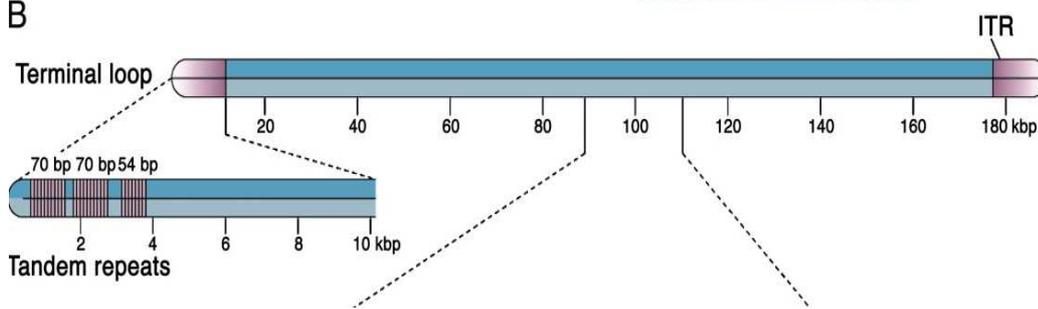
COMPLEX SYMMETRY



POXVIRUS FAMILY

Genoma e replica

B



Il virus entra nella cellula grazie all'attacco a un recettore, viene subito trascritto un m-RNA precoce che rappresenta il 50% del genoma che traduce per una DNA pol, una RNA pol, fattori di trascrizione intermedia e una proteina per il denudamento.

Grazie a quest'ultima il DNA esce dal capsid e è pronto per essere trascritto in un m-RNA intermedio e in un m-RNA tardivo che dà vita alle proteine strutturali; il DNA viene anche replicato per essere impacchettato nei nuovi virioni che entrano nel Golgi per maturare ed ottenere la seconda membrana. Il virus esce dalla cellula.

Patogenesi

Il virus si trasmette per via aerea quindi i primi distretti infettati sono le vie respiratorie superiori dalle quali il virus si muove fino ai linfonodi e da qui al sangue dove abbiamo una viremia primaria che interessa soprattutto milza fegato e midollo osseo. La malattia evolve in papula, vescicola, pustola e crosta. La malattia si risolve grazie all'intervento del sistema immunitario.

Diagnosi diretta

Qualunque caso faccia nascere il sospetto deve essere diagnosticato!

– Isolamento del virus dalle lesioni cutanee

Inoculo in uova embrionate: lesioni sulla membrana corioallantoidea sviluppano in 2-3gg sono differenti a seconda dei diversi pox; orf, mollusco contagioso e tanapoxvirus non crescono. Inoculo in colture cellulari di primati (sia di uomo che di scimmia) ma il mollusco contagioso non replica

– PCR con primer specifici per i vari poxvirus

La sierologia può essere usata per confermare la diagnosi.

PAPOVAVIRUS.

Sono virus capaci di indurre trasformazione.

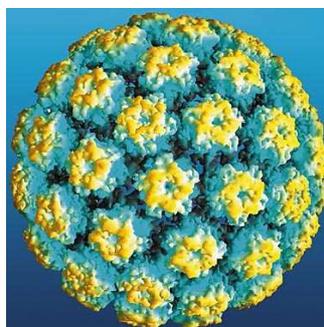
- **Papillomaviridae:** Papillomavirus (uomo e animali)
 - HPV (verruche cutanee, papillomi laringei, condilomi genitali, cancro della cervice)
- **Polyomaviridae:**
 - JC virus (leucoencefalopatia progressiva multifocale)
 - BK virus (gravi disfunzioni renali, cistite emorragica)
 - Polyoma virus (del topo)
 - SV40 (Simian vacuolating virus della scimmia)

...tuttavia differiscono talmente per taglia e organizzazione del genoma, determinanti antigenici e proprietà biologiche che è sembrato opportuno separarle in due famiglie distinte.

HPV

Struttura

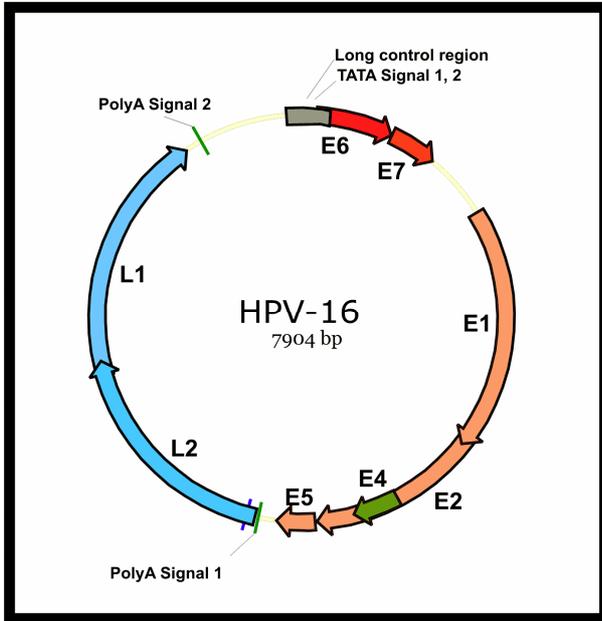
- Famiglia: *Papillomaviridae*
- Capside: icosaedrico, diametro 50-55 nm
- Privi di envelope



- Genoma: dsDNA, circolare, 7.900 bp, associato ad istoni della cellula ospite a formare una sostanza cromatinosimile.

Genoma e replica

il genoma è diviso in tre regioni:



- late
- early
- long control region

quest'ultima regione è responsabile della specificità di tessuto e di tipo cellulare per ogni genere di HPV.

La massima espressione genica del virus si ha nelle cellule più differenziate.

La replicazione virale avviene in due fasi, una precoce e una tardiva.

Nella fase precoce viene infettata una cellula dello strato basale dell'epitelio pluristratificato che quindi si moltiplica abbastanza velocemente. In questo stadio vengono espressi i geni precoci a basso livello:

- E1 è un'elicasi
- E2 ha attività trans attivante nei confronti dei promotori virali

- E6 + E7 mandano le cellule in continua divisione e in queste cellule il virus si accumula.

Nella fase tardiva i geni precoci vengono upregolati:

- E4 blocca la cellula nel passaggio da G2 a M
- E2 inibisce un'ulteriore trascrizione di E6 e E7

Si crea un ambiente permissivo per la replicazione del genoma.

- L1 e L2 sono i geni strutturali che vengono espressi per l'assemblaggio delle particelle virali

In seguito a un'infezione prolungata (5 anni) il genoma del virus può integrarsi in quello della cellula ospite in seguito alla rottura della regione di E2 che provoca un'iper espressione dei geni E6 e E7. in questo caso dopo l'infezione si ha l'espressione della proteina p53 che manda le cellule difettose in apoptosi. L'espressione di E6 negli HPV ad alto rischio degrada la p53 causando l'entrata della cellula in fase S, l'accumulo delle mutazione i il blocco dell'apoptosi. Nel frattempo E7 si lega a ppRB, una proteina che si lega al fattore E2F1 bloccando la trascrizione, inattivandola.

Patogenesi

Gli HPV cutanei si trasmettono tramite contatto diretto o tramite auto inoculazione, quelli mucosi invece per via sessuale, orogenitale o perinatale. L'infezione genitale è comunque quella più diffusa a livello sessuale ed è correlata al numero di partners, alla frequenza dei rapporti, all'età, allo stato immunitario e alle abitudini di vita.

A livello ano-genitale le lesioni sono di due tipi:

- **Condilomi acuminati e piani** a livello dei genitali maschili (pene, raramente scroto) e femminili (cervice uterina,vagina, vulva) e in regione perianale [HPV 6, 11, 16, 18, ecc.]
- **Carcinomi cervicali, vulvari, anali e del pene** (lesioni intraepiteliali squamose [SIL] normalmente precedono l'evoluzione dell'infezione) [HPV 16, 18, 31, 33, 39, 45, 52, 58, ecc.]

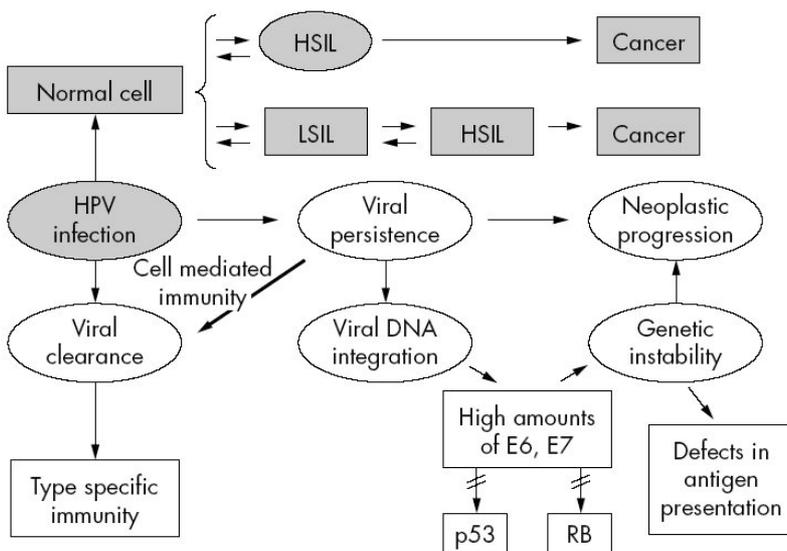
L'infezione da HPV in genere decorre senza provocare lesioni (latente o subclinica) e si risolve (immunità cellulomediata).

Periodo di incubazione da 3 settimane a 8 mesi

Nella maggior parte dei soggetti, lo sviluppo delle verruche genitali avviene a 2-3 mesi circa di distanza dall'infezione. La regressione spontanea ha luogo entro 3 mesi nel 10-30% dei pazienti.

L'infezione da HPV può tuttavia causare l'insorgenza di lesioni intraepiteliali squamose basso grado (LSIL)

- il 57% regredisce spontaneamente
- il 32% persiste (HSIL)
- l'11% si svilupperà come carcinoma in situ



• **HPV alto rischio: HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68...**
Sono quello che causano cancro.



Diagnosi indiretta

Le indagini di tipo indiretto evidenziano lesioni clinicamente apparenti (infezioni cliniche) o modificazioni cellulari e di tessuto indotte dal virus (infezioni subcliniche).

Non evidenziano le infezioni latenti

(non produttive).

Diagnosi diretta

Quella sierologica è poco affidabile.

Si ricerca il genoma virale e si identifica il genotipo.

Terapia

Non esiste una terapia specifica per l'infezione da HPV.

- Rimozione delle lesioni: conizzazione, laser, crioterapia, elettrocoagulazione
- Interferone: in lesioni molto estese, in condilomi acuminati ricorrenti o in papillomatosi laringee (troppo alto rapporto costi/benefici)
- Imiquimod: nuovo farmaco per il trattamento dei condilomi, sembra avere una buona efficacia in quanto stimola le difese immunitarie (citochine TH1 risposta CTL) e la produzione di Interferone.

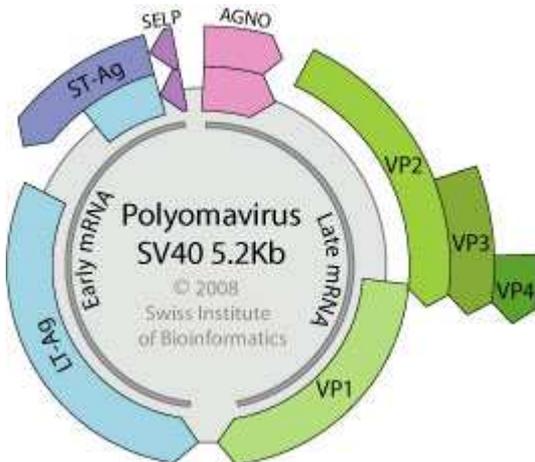
POLIOMAVIRUS

Struttura

- piccolo (45-50nm)
- capsidico icosaedrico
 - 72 capsomeri
 - tre proteine VP1-3
- senza envelope
- ds DNA (circolare superavvolto)
 - 4 istoni cellulari sono associati con il DNA a formare "mini cromosoma"
 - 5.000 bp

- Replicazione nel nucleo

Genoma e replica



3 regioni funzionali

Precoce: proteine non strutturali espresse subito dopo l'infezione prima della replicazione del genoma.

Tardiva: proteine del capside e LP1, espresse durante e dopo la replicazione del genoma.

Regolatoria: contiene i promotori & enhancer della trascrizione più l'origine di replicazione del DNA .

Attacco: il recettore cellulare contiene acido sialico, antirecettore sul virus è VP1

Entry: VP2/3 miristilate interagiscono con la membrana, interazione del vacuolo endocitico con il citoscheletro favorisce il trasporto al nucleo, ingresso attraverso i pori nucleari

Uncoating: avviene nel nucleo (coinvolgimento di VP2/3)

Replicazione: dipende pesantemente dagli enzimi cellulari

Patogenesi

I poliomavirus umani sono rappresentati solo da BKV e JCV, che danno di norma infezioni asintomatiche. Questi virus entrano nel tratto respiratorio (trasmissione aerea) e vi si moltiplicano dando una viremia primaria, la viremia secondaria si ha a causa della replicazione del virus nei reni; nell'ospite immunocompetente l'infezione si ferma a questo punto e il virus rimane latente nei reni per un tempo indefinito. Se il paziente è immuno compromesso il virus si riattiva, in questo caso BK da infezioni a livello urinario (cistite emorragica) e JC da infezioni a livello encefalico (leucoencefalopatia multifocale progressiva).

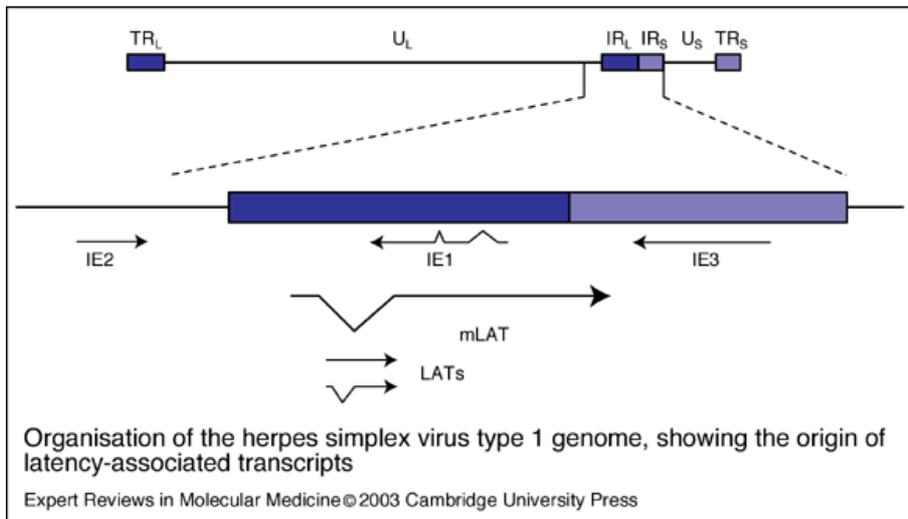
HERPESVIRUS.

Struttura

	Manifestazione clinica	
	Primaria	Ricorrente
α-herpesvirinae		
HSV-tipo 1 e 2	Gengivostomatite, herpes genitale, encefalite,	Herpes labiale, herpes genitale,
Varicella zoster (VZV)	Varicella	Herpes zoster
β-herpesvirinae		
Cytomegalovirus (CMV)	Sindrome similmononucleosica, danni fetali	Polmonite, esofagite, colite, retinite nell'ospite immunodeficiente
Herpes 6 (HHV-6B)	VI malattia	Sconosciuta
Herpes 7 (HHV-7)	Sconosciuta	Sconosciuta
γ-herpesvirinae		
Virus Epstein-Barr (EBV)	Mononucleosi infettiva	Disordini linfoproliferativi (tumori e linfomi)
Herpes 8 (HHV-8)	Sconosciuta	Sarcoma di Kaposi

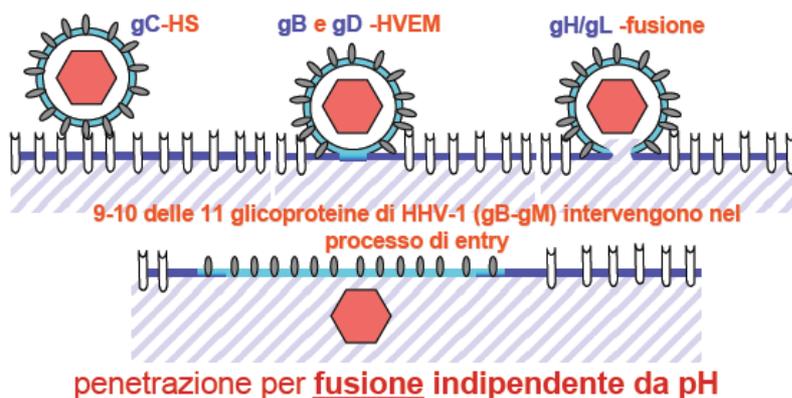
- Dimensioni medio-grandi (150-250 nm)
- DNA a doppia elica lineare di grandi dimensioni (da 125 a 235 Kbp) sequenze ripetute
- Capside icosaedrico, 162 capsomeri
- Envelope dal quale protrudono da 5 a 8 glicoproteine virali

Genoma e replica



Ci sono tre blocchi di geni α β e γ rispettivamente precocissimi, precoci e tardivi che si attivano con un processo a cascata.

L'adsorbimento e l'entrata del virus nella cellula coinvolge 9-10 glicoproteine.



Il primo legame gC – HS (eparansulfato) è un legame debole. Il secondo (gB e gD – HVEM) è un legame molto forte che causa l'alterazione di un dimero sulla membrana del virus. Il legame di gH/gL provoca la fusione delle membrane e l'entrata del capsid nella cellula.

! l'infezione può essere provocata anche solamente

dalla membrana della cellula infettata che presenta le glicoproteine virali.

α – TIF e VHS sono le prime proteine ad essere espresse. VHS spegne la sintesi proteica cellulare e degrada gli m-RNA (i neuroni resistono a questa azione stabilizzando così la latenza), α – TIF permette il riconoscimento dei promotori virali da parte degli enzimi dell'ospite.

A questo punto il DNA circola rizza nel nucleo e viene letto il primo blocco di geni, quello α ; gli m-RNA vengono letti nel citoplasma e rientrano nel nucleo sotto forma di proteine per attivare i geni β . Le proteine β sono delle DNA pol e binding proteins, una timidina chinasi e una ribonucleotide reduttasi che spengono i promotori α per permettere la replica del genoma che avviene con un meccanismo a cerchio rotante.

Dopo la replica vengono attivati geni γ che spengono i promotori dei geni β ; vengono trascritti dal DNA neo formato e sono proteine strutturali.

Il materiale genetico che non viene usato forma i corpi inclusi.

L'assemblaggio del virus avviene nel nucleo. Il capsid viene circondato dalle proteine del tegumento e gemma nello spazio intralamellare del nucleo oppure c'è fusione.

Il virus viene rilasciato tramite vacuolo esocitosico o lisi cellulare.

Latenza

Il virus dell'herpes può stabilire facilmente latenza nella cellula infettata.

- Durante la fase di latenza il genoma virale resta nel nucleo della cellula
- L'espressione è assente o limitata ad alcune proteine
- Vengono prodotti trascritti (*latency associated transcript*, LATs, CLTs o EBNA) derivati da trascrizione in entrambe le direzioni di una porzione dei geni alfa
- Blocco dell'espressione dei a-mRNA
- Attività antiapoptotica delle poche proteine LAT

HERPESVIRUS 1 E 2

- Appartengono alla sottofamiglia alfa
 - I genomi di HSV-1 e HSV-2 presentano una omologia del 50 - 70% (cross-reattività sierologica)
 - Si distinguono tramite l'utilizzo di anticorpi monoclonali contro gG (una delle glicoproteine del pericapside codificate dal genoma virale)
 - Ci sono antigeni in comune con il virus della varicella (VZV).
 - L'uomo è il solo ospite naturale per HSV
- Entrambi i virus sono relativamente labili a temperatura ambiente, l'infezione può realizzarsi solo per intimo contatto con il liquido di vescicola o con secrezioni infette orali o genitali.

Patogenesi

- L'infezione primaria avviene per contatto attraverso una ulcerazione delle mucose (bocca, occhio, genitali) o una abrasione della pelle (patereccio erpetico). Il virus è presente nella saliva e nelle secrezioni genitali.
 - L'infezione primaria è spesso subclinica. Si può presentare come gengivostomatite con una incubazione breve 2-3 gg, lesioni ulcerative, febbre, linfadenopatia. È tipicamente localizzata, diventa sistemica solo in soggetti immunodeficienti
 - Le lesioni sono dovute all'attività citolitica del virus con necrosi cellulare e conseguente risposta infiammatoria dell'ospite.
 - Tipicamente HSV-1 è associato a lesioni orali/oculari, HSV-2 a quelle genitali/anal. Il 10-15% delle lesioni genitali è però di tipo 1, ed il 5% delle lesioni orali di tipo 2.
 - Dopo l'infezione primaria circa il 50% degli individui avrà degli episodi ricorrenti (vescicole sulla cute; ulcere sulle mucose).
 - In **HSV** e **VZ** la latenza si stabilisce nei neuroni dei gangli sensoriali che non sono permissivi per il compimento di un ciclo replicativo litico
 - Alcuni autori suggeriscono che la latenza è mantenuta grazie ad una attività anti-apoptotica dei LATs, in tal modo sarebbe preservata la sopravvivenza del neurone nel quale l'infezione può essere riattivata da vari stimoli (fisici, chimici).
- Ci sono due ipotesi che spiegano la neuro latenza:
- **Ipotesi dinamica** -- persistenza di bassi livelli di virus infettivo nei gangli sensoriali. C'è un continuo trasporto del virus attraverso le terminazioni periferiche dei nervi sensoriali il livello di replicazione è talmente basso da non produrre segni o sintomi clinici, ma una **transitoria depressione della immunità cellulo mediata** favorisce la recidiva a livello periferico.
 - **Ipotesi statica** -- il DNA virale è mantenuto in uno stato non-replicativo nel nucleo del neurone in forma episodica, lo stress innesca la riattivazione periferica promuovendo la replicazione nel neurone.

Un caso particolare di Herpes è quella neonatale.

- L'incidenza è diversa da paese a paese
- Il neonato è infettato durante il passaggio nel canale cervicale. **L'infezione è rara ma grave**
- Il rischio di trasmissione è massimo (20-30%) nel caso di infezione primaria.
- Il rischio è minore (2-3%), ma esistente, nel caso di riattivazione
- Può lasciare sequele permanenti, è più grave nei neonati prematuri
- Lesioni: encefaliti con o senza lesioni cutanee, cecità, meningiti, o malattia disseminata (esantema varicelliforme di Kaposi) per la quale la mortalità è alta ca 80% dei casi
- Viene prevenuto con il parto cesareo
- Sperimentale la somministrazione di antivirali

Le riattivazioni avvengono in presenza della risposta immune che non riesce a controllare completamente il virus, sono dovute a stimoli vari, in parte sconosciuti, che probabilmente causano un qualche grado di immunosoppressione che permette la ripresa di replicazione.

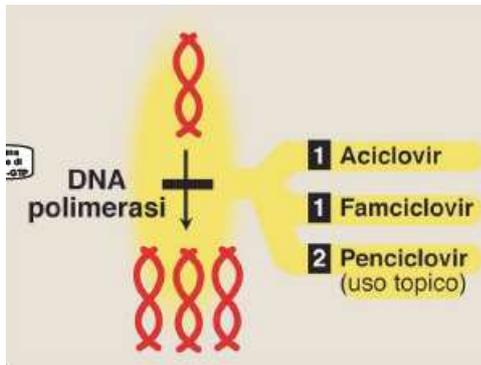
Nell'ospite immunocompromesso per terapia o per malattia le lesioni erpetiche anche riattivate possono diffondere ed interessare le vie respiratorie, l'esofago e la mucosa intestinale.

Diagnosi

- Spesso clinica: le vescicole sono tipiche
- Isolamento virale (casi di encefalite)
 - HSV cresce bene in molte linee cellulari
- **PCR**: economica, veloce, efficace. E' il metodo di scelta (casi di encefalite)
- Sierologia: non è utile in genere (l'infezione ricorrente è molto diffusa) ma può avere un significato nelle gravide

La sieropositività HSV-2 implica la necessità, in prossimità del parto, di un tampone per evidenziare una eventuale riattivazione asintomatica e provvedere in modo adeguato.

Trattamento



VZV Virus della Varicella – Zoster

- **La Varicella**: un'infezione dell'infanzia acquisita attraverso le vie respiratorie o la congiuntiva.
- *Rare ma possibili complicazioni per il SNC (1/1000)*
- *Possibile infezione congenita e neonatale*

Le lesioni sono avviate dall'infezione delle cellule endoteliali dei capillari con conseguente infezione dei cheratinociti. Le cellule epiteliali si rigonfiano (degenerazione balloniforme) determinando un accumulo di liquidi interstiziale che provoca la vescicola.

Le vescicole compaiono a ondate di 2-4 gg sicchè tutte le fasi di macula, papula, vescicola pustola e crosta sono presenti contemporaneamente. Gli anticorpi sono importanti nel limitare la diffusione ma **la**

risposta CTL è essenziale per risolvere la malattia.

- **Lo Zoster**: dopo l'infezione primaria il virus rimane latente nei gangli nervosi del SNC. Se il virus si riattiva ridiscende il nervo e provoca lo zoster (Fuoco di Sant'Antonio).

Le lesioni sono le stesse della varicella solo che l'infiammazione del nervo rende la sintomatologia molto dolorosa e nell'anziano la complicanza più frequente è la **nevralgia post-erpetica** che può durare mesi.

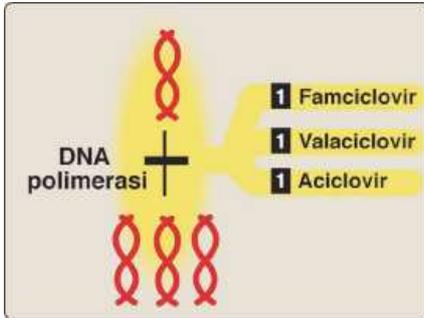
L'infezione colpisce strettamente il dermatoma innervato dal neurone in cui si è stabilita la latenza, le lesioni sono pertanto unilaterali, i distretti colpiti sono comunemente tronco, capo, collo.

Diagnosi

- Isolamento in coltura di cellule umane (3-7gg, ECP lento)

- **PCR:** efficace, rapida ed economica
- Immunofluorescenza per ricerca antigeni virali
- **Sierologia:** utile per definire lo stato del paziente (immunità duratura)

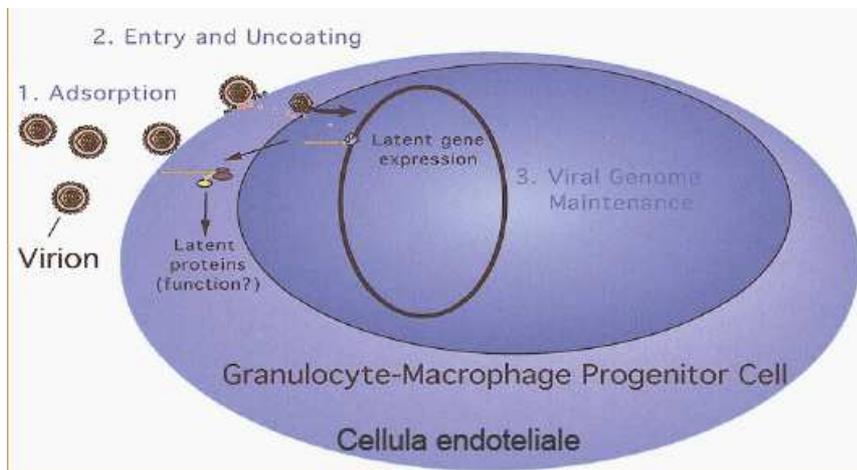
Trattamento



CITOMEGALOVIRUS (CMV)

- E' il più grande degli herpesvirus umani. Genoma di 235 KB con circa 200 potenziali ORF
- L'infezione primaria è nella maggior parte dei casi (90%) asintomatica (incubazione 1-2 mesi)
- A volte si presenta con una sintomatologia aspecifica, con linfadenopatia (sindrome similmononucleosica (-2-5%) e modesta epatite (5-8%)
- Vie di trasmissione: saliva, contatto sessuale, trasfusione, trapianto (frequentemente renale)

La replicazione avviene in cellule permissive come per l'herpes simplex, in quelle non permissive stabilisce la latenza:



durante la latenza vengono espressi geni che derivano da trascritti più lunghi di quelli dell'infezione normale. Nelle cellule in cui stabilisce la latenza il virus si riattiva in seguito a immunodeficienza o a differenziazione della cellula stessa.

Nell'**infezione primaria** e nelle **riattivazioni** il virus replica negli epitelii dei tessuti ghiandolari e nell'endotelio vascolare, da qui si diffonde trasportato dai leucociti (PMN e Monociti) che si infettano per contatto e si ritrova in tutti i fluidi biologici.

Durante l'infezione primaria e nelle riattivazioni il **virus è isolabile** dal sangue e soprattutto dall'urina e dalla saliva perché replica bene e più a lungo nelle cellule epiteliali duttali delle ghiandole salivari e del glomerulo renale.

I precursori mieloidi (non permissivi al compimento di un ciclo litico) rappresentano probabilmente la principale **sede di latenza**, il midollo osseo è il principale reservoir.

Anche i leucociti maturi (1/10.000 monociti porta CMV DNA), le cellule endoteliali e forse altre cellule (?) sono siti di latenza.

L'infezione primaria e la riattivazione rivestono importanza medica solamente in due casi:

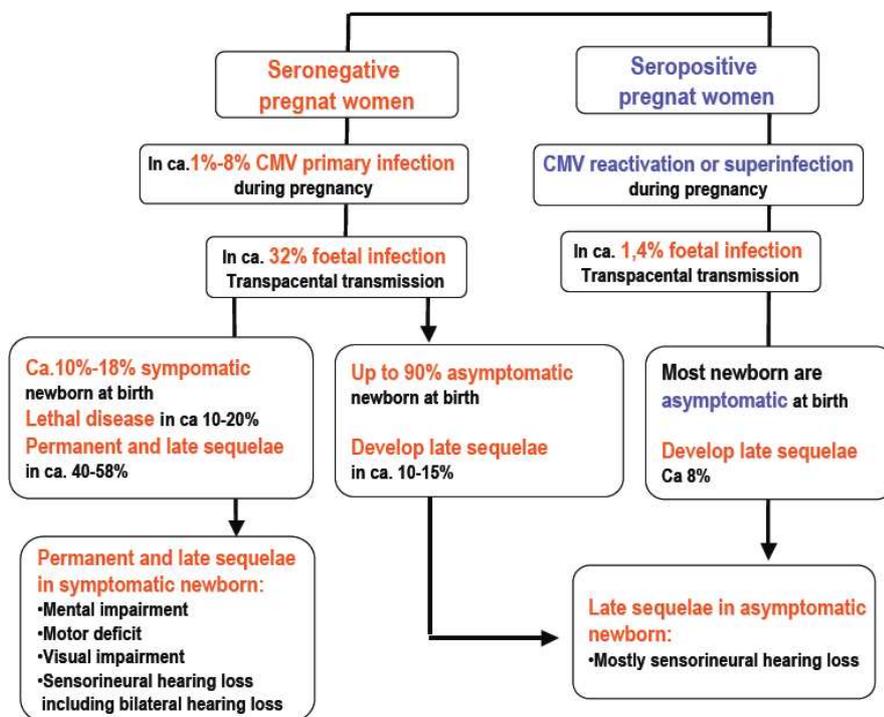
-in gravidanza

-quando l'ospite è immunodepresso

La prima è molto frequente in caso di infezione primaria:

– Percentuale di trasmissione del 50, 40, 71% nel I, II, III trimestre (Revello et al CI M Rev 2002)

- Eventualità grave se avviene nel primo trimestre di gravidanza
- Possibile (ma più rara) in caso di riattivazione
- Le infezioni alla nascita (intra-parto o per allattamento) non hanno la morbilità dell'infezione congenita (eccetto prematuri-immunodef.)
- I sintomi sono talvolta presenti alla nascita, ma in molti casi si presentano tardivamente
- Il virus deve essere isolato da saliva o urine entro le prime 2 settimane di vita
- È la seconda causa di ritardo mentale dopo la sindrome di Down e *precede la rosolia nel determinare infezioni congenite.*
- La più comune infezione virale congenita (colpisce 0.3 - 1% di tutti i nati vivi)
- La trasmissione al feto si osserva sia nell'infezione primaria che in quella ricorrente con il 40% (valore medio di vari studi) di possibilità nel primo caso.
- La trasmissione è possibile durante tutta la gravidanza
- Il danno deriva dalla distruzione delle cellule in cui il virus replica, quindi tanto più grave quanto più all'inizio della gestazione.



L'infezione da CMV causa la **Malattia da Inclusioni Citomegaliche** che colpisce:

- **SNC** - ritardo mentale, microcefalia, spasticità, epilessia, calcificazioni periventricolari
- **Occhio** - corioretinite
- **Orecchio** - perdita dell'udito
- **Fegato** - epatosplenomegalia, epatite ed ittero
- **Polmone** - polmonite
- **Cuore** - miocardite
- Purpura trombocitopenica e anemia emolitica
- Sequele tardive in bambini asintomatici alla nascita, difetti dell'udito, ridotta intelligenza

Le infezioni, le reinfezioni e le riattivazioni in pazienti immunodeficienti (riceventi di trapianti o pazienti AIDS) possono determinare malattie severe quali:

- polmonite interstiziale,
- retinite
- colite o esofagite
- raramente encefalopatie

Diagnosi

- Ricerca degli anticorpi (sieroconversione)
 - Titoli elevati di IgM possono essere presenti anche durante le riattivazioni
 - E' possibile determinare l'avidità delle IgG
- Isolamento del virus in colture di fibroblasti

- Ricerca di antigeni virali (pp65) su cellule del sangue
- Ricerca di acidi nucleici virali, quantitativa e qualitativa
- *Il test più attendibile è la ricerca di DNA da sangue intero mediante amplificazione Real Time (rapida sensibile, specifica e quantitativa)*

Trattamento

- **Infezione in gravidanza:** normalmente è rilevata attraverso *indagini dirette sul liquido amniotico*, la possibilità di una interruzione della gravidanza va considerata in base al tempo di gestazione e alla carica virale, *in corso trials clinici con Ig specifiche*. Il **neonato** con infezione congenita, *urine positive alla nascita*, sintomatica viene trattato alla nascita con valaciclovir
- **Infezione perinatale o postnatale:** normalmente non è necessario alcun trattamento.
- **Ospite immunocompromesso:** la diagnosi deve essere rapida in modo di iniziare una terapia antivirale molto precocemente. I farmaci di uso corrente sono ganciclovir, forscarnet, e cidofovir.

HHV – 6

- Isolato nel 1986 da soggetti con alterazioni linfoproliferative
- Tropismo per i linfociti T CD4+ (il recettore CD46 è ubiquitario quindi HHV6 infetta molti altri tipi di cellule) *il genoma si integra nei cromosomi della cellula ospite*
- L'infezione primaria è solitamente in età pediatrica ed è associata a sindromi influenzali oppure alla *roseola infantum (esantema subitum o VI malattia)*
- Come al solito la malattia nell'adulto se pure molto rara è più severa (mononucleosi, epatite)
- Monociti e precursori mieloidi sono probabili siti di latenza
- Non è chiaro se la riattivazione nell'ospite immuno-compromesso possa essere correlata a patologie dal momento che anche il CMV è quasi sempre presente.
- La maggior parte dei casi si osserva tra 4 mesi e due anni.
- Dopo un'incubazione di circa 2 settimane si osservano sintomi respiratori e febbre alta per due giorni seguita da un esantema macropapulare lieve.
- La febbre è alta abbastanza da causare convulsioni febbrili
- È stato riportato qualche caso complicato da una encefalite.

Le varianti di HHV – 6 sono A e B che hanno tropismo rispettivamente per il liquido cerebro – spinale e per la saliva; le due varianti sono uguali per l'88% del genoma e la variante B è la più diffusa.

HHV – 7

- Isolato nel 1990 da cellule T attivate di un soggetto sano
- Infetta i linfociti T (il recettore è CD4)
- Esiste una limitata omologia di sequenza con HHV- 6 (30-50%) e limitata cross-reattività antigenica
- Non c'è alcuna associazione con una malattia umana definita, l'infezione è associata a malattie febbrili nei primi anni di vita.
- Sono frequenti riattivazioni asintomatiche
- Non è chiaro il ruolo di HHV-7 nella patologia umana.

HHV-6 e HHV-7 sono ubiquitari, l'infezione è comune in tutto il mondo.

La trasmissione avviene per contatto con saliva infetta e attraverso l'allattamento.

L'infezione in entrambi i casi è acquisita a partire dal quarto mese quando la protezione da parte degli anticorpi materni viene meno.

Nell'età adulta il 90-99% della popolazione presenta anticorpi; le ghiandole salivari sono il sito della persistenza e rimangono latenti (monociti e precursori mieloidi) nell'organismo riattivandosi di tanto in tanto.

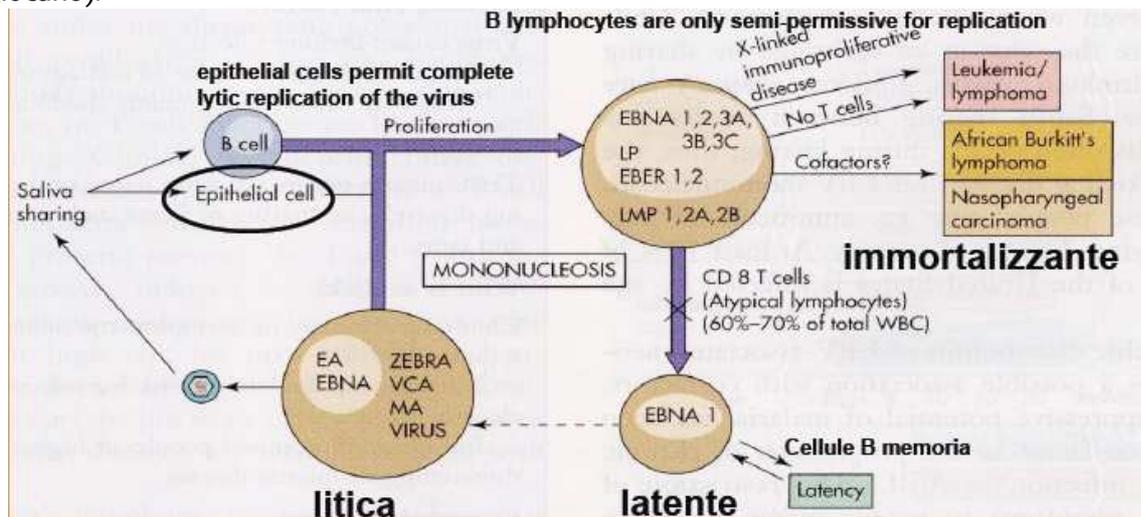
EBV (Epstein – Barr Virus)

È l'agente della mononucleosi infettiva.

- Viene trasmesso attraverso le secrezioni faringee (saliva)
 - Entra nelle cellule attraverso il recettore CD21 (CR2) normalmente usato dal complemento (C3d)
 - Il virus infetta i linfociti B e le cellule epiteliali localizzate in regioni ricche di tessuto linfoide come la regione faringea (la parotide, i dotti delle ghiandole salivari e le cellule epiteliali della lingua).
 - Ha una prima fase di replicazione nel faringe (cellule epiteliali permissive - **infezione litica**)
 - Viene trasmesso successivamente ai linfociti B dove stabilisce una infezione non produttiva nella maggioranza delle cellule (**infezione latente**)
 - Sono frequentissime le riattivazioni asintomatiche
 - Esiste una ben definita relazione tra oncogenesi e infezione da HHV4 in due delle patologie di cui il virus è responsabile:
 - Il **linfoma di Burkitt** (97% dei casi nelle zone endemiche dell’Africa, 30-40% in AIDS)
 - Il **carcinoma naso-faringe** (Cina)
 - È associato a disordini linfoproliferativi post-trapianto (PTLD), linfomi a cellule B e T, e al linfoma di Hodgkin (80-100%) negli immunocompromessi.
 - Il virus attiva le cellule (è un potente mitogeno) ma la proliferazione delle cellule B *in vivo* è controllata dalle cellule T
 - In assenza di tale controllo EBV è un potente agente trasformante *in vitro*: infettando cellule B con questo virus è possibile ottenere linee cellulari continue (LCL – linee cellulari linfoblastoidi)
 - In queste linee il genoma è presente in forma episomale e l’espressione è ristretta a circa 9 proteine: 6 antigeni nucleari (EBNA), 3 proteine di membrana (LMP)
 - Poiché il virus non viene prodotto si deduce che queste proteine legate alla latenza debbono anche essere le proteine trasformanti
 - EBNA-1: attivazione della DNA polimerasi (proliferazione cellulare)
 - EBNA-2: regola oncogeni cellulari, Bcl-6, e LMP-1 (inibizione apoptosi e immortalizzazione)
 - Il processo di trasformazione *in vivo* non è del tutto chiarito e non tutte le proteine trasformanti sono espresse nei diversi tumori, le ipotesi accreditate sono:
 - L’infezione attiva un processo oncogenico che si conclude molto tempo dopo con un meccanismo del tipo “colpisci e fuggi”.
 - L’infezione determina aberrazione genetica.
- Traslocazione cromosomica (8-14) di c-myc in Burkitt
- Relazione tra espressione di proteine trasformanti in differenti tipi di cellule e fattori genetico ambientali (es. cell.epiteliali nel carcinoma naso-faringeo)

Il Linfoma di Burkitt:

- Diffuso nell’Africa sub-sahariana.
- Caratterizzato dalla presenza costante di DNA di EBV nelle cellule tumorali, derivate dalle cellule B e da una traslocazione di un frammento del cromosoma 8 che si unisce al cromosoma 14
- Non è chiaro il meccanismo che porta allo sviluppo del tumore
- Si pensa che l’infezione da EBV destabilizzi il DNA cellulare insieme ad altri fattori (Malaria, resina gommosa di alcuni cespugli di euforbia con cui i bambini dell’Africa centrale giocano).



- L'infezione primaria è solitamente subclinica nei bambini. Una parte degli individui infettati sviluppa la mononucleosi infettiva
- Caratteristica dell'età adolescenziale con febbre, faringite, splenomegalia, esantema nel 10-15% dei casi, sale a 40% se viene somministrata penicillina, lieve epatite e spiccata linfocitosi (una "guerra civile" tra linfo B e linfo T!)
- Il virus non viene eliminato ed una replicazione lenta ma continua porta ad una diffusione permanente del virus dal faringe.
- Le complicazioni sono rare
- Le riattivazioni delle infezioni sono quasi sempre asintomatiche.
- Non c'è trattamento specifico
- Allo studio vaccini a subunità (gp350/300 dell'envelope)

Diagnosi

- La diagnosi è basata in primo luogo su accertamenti sierologici
- IgM contro l'antigene viriocapsidico (**VCA-IgM**): presenti all'esordio clinico persistono per 1-2 mesi
- Anticorpi contro **EA: IgM e IgG** presenti all'esordio della malattia, si negativizzano dopo alcuni mesi
- IgG contro l'antigene viriocapsidico (**VCA-IgG**): persistono per tutta la vita
- Anticorpi contro **EBNA**: presenti 1-2 mesi dopo la malattia, persistono per tutta la vita

HHV – 8

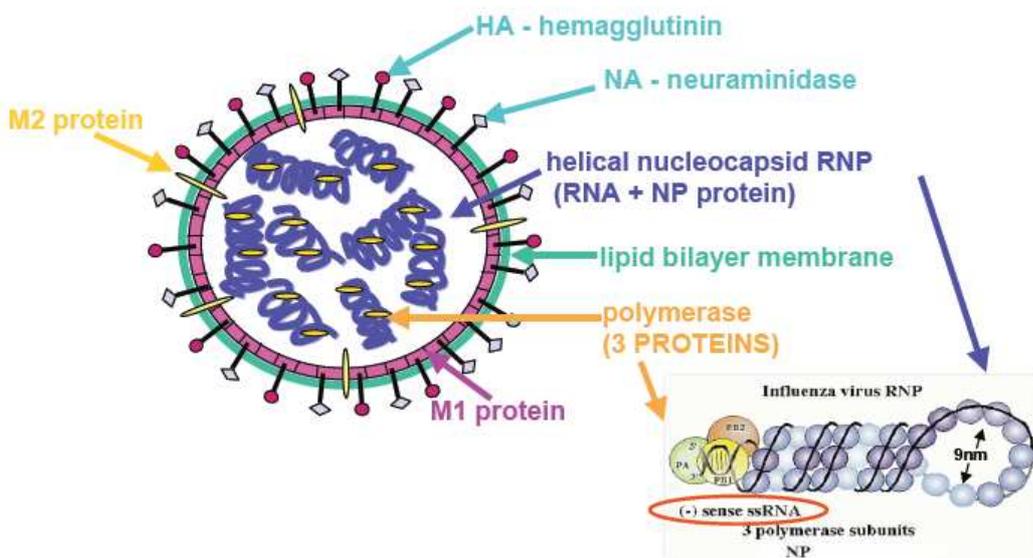
- Infetta le cellule B ma anche le cellule dell'endotelio vascolare
- Codifica per citochine, fattori di crescita e proteine che favoriscono l'angiogenesi e inibiscono l'apoptosi
- Implicato nel sarcoma di Kaposi che si verifica nei pazienti infettati da HIV.
 - Malattia maligna multifocale che origina a livello dell'endotelio ed ha un decorso clinico variabile.
 - Si manifesta con caratteristiche lesioni della pelle, ma anche delle mucose (buccale, polmone e tratto intestinale)
- Il tumore compare mesi, a volte anni, dopo l'infezione primaria

Diagnosi

- Genoma del virus è presente nelle lesioni del 100% dei pazienti con Kaposi
- Viremia solo nel 50% dei soggetti infettati
- Gli anticorpi dimostrano il pregresso contatto con il virus e possono essere valutati come fattore di rischio per lo sviluppo di Kaposi in pazienti HIV

ORTHOMYXOVIRUS

Struttura



Pleomorfi
 - forme sferiche: 50-120 nm Ø
 - forme filamentose : 2000 x 80-120 nm

- Il genoma consiste di segmenti (8-7) separati di ssRNA con orientamento negativo, ciascuno con simmetria

elicoidale (nucleocapsidi)

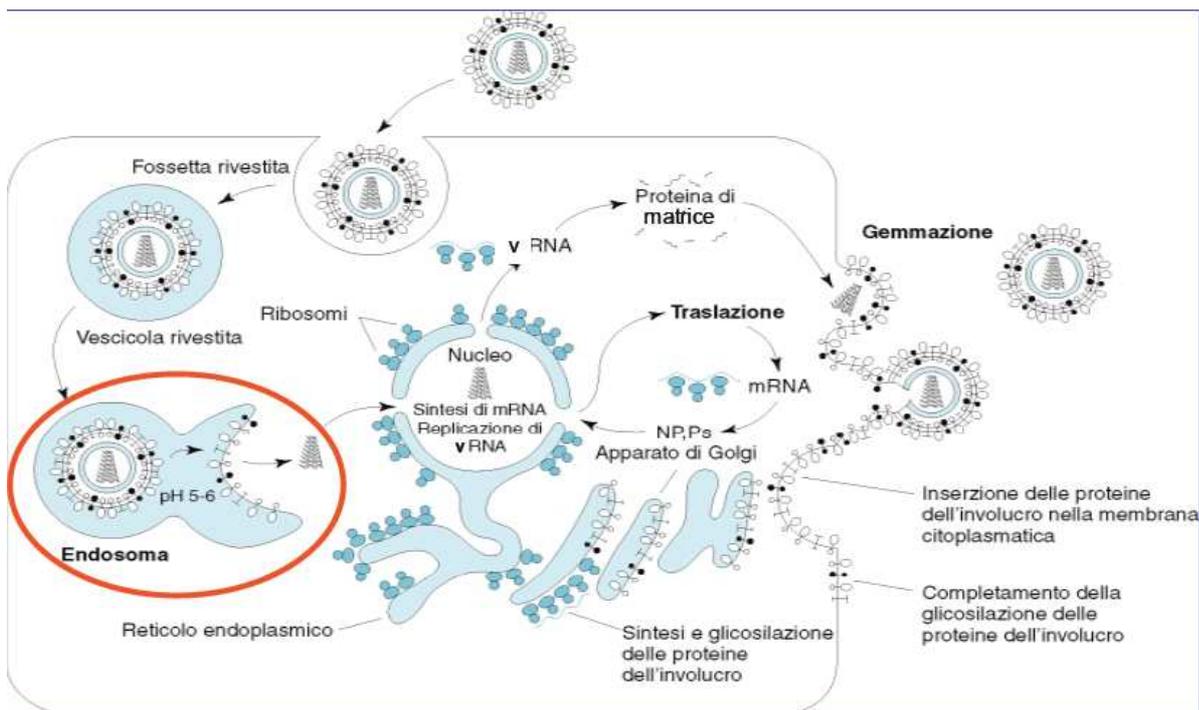
- Labile nell'ambiente (poche ore a TA), resistente per settimane a temperature tra 0 e +4°C

È il virus della normale influenza che colpisce dal 5 al 15% della popolazione ogni anno. Il sottotipo A è il più importante perché è quello che colpisce l'uomo e può trasmettersi anche per zoonosi. Altri sottotipi di A sono dati dal riassortimento di HA e NA in reservoir animali.

Genoma e replica

Ogni segmento del genoma codifica per una proteina e ha il suo apparato polimerasico:

Prodotti dei segmenti genici di influenza A virus		
Segmento	Proteina	Funzione
1	PB2 (basica)	Polimerasi/Trascrittasi: cap binding
2	PB1 (basica)	Polimerasi/Trascrittasi: allungamento
	PB1-F2	Fattore di virulenza, induce apoptosi nei macrofagi
3	PA (acida)	Polimerasi/Trascrittasi: proteasi (?)
4	HA	Emoagglutinina: lega il recettore cellulare, il sito di legame è nascosto al sistema immune; presenta siti immunogeni protettivi; è la proteina di fusione
5	NP	Nucleoproteina: si lega a vRNA, contribuisce alla simmetria elicoidale dei nucleocapsidi, partecipa al complesso della trascrittasi, partecipa al trasporto del vRNA
6	NA	Neuraminidasi: scinde l'acido sialico, rilascio del virus
7	M1	Proteina della matrice, principale componente del virione, promuove l'assemblaggio
	M2	Proteina di membrana, forma i canali ionici
8	NS1	Nucleare, agisce su mRNA cell (inibisce esporto, regolando splicing e traduzione), attività anti-IFNs (α e β)
	NS2	Nucleare e citoplasmica, funzione ignota



II

virus entra creando una vescicola endocitica dopo l'interazione tra HA e acido sialico, la vescicola si

lega con un lisosoma creando un ENDOSOMA al cui interno c'è un pH basso che fa fondere le membrane grazie all'azione di una proteasi cellulare che scinde HA in HA1 e HA2.

HA2 ha un residuo idrofobico che fuoriesce e si deve reinfilare all'interno della membrana dell'endosoma causando la fusione.

A questo punto i segmenti genomici vengono rilasciati e vanno nel nucleo dove avviene la sintesi del m-RNA e la replica del genoma. Gli m-RNA tornano poi nel citoplasma dove vengono tradotti, quelli della membrana hanno dei segmenti per la membrana e quindi vengono traslocate nel RE. Le proteine ritornano nuovamente nel nucleo e si associano all'RNA virionico che è stato replicato nel nucleo. Seguono gemmazione e rilascio.

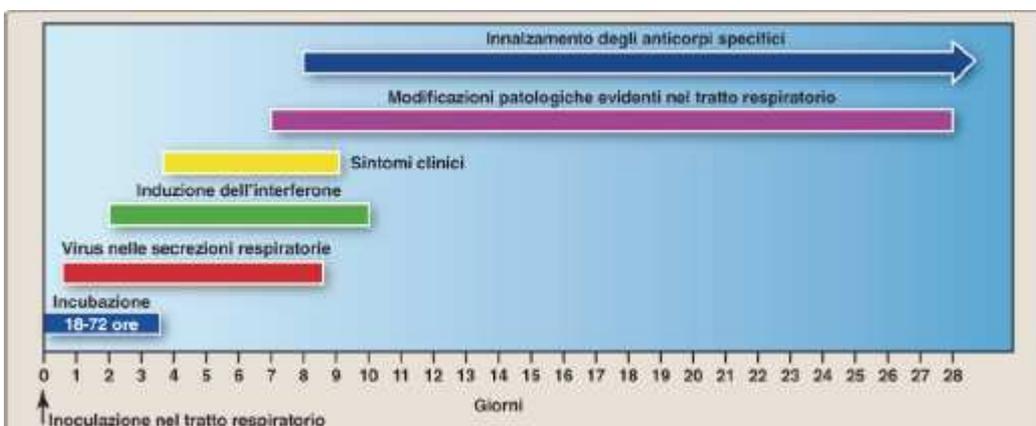
Nelle prime ore dopo l'infezione c'è un'intensa sintesi macromolecolare. Il virus ha bisogno del cappuccio dell'm-RNA da sequestrare: per farlo PB2 si attacca ai messaggeri cellulari, PB1 scinde la 7mG + N13 dal messaggero e fungerà da primer dei segmenti genomici, PB1 attacca i primi undici nucleotidi e PB2 si stacca, ma il cap resta attaccato, il genoma viene trascritto fino al sito poliA dove la polimerasi si ferma, il messaggero va nel citosol dove avviene la traduzione.

Nel nucleo avviene anche la trascrizione di RNA più lunghi. Quando il livello di NP si alza l'RNA in formazione vi si associa e la polimerasi non riconosce più la poliA e procede fino alla fine del genoma, si forma così RNA+ che è l'intermedio replicativo per la produzione di nuovi genomi.

La proteina della matrice ha un ruolo fondamentale nella fase di rilascio del virus perché si lega alla ribonucleoproteina virale, alla membrana cellulare attraverso le code citoplasmatiche delle glicoproteine virali per formare un guscio subito sotto lo strato lipidico.

Patogenesi

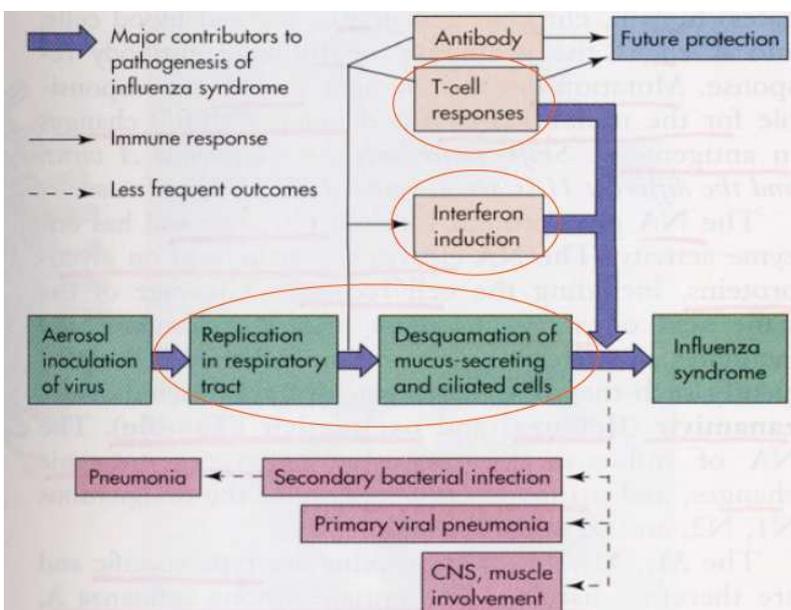
Le cellule dell'epitelio respiratorio muoiono per effetto della replicazione virale per effetto dell'attività



dell'interferone e per effetto successivo della immunità CTL causando diminuita clearance mucociliare e rischio di infezione batterica.

I sintomi sono

determinati dall'IFN e dalla risposta immune citotossica nonché dalla quantità di tessuto epiteliale perso.



- FEBBRE (38-40°C)
- MAL DI TESTA
- MIALGIA
- TOSSE SECCA
- RINITE, FARINGITE
- SINTOMI OCULARI
- Fotofobia, dolori retroorbitali

Talvolta influenza può portare a delle complicazioni polmonari come:

- CROUP (laringo-bronco-tracheite acuta)
- POLMONITE VIRALE (RARA)
- POLMONITE BATTERICA SECONDARIA

– *Streptococcus pneumoniae*

– *Staphylococcus aureus*

– *Hemophilus influenzae*

L'accumulo di fluidi e muco e la mancata clearance muco-ciliare provvede un buon ambiente per la crescita batterica

RIGUARDANO PREVALENTEMENTE CATEGORIE DI PAZIENTI A RISCHIO

Anziani, cardiopatici, soggetti con affezioni polmonari croniche, immunodepressi...

Ci sono anche complicazioni extra polmonari molto rare come:

- Miositi (> nei bambini > dopo 'flu B)
- Complicazioni cardiache (Miocarditi)
- Encefalopatia (8 casi >21 anni in Michigan nel 2003)
- Fegato e CNS: sindrome di Reye
- Sistema nervoso periferico: sindrome di Guillain-Barré

Diagnosi

- In periodo epidemico la diagnosi viene fatta su base di dati anamnestico-clinico-epidemiologici
- Talvolta è necessario fare una diagnosi di laboratorio per escludere agenti che causano sintomi simili
- RICERCA GENOMA (RT-PCR)
- TEST RAPIDI

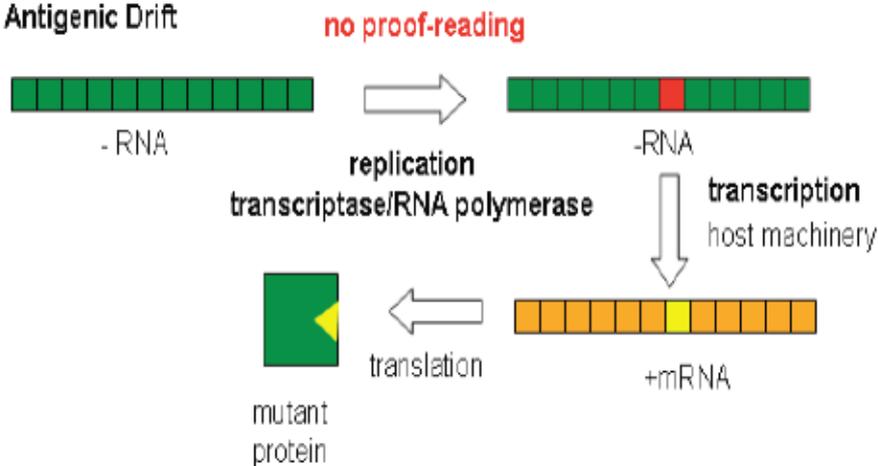
I ceppi influenzali aviari possono mantenere o acquistare la trasmissibilità all'uomo in due modi:

- Mutazione dei geni virali (antigenic drift)

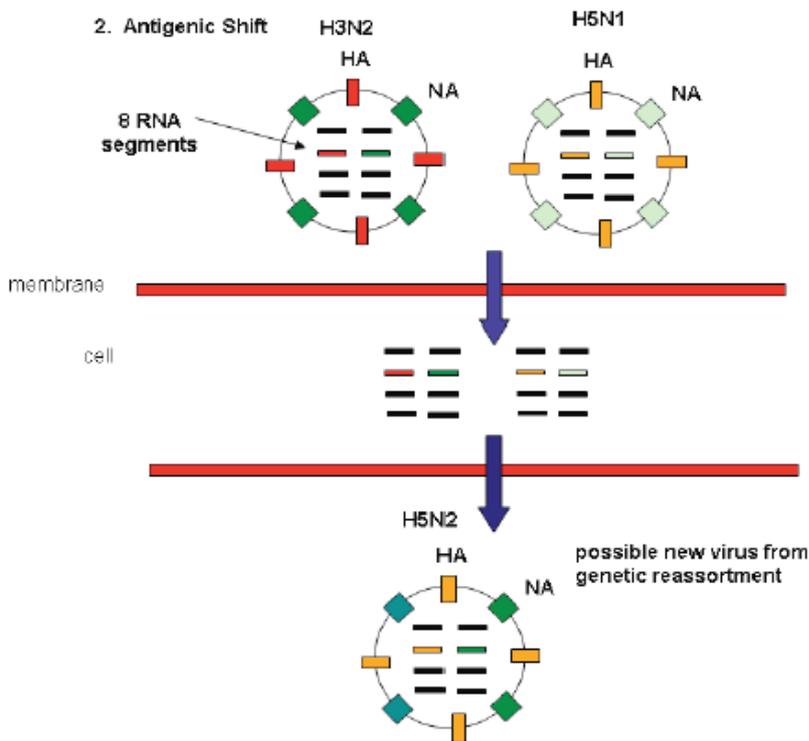
- Riassortimento (antigenic shift)

- HA e NA accumulano mutazioni puntiformi
- Gli anticorpi preesistenti non proteggono più in maniera completa
- Casi sporadici, **epidemie annuali**

1. Antigenic Drift



L'antigenic Shift è invece un riassortimento degli antigeni di superficie HA e NA



- “Nuove” HA e NA
- Gli anticorpi preesistenti non proteggono affatto
- Può verificarsi una *pandemia*

Questo tipo di mutazione può portare al cosiddetto “salto di specie”, per il quale un ceppo influenzale che attacca gli animali può infettare anche l’uomo. L’HA permette l’adsorbimento del virus alla cellula tramite il legame con i residui di acido sialico delle glicoproteine delle cellule ospiti.

- Le HA dei **ceppi influenzali umani** legano preferenzialmente l’acido sialico con legame α 2,6 al galattosio, mentre le HA dei ceppi aviari legano preferenzialmente i residui con legame α 2,3.

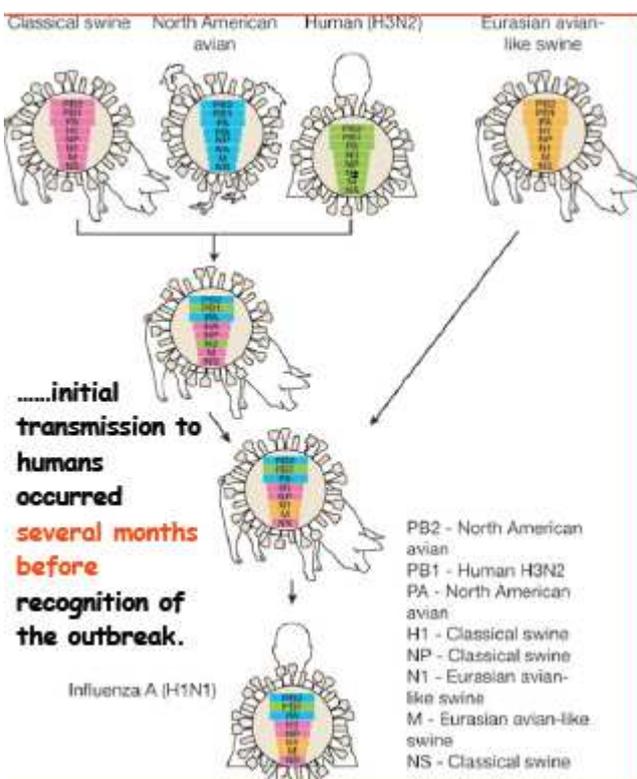
- La diversa affinità per le diverse forme di acido sialico crea una barriera di specie che ha una base molecolare.

Si pensa che il responsabile del salto di specie sia il suino che possiede alla superficie delle cellule degli epiteli mucosi respiratori residui terminali di acido sialico sia con legame α 2,6 che α 2,3 e può, quindi, essere infettato da virus influenzali A umani ed aviari.

E’ stato anche dimostrato che i virus influenzali A che si replicano nell’organismo del suino sembrano andare incontro ad una selezione che favorisce una maggiore presenza di virioni con emoagglutinina che si lega preferenzialmente ai residui di acido sialico con legame α 2,6.

È proprio nei casi di antigenic shift che si può sviluppare una pandemia, i cui prerequisiti sono:

- **Primo**, deve emergere un nuovo virus nei confronti del quale la popolazione generale ha poca o alcuna immunità
- **Secondo**, questo virus deve essere in grado di replicare negli uomini e causare la malattia



- **Terzo**, questo virus **deve essere trasmesso in modo efficiente da un uomo all’altro**. La

trasmissione è considerata efficiente quando si osserva una catena di trasmissione prolungata che causa epidemie in comunità ampie.

Un nuovo virus (H5N1) preoccupa in maniera particolare perché muta rapidamente, acquisisce facilmente geni da virus che infettano altre specie animali, aumenta il suo spettro d’ospite, se il virus acquisirà geni più adatti all’uomo, sarà facilitata una trasmissione efficiente da uomo a uomo, cosa che per il momento non c’è.

Nel periodo marzo – aprile 2009 si è sviluppato un nuovo ceppo influenzale, H1N1, detta “influenza suina”

Il nuovo virus H1N1 è il risultato del riassortimento di ben 4 ceppi virali:

- 1) Umano
- 2) Aviario
- 3) Suino (diffuso nord America)
- 4) Suino (diffuso in Europa-Asia)

La patogenicità di questa influenza è poligenetica, tipica dei virus a bassa patogenicità.

VACCINO

Si cerca di indovinare quale sarà il nuovo virus per il nuovo anno.

- Vaccino a virus inattivato: risposta IgG
- Vaccino a sub unità per i bambini
- Vaccino vivo attivato ricombinante: fatto crescere nell’uovo embrionato

Per fare un vaccino bisogna conoscere il ceppo pademico.

TERAPIA

• AMANTADINA e RIMANTADINA

- Blocca il trasporto di protoni attraverso i canali ionici delle membrane cellulari
- Altera la proteina M2 bloccando il denudamento virale
- Efficace solo contro i ceppi A

• ZANAMIVIR (RELENZA), OSELTMAVIR (TAMIFLU)

- Analoghi dell’acido sialico
- Inibiscono la NA
- Efficaci contro virus A e B
- Necessità di somministrazione precoce

Ma soprattutto servono liquidi, riposo e antipiretici.

DIAGNOSI

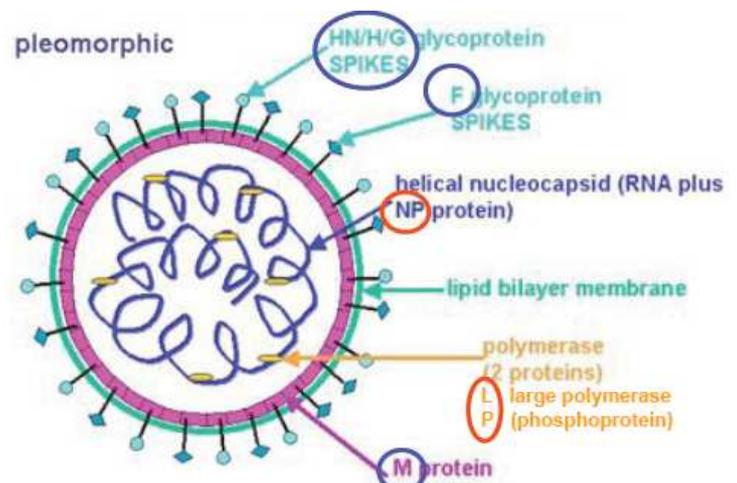
Le tecniche utilizzate sono:

1. Amplificazione genica (real time RT-PCR) di sequenze specifiche di M (fluA e fluB), NP (SWfluA), HA1 (nuova variante) e di sequenza del gene umano Rnasi P (controllo interno) direttamente dal campione clinico Diagnosi di tipo A o B e di sottotipo H1N1v, idoneità del campione
2. Sequenziamento di geni HA e NA direttamente dal campione clinico Analisi della variabilità
3. Isolamento virale su cellule MDCK Test di sensibilità farmacologica, test genetici (estesa tipizzazione molecolare)
4. Determinazione rapida di antigene dell’influenza A (kit del commercio), fortemente sconsigliata sens 40-50%

PARAMYXOVIRIDAE

Struttura

- sottofamiglia *Paramyxovirinae*
 - *Respirovirus* (parainfluenza 1 e 3)
 - *Rubulavirus* (parainfluenza 2, 4a, 4b e parotite)
 - *Morbillivirus* (virus del morbillo)
 - *Henipavirus* (Hendra e Nipah virus)
 - *Avulavirus* (Newcastle disease - aviaria)
- sottofamiglia *Pneumovirinae*
 - *Pneumovirus* (virus respiratorio sinciziale)
 - *Metapneumovirus*



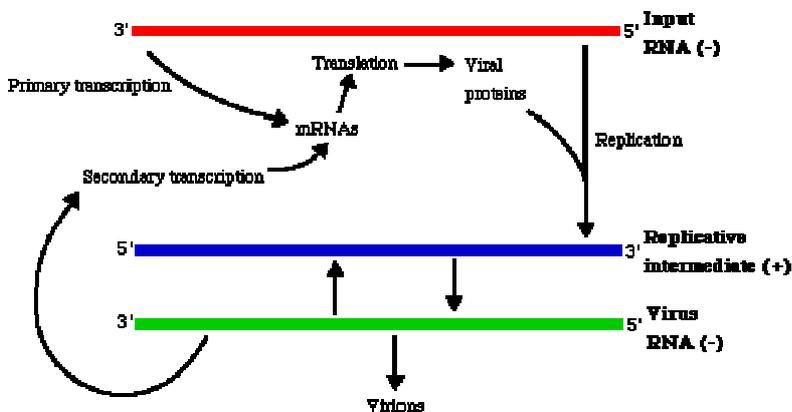
- Virus a RNA a singolo filamento negativo
- Nucleocapside elicoidale
- Provvisti di envelope molto fragile
- Medie dimensioni (150-300 nm di diametro)
- Pleomorfi (forme filamentose)
- Infezione primaria apparato respiratorio

Proteine

HN	responsabile (antirecettore) dell'attacco del virus ai recettori delle cellule sensibili; attività emoagglutinante + <u>neuraminidasi</u> (respirovirus, rubulavirus) <u>si lega all'acido sialico</u>
H	priva di attività neuraminidasi (morbillivirus); si lega a CD46 e CD150 agglutina solo eritrociti di primati.
G	nessuna attività (pneumovirus), si lega a recettori cellulari diversi dall'acido sialico, che non sono presenti sulla superficie dei globuli rossi, per cui questi virus sono sprovvisti di attività emoagglutinante;
F	consiste di 2 subunità (F1 + F2), legate da ponti disolfuro, responsabili della fusione cellulare (fusogena) e dell'attività emolitica.
M	si trova nella superficie interna del pericapside (matrice) e, probabilmente, interviene nella regolazione del processo maturativo virale. Affinità per NP e per la parte interna delle glicoproteine
NP	nucleoproteina; protezione dell'RNA genomico. Regola del 6, una NP ogni 6nt
L e P	attività RNA-polimerasica. L'attività guanil e metil transferasica di L permette il capping al 5'-end dell'mRNA

Quando H si lega al CD46 o al CD150 si ha un'alterazione conformazionale di F che causa l'esposizione di un peptide idrofobico che si inserisce nella membrana della cellula iniziando la formazione del fuso di alfa – eliche che inizia ad accorciare la distanza tra membrana e envelope, l'unica differenza con l'influenza è che non avviene nell'endosoma.

Genoma e Replica



La replicazione del virus avviene nel citoplasma, diversamente da quella del virus dell'influenza che avviene

nel nucleo. Il virus non ha bisogno di primer esogeni o di processi di replica della cellula. I sei geni del virus sono arrangiati linearmente e la trascrizione di questo genoma darebbe origine a un messaggero policistronico che deve diventare monocistronico. All'inizio e alla fine di ogni ORF ci sono delle sequenze intergeniche.

La pol si attacca alla sequenza leader e inizia a trascrivere un RNA+ fino a riconoscere un sito di poliA, si stacca dal genoma e l'RNA si libera; nel frattempo la pol riconosce il sito d'inizio del secondo gene e inizia a trascriverlo. Il processo è molto efficiente all'inizio del genoma quindi il prodotto più abbondante è NP, cioè il primo gene che viene trascritto, mentre quello meno espresso è L, che comunque non serve in grandi quantità; la concentrazione di NP che si lega all'RNA nascente determina il cambio tra trascrizione e replica perché impedisce alla pol di riconoscere il sito di stop.

Le glicoproteine di superficie vengono glicosilate e maturano nel Golgi, dal quale poi gemmano. Il nuovo virione che poi uscirà dalla cellula per gemmazione.

RSV (virus respiratorio sinciziale)

Patogenesi

- Principale responsabile delle malattie respiratorie dei bambini tra 1 e 6 mesi di vita (50% bronchioliti e 25% polmoniti nei lattanti)
- Esistono due sottotipi A e B, il primo sembra essere causa di infezioni più impegnative
- Frequentemente associato a CAP (*community acquired pneumonia*) in adulti e anziani
- Diffusione nei mesi invernali e inizio primavera
- Trasmissione per via aerogena e per contatto con mani e superfici contaminate
- Incubazione di 4-5 giorni, il virus viene eliminato per 1-3 settimane
- Solitamente non si ha viremia
- Negli adulti (a parte negli anziani) la sintomatologia respiratoria non è grave
- Gli effetti patologici sono inizialmente causati dalla replicazione del virus nell'epitelio respiratorio
- Nei bambini sono possibili sia forme non gravi sia forme di **bronchiolite** e di **polmonite** che possono essere molto pericolose, sono conseguenti alla risposta immune (necrosi degli epitelii e ostruzione del lume dei bronchioli)
- L'infezione **non** conferisce immunità totale
- Le infezioni successive alla prima sono però meno gravi
- Gli anticorpi materni sono protettivi per poco tempo perché il livello degli anticorpi cade rapidamente (indice di diminuzione = 50% al mese) al di sotto di quello protettivo
- Il ruolo del sistema immune, soprattutto della risposta cellulomediata, nell'eziopatogenesi dei sintomi non è chiarito:
 - Sembra che l'integrità del sistema immune, soprattutto l'immunità cellulo-mediata sia importante per risolvere l'infezione ed evitare la diffusione a sistemi diversi da quello respiratorio (fegato, rene e miocardio)
 - Tuttavia la necrosi dell'epitelio respiratorio determinata dalla risposta cellulo-mediata contribuirebbe all'ostruzione delle vie aeree più piccole

Diagnosi

- La sierologia non è utile per prendere decisioni cliniche
- Isolamento virale, ma l'effetto citopatico appare lentamente anche dopo 10 giorni
- Dimostrazione del genoma virale mediante RT-PCR
- Dimostrazione antigeni virali mediante immunofluorescenza e immunocromatografia

Profilassi e Terapia

- Non esiste un vaccino efficace
- Profilassi passiva mediante somministrazione periodica di anticorpi monoclonali umanizzati anti- RSV (*palivizumab*)
- Ribavirina, somministrata per aerosol, è indicata in bambini prematuri o immuno compromessi e nelle forme più serie.

METAPNEUMOVIRUS

- È stato isolato da bambini olandesi nel corso di una epidemia di polmonite e bronchiolite non sostenuta da RSV nel 2001
- L'infezione è molto comune nell'infanzia ed in genere limitata al tratto respiratorio superiore (virtualmente tutti i bambini sotto i 5 anni sono stati esposti)
- È causa di 10-20% delle virosi acute dei bambini
- È tipicamente associato alle infezioni respiratorie di comunità (CAP)
- Circola prevalentemente in inverno-primavera
- Nella epidemia di SARS 2003 è stato dimostrato come un patogeno associato in diversi casi

VIRUS PARAINFLUENZALI

- Infettano le vie respiratorie superiori
- Incidenza massima in autunno-inverno (1,2) uniforme per il tipo 3
- Sintomatologia simile a influenza o raffreddore
- Le infezioni più gravi interessano distretti profondi del tratto respiratorio (croup con i tipi 1 e 2, bronchiolite e polmonite, di norma con il tipo 3), la risposta cellulosa mediata contribuisce alla patologia
- *Secondi solo a RSV come causa di infezioni severe alle vie aeree inferiori in bambini e neonati*
- Immunità di breve durata perché prevalentemente basata sulla risposta IgA -> sono possibili le reinfezioni
- Non sono disponibili farmaci e vaccini

Diagnosi

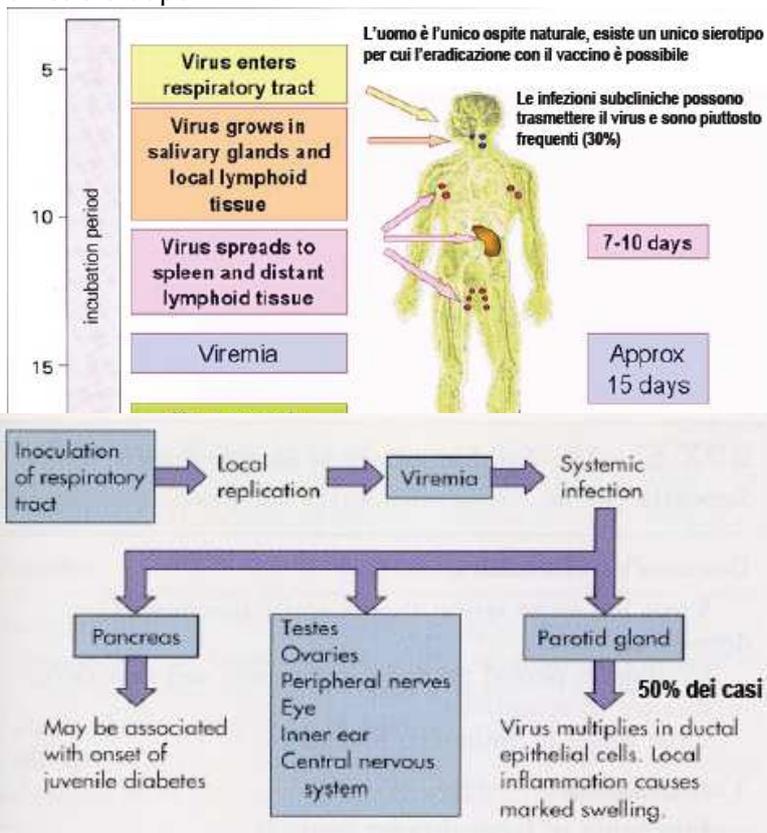
- Isolamento virale (LLC-MK2), scarso effetto citopatico
- Dimostrazione acidi nucleici virali
- **Dimostrazione antigeni virali (IF)**
- Sierologia poco utile (gli anticorpi sono crossreattivi tra i vari tipi) se non nella infezione primaria

Terapia

- Ribavirina per aerosol per alleviare la secchezza e ridurre la viscosità delle secrezioni tracheobronchiali
- Non esistono vaccini efficaci

PAROTITE

Provoca un'infezione sistemica il cui unico ospite è l'uomo, il virus è eradicabile col vaccino perché c'è un unico sierotipo.



il virus entra nel tratto respiratorio, replica nelle ghiandole salivari e nelle mucose, viene trasportato al tessuto linfoide fino al fegato e milza, poi c'è viremia.

Diagnosi

- Diretta
 - isolamento (rene di scimmia, CPE lento)
 - RT-PCR
- Indiretta: sierologia
 - **IgM: infezione acuta** (all'esordio dei sintomi)
 - IgG: infezione progressa, immunità
- L'infezione fornisce una immunità permanente verso HN

- E' disponibile un vaccino a virus vivo attenuato
- Non si trasmette a contatti e da immunità permanente (>25 anni)
- Controindicato in
 - Pazienti non immunocompetenti
 - Donne gravide

Guarigione rapida dopo la comparsa del rash:

- Importante la risposta T
- I pazienti carenti di Ig guariscono
- I pazienti con difetto delle cellule T possono avere sindromi gravi (polmonite)

La malattia è più grave nei giovani adulti.

La deriva dei casi verso l'età giovane-adulta è correlata ad una incompleta copertura vaccinale delle classi di età infantile che possono mantenere il virus nella popolazione, l'immunità di gregge non funziona se la copertura non arriva al 95%.

L'infezione provoca una temporanea immunosoppressione dovuta a:

- Infezione diretta di linfociti e monociti (linfopenia) (CD150)
- Ridotta risposta proliferativa dei linfociti T agli stimoli antigenici
- Sbilanciata produzione di citochine verso una risposta TH2 piuttosto che TH1 con conseguente soppressione della immunità cellulare
- Alcuni test possono negativizzarsi falsamente e si possono riattivare infezioni latenti (Herpes, TBC)
- È la malattia più immunodeprimente che esista

Encefalite da Morbillo

Encefalite post-infettiva conseguenza dell'infezione dei neuroni si osserva dopo la fase acuta nel 0,05-0,1% dei casi, con un tasso di mortalità del 15%

Sequela: sordità, epilessia, disordini mentali

Encefalomielite post-infettiva si presenta dopo l'esantema (1/1000), caratterizzata da infiammazione demielinizzazione, ha una possibile genesi autoimmune (il virus non è isolabile)

Encefalite progressiva letale si osserva a mesi di distanza in soggetti con deficit dell'immunità cellulare mediata, il virus è isolabile.

L'indice di mortalità per encefalite associata a morbillo è del 15%; il 25% dei sopravvissuti mostra sequela.

Pan encefalite subacuta sclerosante

Malattia degenerativa (progressivo deterioramento mentale, movimenti involontari, rigidità muscolare e coma)

- Alto tasso di anticorpi neutralizzanti nel siero e nel liquor.
- Presenza di nucleocapsidi tipici dei paramyxovirus e di antigeni del morbillo nei neuroni e nelle cellule gliali
- Isolamento da biopsie cerebrali di una variante del virus del morbillo. Virus difettivo: viene espresso un limitato repertorio di geni virali -> assenza di particelle virali mature (agisce come un virus lento)
 - rara (7/1,000,000 casi)
 - meno presente da quando si usa il vaccino

Diagnosi

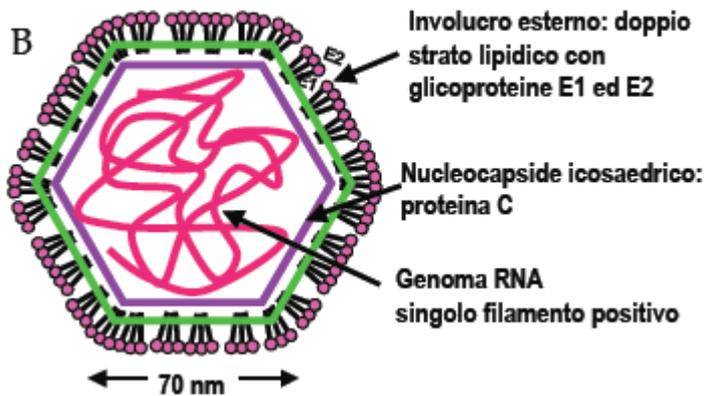
- **Sierologia:** aumento del titolo IgG nella coppia di sieri (acuto e convalescente) o **positività IgM** in un unico siero prelevato tra la prima e la seconda settimana dall'esordio dei sintomi
 - **Isolamento virale**
 - **Dimostrazione genoma RT-PCR**

Vaccino

- Vaccino a virus vivo attenuato
- Non si trasmette a contatti
- Controindicato in
 - Pazienti non immunocompetenti
 - Donne gravide

TOGAVIRUS

Struttura



i Togavirus si dividono in due generi:

• Alphavirus

- trasmessi da vettori
- Virus dell'Encefalite Equina, Semliki Forest Virus, Chikungunya: 27 specie con caratteristica distribuzione geografica, poco diffuse in Europa, causano patologie variabili da un semplice rialzo febbrile (con o senza esantema maculare e/o artrite) ad encefaliti severe

• Rubivirus

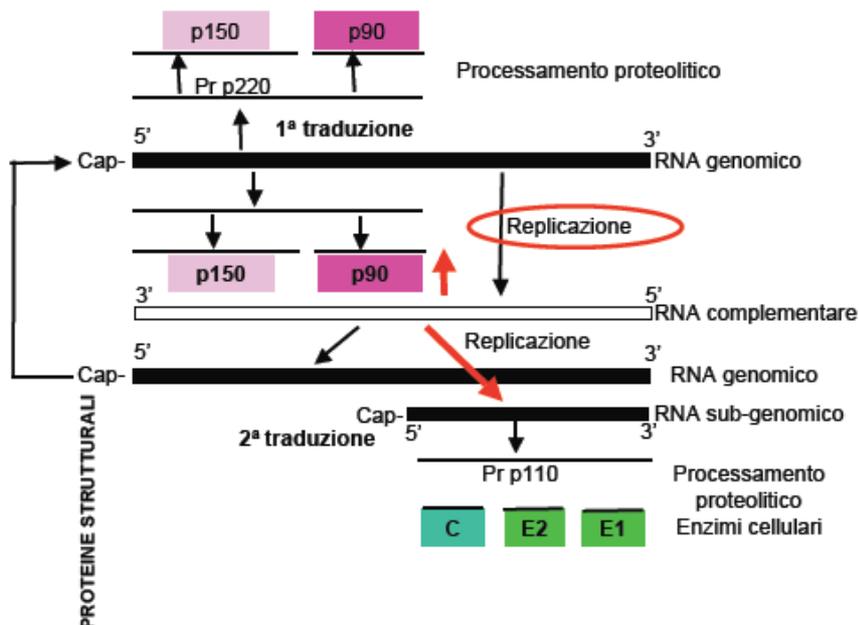
- non trasmessi da zanzare
- virus della rosolia (il primo virus riconosciuto come agente teratogeno)

ROSOLIA

Genoma e Replica RNA (+)



- A filamento positivo, intorno a 10 Kb
- Struttura simile a quella dell'mRNA cellulare
- Le proteine non strutturali sono all'estremità 5' dell'RNA virale
- Alto contenuto di guanosina e citosina (69%)



PROTEINE NON STRUTTURALI

La penetrazione avviene per endocitosi mediata da recettore e formazione dell'endosoma, il rilascio dell'acido nucleico avviene in seguito alla fusione delle membrane dopo acidificazione della vescicola. Il genoma funziona come messaggero e sui ribosomi viene prodotta una poliproteina che si

auto cliva nelle proteine con attività enzimatica non strutturali che includono la RNA polimerasi RNA dipendente per la trascrizione di un intermedio replicativo (RNA senso negativo) che viene a sua volta trascritto in due messaggeri di 42/49S e 26S, quest'ultimo viene tradotto sui ribosomi associati al reticolo endoplasmico rugoso (RER) in una poliproteina dalla quale viene immediatamente scissa la proteina del capsido, quindi una sequenza segnale associa la restante poliproteina nascente al RER dove la traduzione viene terminata, la poliproteina viene glicosilata e tagliata dalle proteasi cellulari nel Golgi. Le proteine del capsido si assemblano tra loro e con il genoma 49S a formare capsidi maturi che a loro volta si associano alle regioni della membrana infarcite di glicoproteine E1 ed E2. Il virus esce per gemmazione dalla membrana plasmatica della cellula.

- L'assemblaggio virale avviene in corrispondenza delle membrane
 - la regione segnale di C interagisce con le membrane, C viene scissa dalla proteina nascente da una segnal-peptidasi cellulare e può assemblarsi per formare i capsidi
 - la regione basica di C interagisce con una sequenza al 5' dell'RNA genomico per il packaging
 - la sequenza segnale della poliproteina E2-E1 favorisce la sua traslocazione nel lume del reticolo endoplasmico, proteasi cellulari separano le singole proteine dell'involucro che vanno incontro al processo di maturazione e glicosilazione nel Golgi prima di essere rilasciate sulla membrana cellulare
 - la regione ricca di arginina di E2 interagisce con C
- Il virus non uccide le cellule ma disturba in molti casi le *luxury functions* utilizzate dalle cellule per la loro replicazione

Patogenesi

- Trasmesso per aerosol è molto contagioso
- In circa il 25% dei casi l'infezione è subclinica
- il virus è eliminato alcuni giorni prima dell'insorgenza dei sintomi e per una-due settimane dopo la loro comparsa
- Epidemie periodiche ogni 6-9 anni in popolazioni non vaccinate

La presenza e la diffusione del virus nel e dal faringe precede e segue l'esantema (*rush*), il paziente è infettivo dal momento dell'infezione fino a 1-2 settimane dopo la comparsa dell'esantema che, spesso, a parte la febbre, è l'unico sintomo clinico.

La linfoadenomegalia è un segno prodromico, coincide con la viremia, precede febbre ed esantema, quest'ultimo può durare da 3 a 10 giorni.

La presenza nel siero di anticorpi dosabili di classe IgM correla con la comparsa del *rush* che probabilmente è causato dalla formazione di immunocomplessi.

Gli anticorpi di classe IgG vengono prodotti con un lieve ritardo e permangono determinabili nel siero per tutta la vita, documentando la pregressa infezione da virus della Rosolia.

Sintomi:

- Mal di gola, raffreddore, malessere
- Linfoadenopatia
- Febbre
- Esantema cutaneo maculo-papulare continuo di colore rosaceo (immunocomplessi)
 - Raramente dura più di 3 giorni
 - Talvolta è brevissimo
- Artrite, artralgia (immunocomplessi)
- Encefalite post-infettiva (molto rara)

Il virus della Rosolia è importante a livello clinico soprattutto perché può essere trasmesso al feto causando la Sindrome Rubeolica Congenita:

- Il rischio è altissimo nelle prime 12 settimane di gravidanza
 - 20% dei casi: aborto spontaneo
 - 65-85% dei neonati con sequele (CRS) a carico:
 - degli **occhi**
 - del **cuore**

- del **sistema nervoso centrale**

Diagnosi

- l'esantema può non apparire o essere confuso con quello sostenuto da altri virus
- molti altri agenti causano sintomi identici
- **Sierologia**
 - IgM positive infezione acuta
 - Infezione acuta o recente (fino a 6 settimane dopo la scomparsa dei sintomi)
 - Viene utilizzata anche nel sospetto di SRC, in quanto la persistenza del virus provoca nel feto la risposta IgM specifica a partire dalla 20a settimana di gestazione, ed il riscontro di IgM nel bambino indica inequivocabilmente infezione intrauterina
 - IgG positive progressiva infezione o vaccinazione (protezione)
 - Progressiva infezione o vaccinazione (protezione)
- Isolamento del virus
- Ricerca acido nucleico virale RNA

In caso di contemporanea presenza di IgG ed IgM o di sieroconversione IgG, in assenza di sintomi, in una donna nelle prime 8-12 settimane di gravidanza

- Viene misurato il legame delle IgG all'antigene prima e dopo una lieve denaturazione
- Alta avidità
 - Infezione contratta almeno 3-4 mesi prima o reinfezione
- Bassa avidità
 - Infezione recente

Diretta

- Da tampone faringeo sei giorni prima del rush fino a una settimana dopo la comparsa
- Nel neonato infettato in utero risultano positivi tamponi faringei, feci, urine e CSF
 - **RT – PCR**

Si basa solitamente sull'amplificazione del gene relativo a E1, in casi di sospetta infezione congenita può essere usata per analizzare il liquido amniotico o i villi coriali.

Vaccino

- Esiste un vaccino a VIRUS ATTENUATO
- Non deve essere somministrato a donne gravide ma è consigliato a tutte le donne in età fertile che non presentino anticorpi
- Se la donna vaccinata è in età fertile la gravidanza deve essere evitata per almeno un mese
- La vaccinazione in Italia è fortemente raccomandata ma non è obbligatoria, viene eseguita tra i 12-15 mesi di vita (la somministrazione può essere fatta nell'ambito del vaccino trivalente per Morbillo, Parotite e Rosolia), è previsto un richiamo in età prescolare tra gli 11-12 anni.

Vaccino trivalente:

- **Morbillo** vivo attenuato ottenuto da coltura su fibroblasti umani o di pollo
- **Parotite (Mumps)** vivo attenuato ottenuto da coltura su fibroblasti umani o di pollo
- **Rosolia** vivo attenuato ottenuto da coltura su fibroblasti umani

ZOONOSI

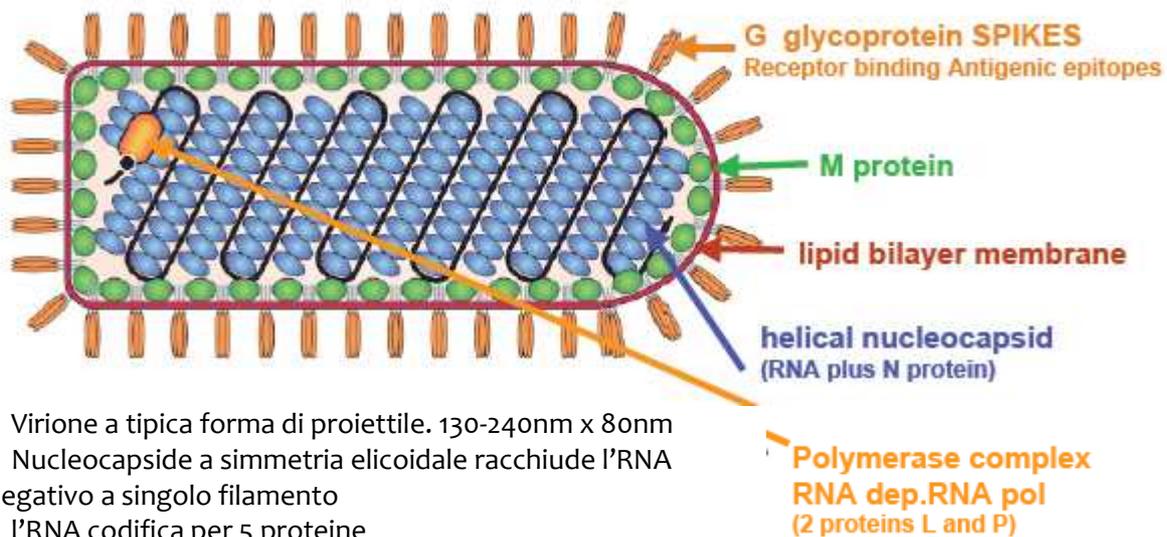
Le zoonosi sono infezioni e/o malattie degli animali vertebrati che possono essere trasmesse all'uomo. La causa di questo apparente aumento sembra essere la urbanizzazione, la globalizzazione e la distruzione degli habitat, perdita di biodiversità.

La trasmissione può avvenire tramite:

- 1) **DIRETTAMENTE dall'animale vertebrato (morso, fluidi biologici, inalazione)**

RABDOVIRUS

Struttura



- Virione a tipica forma di proiettile. 130-240nm x 80nm
- Nucleocapside a simmetria elicoidale racchiude l'RNA negativo a singolo filamento
- l'RNA codifica per 5 proteine

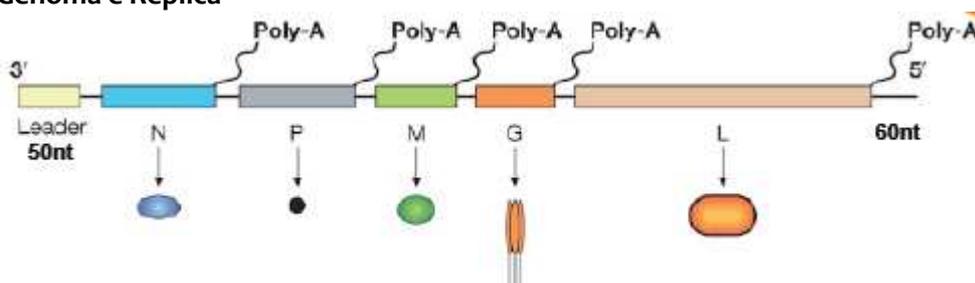
– G, M, N, L, NS(P)

- Presenza di envelope
- Spettro d'ospite molto ampio
- Labile nell'ambiente

Viene trasmesso tramite:

- MORSO DELL'ANIMALE RABBIOSO
 - TRAPIANTI DI TESSUTI INFETTI
 - INALAZIONE DI VIRUS PER AEROSOL (RARA)
- Nelle grotte dove vivono pipistrelli

Genoma e Replica



La replica avviene come nei Paramyxovirus, anche qui i geni sono allineati e sono separati da regioni intergeniche e anche qui c'è un gradiente di trascrizione; la prima proteina è N che protegge l'RNA e permette la replicazione di RNA interi. I messaggeri che invece non sono legati alla nucleoproteina sono adibiti alla trascrizione e alla traduzione per le proteine strutturali e non. Il ciclo di replica avviene nel citoplasma ed è diviso in tre fasi differenti:

- il virus entra in contatto con la superficie cellulare tramite un recettore nicotinico per l'acetilcolina, il virus entra tramite endocitosi seguita dalla fusione della membrana virale e di quella dell'endosoma per rilasciare il genoma virale.

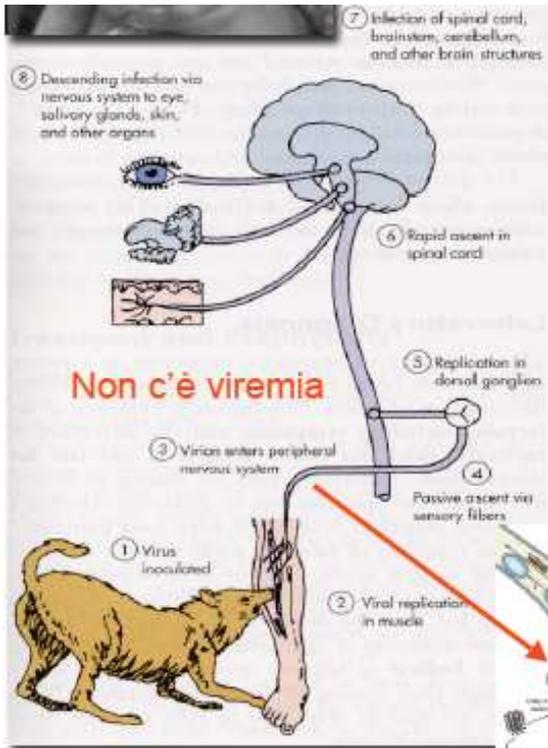
- vengono prodotti i componenti virali

Assemblaggio dei componenti virali e rilascio del virus della rabbia che può iniziare un nuovo ciclo replicativo.

Questi eventi replicativi avvengono tutti in compartimenti citoplasmatici che funzionano come una fabbrica di virus e appaiono come un caratteristico corpo incluso citoplasmico noto come i corpi perinucleari del Negri.

Patogenesi

- La via di trasmissione più frequente è attraverso il morso di un animale rabido.
- A seguito dell'inoculazione il virus si replica localmente, probabilmente nei fibroblasti, poi penetra nei nervi periferici ed assume un andamento centripeto.
- La durata dell'incubazione (da 10 giorni a >2 anni, solitamente 1-2 mesi) dipende dall'inoculo e dalla distanza del morso dal sistema nervoso centrale. C'è tutto il tempo di fare una profilassi post-esposizione



- La malattia comporta necrosi neuronale e si pensa che le lesioni siano dovute almeno in parte alla risposta immune
- Solo sei persone sono sopravvissute ad una infezione certa da virus della rabbia, cinque di queste hanno ricevuto profilassi prima dell'esordio dei sintomi

1. Fase prodromica (2-10 giorni)

- Variabili, spesso mis-conosciuti
- Formicolio, parestesia al sito del morso, cefalea
- Febbre, tosse, mal di gola, mialgia
- Anoressia, nausea, vomito,

2. Fase neurologica (2-7 giorni)

- Confusione, allucinazioni, convulsioni, rigidità nucale, paralisi spastica, idrofobia

3. Fase comatosa (5-14 giorni)

- Coma, paralisi respiratoria, morte

Diagnosi

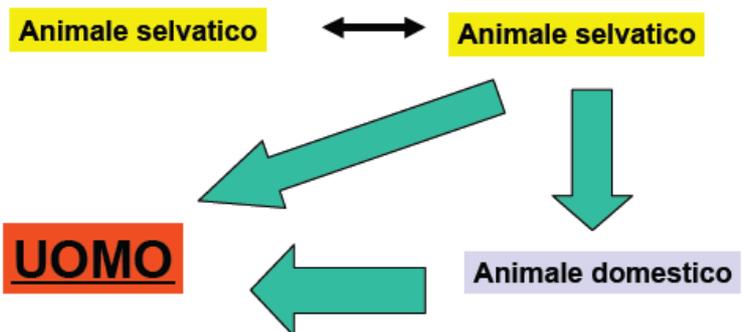
- Istopatologia post-mortem - Corpi del Negri nelle cellule dell'ippocampo (80%).

- Immunofluorescenza (IFA): viene ricercato il virus (antigeni virali) in preparati biotici fissati su vetrino.

- Isolamento virale: possibile ma ovviamente pericolosissima e difficile (topolino neonato, colture cellulari).

- **RT-PCR:** saliva

- **Sierologia:** gli anticorpi (sierici e/o liquorali) sono solitamente presenti all'insorgere della sintomatologia.



Nell'uomo

- ESISTE UN UNICO SIEROTIPO

- >95% DELLE MORTI NEL MONDO SONO ASSOCIATE ALLA RABBIA CANINA

- ~75% DELLE MORTI NEGLI USA (1990-2004) SONO ASSOCIATE ALL'INFEZIONE DEI PIPISTRELLI

Ad oggi il quadro epidemiologico europeo individua 10 paesi "rabies free" che, secondo la definizione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, sono Stati in cui non sono stati riportati casi indigeni della malattia da almeno 2 anni. L'Italia era fra questi dal 1997 ma dal 2008 si sono avuti casi di rabbia silvestre in tassi e volpi nelle regioni del NORD EST (Friuli Venezia Giulia, Veneto).

Immunoprofilassi

– Prima dell'esposizione:

Somministrazione del vaccino a virus inattivato a persone appartenenti a categorie a rischio di esposizione.

– Dopo l'esposizione:

Nel caso di morsi in aree endemiche l'animale deve essere osservato per due settimane. Se si sviluppano sintomi e segni di rabbia l'animale viene ucciso ed esaminato. Nel caso di animale selvatico non catturato si deve considerare la specie e la diffusione della rabbia nella zona.

Se veniamo morsi da un animale rabbioso dobbiamo pulire la ferita e procedere all'immunizzazione passiva con somministrazione di immunoglobuline e a quella attiva con la somministrazione di cinque dosi di vaccino inattivato.

Alcuni virus possono essere trasmessi dai **roditori**:

FAMIGLIA	ENVELOPE	SIMMETRIA	GENOMA
 Arenaviridae	si	elicoidale	ssRNA ambi-senso 2 segmenti
 Bunyaviridae genere Hantavirus	si	elicoidale	ssRNA senso(-) 3 segmenti

possono provocare:

- FEBBRE EMORRAGICA (HF)
- FEBBRE EMORRAGICA CON SINDROME RENALE (HFRS)
- SINDROME POLMONARE DA HANTAVIRUS (HPS)

- Gli animali con infezione persistente disperdono il virus nell'ambiente attraverso urine, feci, saliva
- L'uomo si infetta per via respiratoria in seguito a contatto con oggetti o cibi contaminati, o per inalazione di polveri contaminate con escrementi.

ARENAVIRUS

Struttura

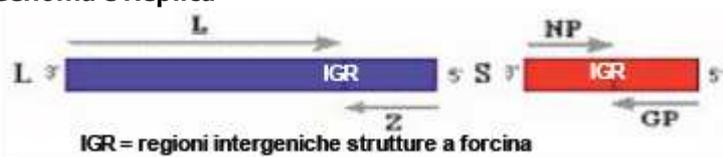
Ha un aspetto sabbioso perché trascina con sé i ribosomi quando gemma.



Arenaviridae

- Pleiomorfo, 62-200 nm Ø
- RNA virus a singolo filamento (-)
- Il genoma consiste di 2 segmenti separati di ssRNA, ognuno dei quali è trascritto in entrambi i sensi (organizzazione ambisenso)
- Nucleocapside a simmetria elicoidale formato dalla proteina N e dall'RNA polimerasi L
- Envelope contiene due glicoproteine GP1 e GP2

Genoma e Replica



Ognuno dei due segmenti ha una porzione positiva ed una negativa. La parte negativa del segmento deve essere trascritta in un messaggero, dal segmento S abbiamo la nucleoproteina e da quello L la polimerasi. In presenza di N si passa dalla fase di trascrizione a quella di replica. La trascrizione si ferma alla sequenza intergenica e poi procede ed avremo un RNA complementare a ciascun segmento genomico, ciò vuol dire che i geni non ancora trascritti possono essere letti dalla polimerasi che trascrive i geni Z e GP.

Patogenesi

L'Arenavirus provoca FEBBRI EMORRAGICHE.

Nell'uomo la malattia è associata ai seguenti sintomi che si osservano dopo un inizio insidioso ed aspecifico, nei 7-15 gg precedenti

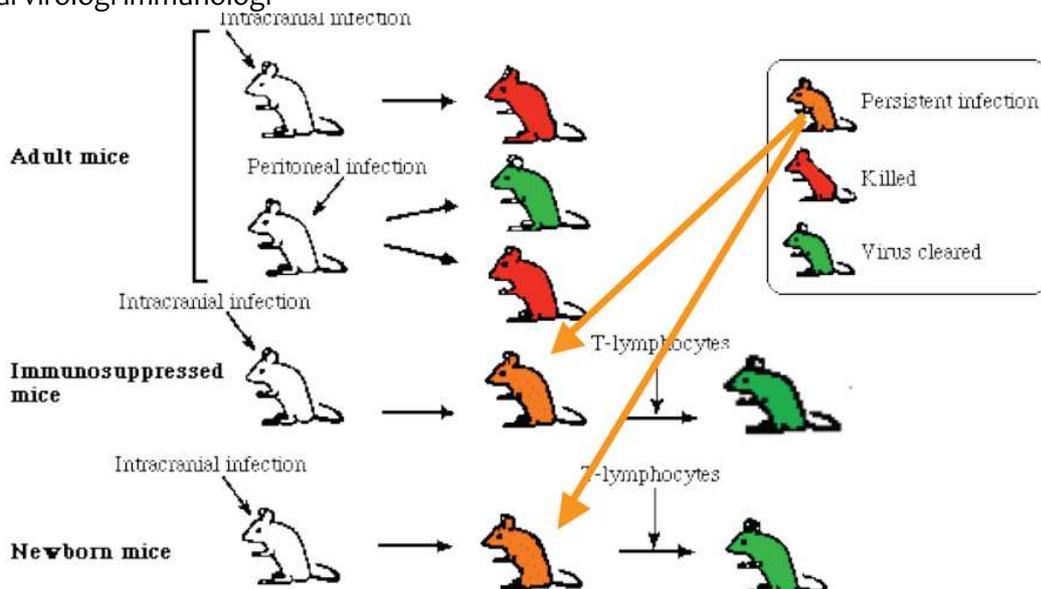
- Disidratazione
- Concentrazione del sangue
- Emorragia
- Sindrome da shock (riduzione del volume), il cuore non riesce a pompare il sangue concentrato
- Collasso cardiovascolare
- Tasso di mortalità: 5-35%

Una di queste febbri è quella di Lassa:

- Ospite naturale: ratto domestico *Mastomys natalensis* (Nigeria) infezione cronica, virus adattato all'ospite
- Infezione umana (rara) evolve verso una forma grave nel 20% dei casi, altamente infettiva (il contagio interumano è una modalità di trasmissione: epidemie ospedaliere)
- È una malattia febbrile, severa, sistemica, esantemi emorragici. Alta mortalità (36-60%)
- 300.000 infezioni e 5.000 morti all'anno per febbre di Lassa in Africa centrale e occidentale
- L'applicazione di rigorose procedure nell'assistenza infermieristica e l'adozione di misure di protezione possono impedire la trasmissione ai sanitari
- L'agente è classificato come un patogeno di livello 4

L'altra è la Coriomeningite Linfocitaria:

- L'infezione umana è rara spesso sub-clinica
- I casi clinici sono caratterizzati da una malattia bifasica:
 - Sintomi simil-influenzale, nausea, vomito
 - Possono seguire meningite, e/o encefalite
 - Normalmente si guarisce (talvolta sequelae)
- L'ospite naturale è stato studiato come modello per l'infezione cronica fornendo molte informazioni ai virologi immunologi

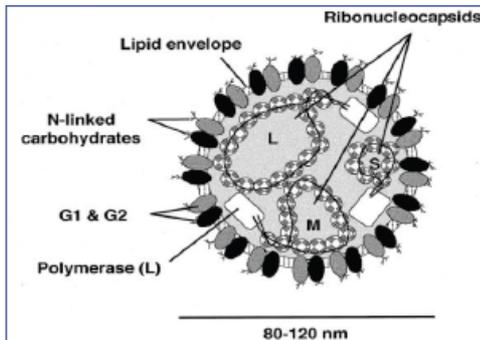


I topi immunodepressi permettevano la persistenza del virus e se l'immunità veniva data dall'esterno il virus veniva ucciso. Se invece il topo era immunocompetente la risposta citotossica uccideva il topo.

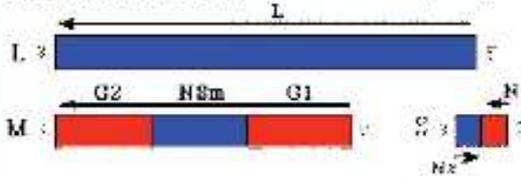
BUNYAVIRUS

Genere Hantavirus trasmesso da Roditori

Struttura



BUNYAVIRUSES: (-)sense/ambisense, 3 segments



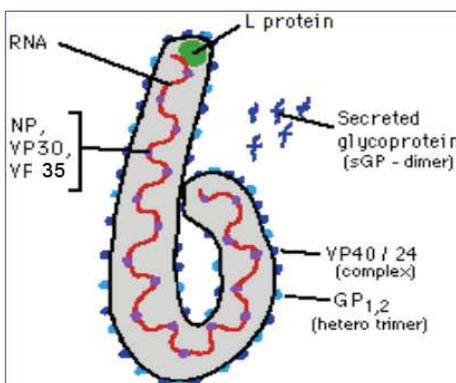
E' un virus a RNA a orientamento (-) a tre segmenti.
La replica è come quella dell'Arenavirus.

Questo virus provoca la Sindrome Polmonare da Hantavirus che ha un tasso di mortalità del 36%:

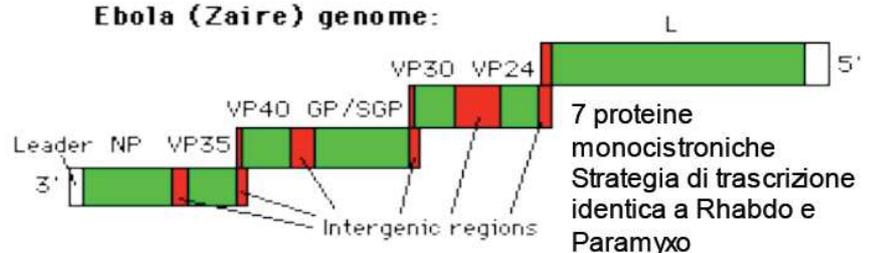
Iniziali	Evoluzione	Rari
Febbre	Vertigini	Rinorrea
Mialgia	Artralgia	Mal di gola
Nausea/vomito	Affanno (tardivo nel corso della malattia)	
Raffreddore	Sindrome da distress respiratorio	
Sostenuta da molti virus il più conosciuto è Sin Nombre		

FILOVIRUS

Struttura



Ebola (Zaire) genome:



- Infezione diffusa e circoscritta all'Africa
- Non è noto il vettore né la riserva naturale, ma alcuni pipistrelli erbivori ed insettivori supportano la replicazione senza ammalare
- I primati possono infettarsi consumando arbusti contaminati (ceppo Reston isolato da macachi in Virginia)
- Infezioni asintomatiche nell'uomo sono sporadiche
- L'infezione determina febbri emorragiche
- Tasso di mortalità fino a 60-90% con certi ceppi
- La viremia è molto elevata ed il malato altamente infettivo → stringenti barriere di protezione del personale che fornisce assistenza ospedaliera

Patogenesi

- Incubazione: 4-16 giorni
- **Sintomi iniziali:** mal di testa, dolori e malessere generalizzato, febbre
- **Sintomi tardivi:** diarrea profusa, dolori addominali, nausea, vomito, gola secca, anoressia
- Dopo 1 settimana rash maculo-papulare con trombocitopenia e manifestazioni emorragiche interne ed esterne (mucose, pelle, orifizi)
- Coagulazione intravasale disseminata (causa di ischemia nei tessuti e depauperamento dei fattori della coagulazione) e sindrome da shock sono la causa finale di morte

È un'infezione sistemica che causa lesioni in quasi tutti gli organi, particolarmente fegato e milza.

Le complicazioni emorragiche potrebbero essere determinate dal fatto che VP40 associata alla membrana è antigenicamente correlata con delle proteine della matrice cellulare dei vasi, determinando un attacco autoimmune.

Trattamento e Prevenzione

- Agenti anti-coagulanti, inibitori del fattore VIIa, si sono mostrati efficaci con le scimmie
- Strategie per un possibile vaccino in base alle GP
- Utilizzo di sistemi di protezione e osservazione di misure di biosicurezza di livello 4.

2) Indirettamente attraverso la puntura di un insetto ematofago che funge da vettore

- La vita delle zanzare si intreccia strettamente a quella dell'uomo, in quanto la maggior parte delle **femmine** di questa famiglia **si nutre di sangue** umano o degli animali domestici e, dal momento che quando la femmina punge l'uomo o un altro animale, gli inietta un po' della sua saliva, se la zanzara è portatrice di parassiti, questi possono infestare il malcapitato; si tratta pertanto di insetti molto studiati perché trasmettono un gran numero di malattie
- Ci sono centinaia di arbovirus che possono infettare l'uomo, non tutti provocano malattia; l'uomo rappresenta un **ospite occasionale** privo di un ruolo nel **ciclo di mantenimento** (eccezioni febbre gialla e dengue)

Gli Arbovirus provocano malattie come:

- ENCEFALITI
- MALATTIE FEBBRILI
- FEBBRI EMORRAGICHE

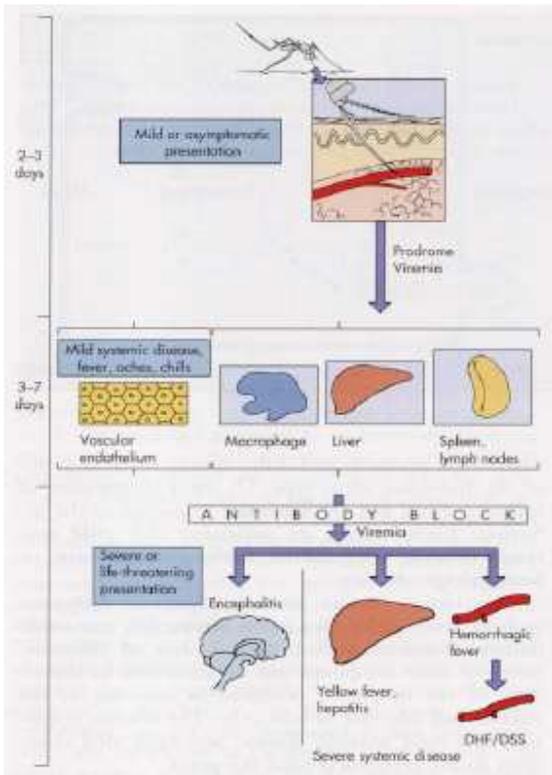
La severità e l'incidenza sono spesso inversamente proporzionale all'età. L'indice di mortalità varia da raro a 35%.

Le epidemie sono sporadiche e comunque non prevedibili, le infezioni sono spesso ASINTOMATICHE.

La replica iniziale interessa le cellule endoteliali nel caso dei Togavirus e le cellule della linea macrofagica nel caso dei Flavivirus. La risposta interferonica provoca nell'ospite una sindrome simile all'influenza con malessere generale, nausea, vomito, mialgia e febbre.

Se l'ospite non riesce a contrastare l'infezione subentra la viremia secondaria che si manifesta con encefaliti ed epatiti.

Patogenesi



- Replicazione nella sede d'ingresso, Langherans, linfonodi regionali
- La viremia primaria è associata con lievi sintomi sistemici, normalmente l'infezione è controllata a questo punto
- Se gli anticorpi non riescono a bloccare il virus questo raggiunge (grazie alla viremia secondaria) gli organi target producendo la malattia sistemica severa o l'encefalite.

Si guarisce grazie all'Interferone, all'immunità cellulo – mediata e anticorpi che possono giocare un ruolo importante nel controllare la viremia secondaria (le IgG danno immunità permanente).

Diagnosi

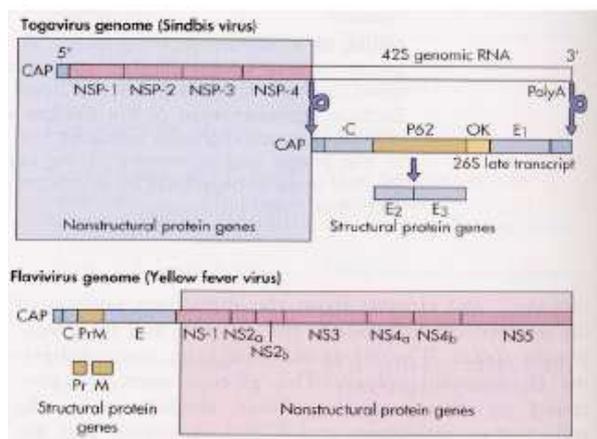
- La diagnosi clinica è complicata perché molti agenti causano gli stessi sintomi
- La diagnosi di laboratorio viene fatta in laboratori specializzati dotati di aree separate (P3- P4) per la manipolazione di campioni biologici pericolosi (livello di biosicurezza 3 e 4)

- Tecniche immunoenzimatiche per la ricerca di antigeni o anticorpi
- RT-PCR per la ricerca dell'acido nucleico
- La positività per IgG indica progressa infezione e immunità permanente

FAMILY	ENVELOPE	SYMMETRY	GENOME
 Togaviridae Flaviviridae	yes	icosahedral	ssRNA (+ve)
 Bunyaviridae	yes	helical	ssRNA (-ve) segmented
 Reoviridae	no	icosahedral	dsRNA, segmented

TOGAVIRUS e FLAVIVIRUS

Genoma (RNA a senso +)



Il Togavirus replica come per la rosolia, mentre per il Flavivirus la traduzione avviene direttamente sul RER, gemma dal Golgi ma esce per esocitosi causando la morte della cellula. Nel caso del Flavi viene prodotta una poliproteina che poi viene clivata.

Gli Arbovirus possono causare sia ENCEFALITI che FEBBRI EMORRAGICHE.

Le encefaliti sono sporadiche e molto spesso asintomatiche e non sempre se si hanno sintomi,

l'infezione è così grave, anzi molto spesso un'infezione da Arbovirus non viene nemmeno diagnosticata. Il Flavivirus provoca l'Encefalite da West Nile Virus: il reservoir è costituito da uccelli. Essi possono essere punti da insetti ematofagi che occasionalmente possono andare ad infettare altri mammiferi o addirittura l'uomo.

Tra i Bunyavirus c'è il Phlebovirus che è il responsabile della meningite Toscana, trasmessa all'uomo da un pappataccio. È sospettato di essere un virus neurotropo perché è in grado di provocare infezioni neurologiche acute in alcuni animali; tra i Phelbos solo il Toscana è agente eziologico di meningiti o meningoencefaliti.

Diagnosi

- La meningite da TOSV è clinicamente indistinguibile da quelle provocate da altri virus
- Utile il criterio epidemiologico: stagione estiva
- Evoluzione favorevole

Per quello che riguarda le Febbri Emorragiche il Flavivirus provoca la **Febbre di Dengue** i cui sintomi sono, febbre, che coincide con la viremia, mal di testa, dolori retro – orbitali, mialgia (è detta anche “febbre rompi ossa”), può essere confusa con morbillo, influenza o rosolia, spesso l'infezione è asintomatica. Il problema della febbre di Dengue si ha nel caso di reinfezione: gli anticorpi prodotti con la prima infezione aiutano l'entrata del virus nei macrofagi, quindi la patologia è su base immune. I monociti rilasciano mediatori vasoattivi che aumentano la permeabilità vasale determinando la sindrome emorragica.

Le reinfezioni da Dengue possono essere frequenti perché esistono 4 sierotipi del virus in circolazione, che causano emorragie, ipovolemia, ipotensione, scompenso circolatorio.

Trattamento e Prevenzione

- Nei casi di febbre di Dengue
 - Riposo a letto e controllo della temperatura e dei dolori con antipiretici
- Nei casi severi di DHF
 - Somministrazione di fluidi endovena
 - Trasfusioni
 - Farmaci sintomatici:
 - No aspirina o ibuprofene (anticoagulanti) Si paracetamolo
 - Non esiste vaccino efficace
 - Attuazione di programmi di controllo per combattere le zanzare

Il Flavivirus provoca anche la Febbre Gialla, che però non deve preoccupare perché c'è un vaccino che va effettuato se si va in aree endemiche.

VIRUS delle GASTROENTERITI VIRALI

REOVIRUS

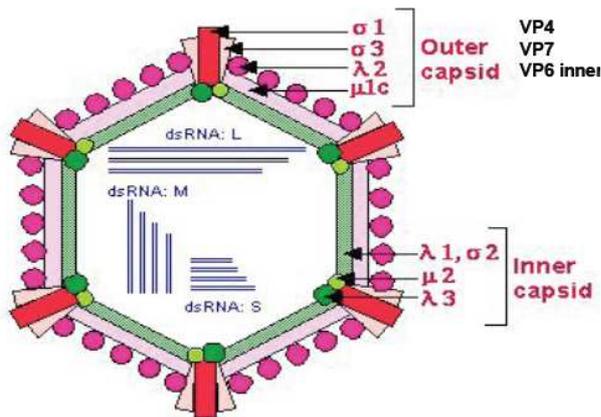
Struttura

- Dimensione media 60-80 nm
- Resistente a condizioni estreme (pH, cong., detergenti)
- **Doppio rivestimento capsidico**
- Core proteico
- Genoma: **dsRNA**
- Segmentato 10-12 segmenti
 - Rotavirus 11 segmenti
- Una leggera proteolisi (che avviene nell'intestino) ->ISVP attiva il virus per la replicazione
- Il sistema di trascrizione è associato al core
- Il genoma rimane sempre all'interno del core, quindi la replica non avviene né nel nucleo né nel citoplasma.

Ogni anno l'infezione da Rotavirus è causata da:

- 125 milioni di casi di diarrea
- 25% di tutte le morti dovute a diarrea
- 6% di tutte le morti in bambini <5 anni.
- Nei paesi sviluppati l'impegno economico per contrastare l'infezione è molto elevato, stimato >1 miliardo di dollari in USA
- Nei paesi poveri il tributo quotidiano pagato è la morte in 85% di tutti i casi di diarrea, ed in 82% di tutte le diarrea da Rotavirus

Genoma e Replica



d/s RNA segmentato - 10 (Reo) / 11 (Rota) segmenti distinti in tre differenti classi di taglia:

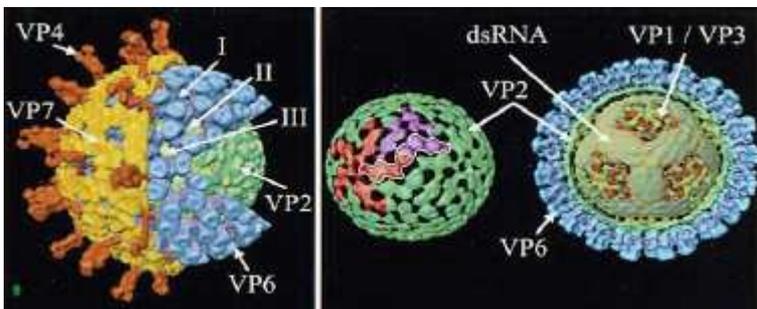
L - codifica le proteine dette lambda

M - codifica le proteine dette mu

S - codifica le proteine dette sigma

- VP1,2,3: costituiscono il core virale
- NSP4: proteina non strutturale enterotossica

- VP4 e 7: mediano l'entrata. Inducono anticorpi neutralizzanti e definiscono il sierotipo G e P.
- VP6: pori per l'uscita di RNA. Formano l'involucro ext e rappresentano l'antigene di gruppo.



La proteina VP7 è sensibile alla degradazione da parte di una proteasi nel tratto gastrointestinale, la proteasi attiva la proteina per l'attacco VP4 che si lega all'acido sialico presente sulle glicoproteine. Dopo l'entrata del virus avviene la trascrizione che avviene nel virus stesso e produce mRNA che viene

tradotto nelle proteine non strutturali. Con l'aumento della concentrazione di NP inizia la trascrizione di trascritti non dotati di cappuccio che diventano intermedi replicativi che non vengono tradotti ma fungono da stampo per gli RNA (-) per formare il doppio filamento nelle particelle in formazione. Nel RER avviene l'assemblaggio.

Patogenesi

La replicazione avviene negli enterociti maturi dell'epitelio colonnare all'apice dei villi dell'intestino tenue, viene danneggiato il meccanismo di trasporto grazie all'attività della proteina NSP4 che è un'enterotossina con alterazione nell'assorbimento dell'acqua e perdita secca di liquidi e sali.

- Trasmissione fecale-orale
- Asintomatica negli adulti
- Le infezioni prevalgono nel periodo invernale (da novembre a maggio)
- Immunità: presenza di IgA secretorie, ma sono possibili le reinfezioni a causa dei molteplici sierotipi
- Incubazione 1-4 giorni
- Diarrea (10-20 episodi al giorno)
- Febbre
- Dolori addominali
- Vomito
- Disidratazione (-> acidosi, collasso cardio-circolatorio, morte)

Diagnosi

- Isolamento in coltura molto difficile
- **Ricerca diretta dell'antigene** (gruppo A) nelle feci: saggi rapidi di agglutinazione al latex, IC o ELISA
- Ricerca anticorpi non utile
- Microscopia elettronica (definizione gruppi)
- Analisi elettroforetica dell'RNA (definizione gruppi)
- RT-PCR (tipizzazione)

Trattamento e Prevenzione

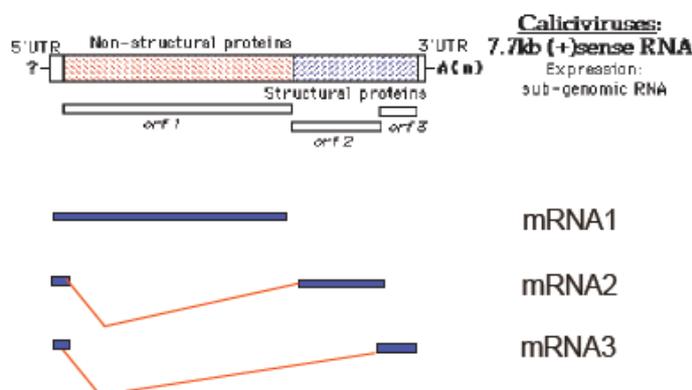
- Non esiste terapia specifica
- Terapia di supporto e.v. o orale
- Miglioramento delle condizioni igieniche
- Formulazione di un vaccino efficace
- 1998 vaccino vivo attenuato (basato sul riassortimento di ceppi G1-2-4 + 1 ceppo G3 da primati -> occlusione intestinale (1:12000 vaccinati)
- 2003 Rotarix (vaccino vivo orale attenuato basato sul sierotipo più comune G1): ha superato la fase II con ~90% di protezione in 215 poppanti, protegge contro altri tipi è stato introdotto in Messico nel 2004 e utilizzato in Africa
- 2006 Rota Teq licenziato per l'uso in USA vaccino vivo orale ottenuto da un ceppo bovino riassortito con proteine di superficie dei sierotipi umani G1-4 e P1A8

NOROVIRUS e ASTROVIRUS

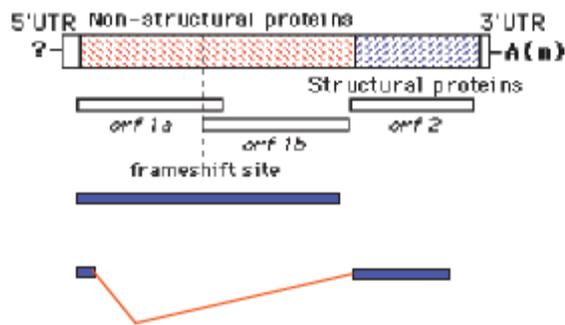
Struttura

- Piccoli e rotondi 28-40 nm
- Resistenti a condizioni estreme (pH, essiccamento, detergenti)
- Capside a simmetria icosaedrica
- Genoma: RNA senso(+) lineare poliadenilato
- Replicazione nel citoplasma
- Espressione dei geni precoci e tardivi attraverso splicing alternativi o frameshifting
- Possono crescere in colture cellulari ad eccezione del Norwalk

Genoma e Replica



Gli RNA subgenomici sono resi monocistronici mediante **splicing differenziale** i messaggeri precoci mRNA 1 codificano per proteine non strutturali con funzione enzimatica. I messaggeri tardivi, mRNA 2 and 3 codificano per proteine strutturali.



6.8kb (+)sense RNA

Expression:
sub-genomic RNA

mRNA1a/b

mRNA2

Gli mRNA monocistronici subgenomici vengono prodotti mediante splicing differenziale.

Le 2 proteine codificate dalla stessa ORF1 si ottengono in seguito ad un evento di **frame-shifting** ribosomiale, determinato dalla ripetizione di 6U (U UUU

UUA

C, UUU UUU AC) che può indurre un errore di traduzione sul ribosoma con uno spostamento indietro del codice di lettura (frame -1).

Patogenesi (Norwalk-like virus)

- Causa il 40-60% delle gastroenteriti acute non batteriche in bambini >5 anni e adulti
- Episodi epidemici associati a consumo di alimenti (crostacei, molluschi) o acqua contaminati
- La replicazione nell'intestino tenue impedisce l'adsorbimento di acqua e nutrienti
- Incubazione 24-30 ore
- Esordio rapido con diarrea, vomito, crampi addominali, febbre, cefalea, malessere
- Guarigione rapida

CORONAVIRUS

Famiglia → Coronaviridae

Genere → Coronavirus

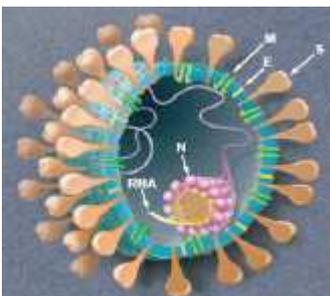
Gruppi antigenici: I e II infezioni di mammiferi III infezioni aviarie

All'interno di ciascun gruppo sono classificate diverse specie distinte in base allo spettro d'ospite, alle relazioni antigeniche, all'organizzazione genomica.

Determinano infezioni prevalentemente respiratorie ed enteriche, raramente epatite, che possono essere impegnative per gli animali.

I due coronavirus umani conosciuti fino al 2003 (HCoV-229E, gruppo I; e HCoV-OC43 gruppo II) sono responsabili di circa il 30% delle infezioni meno gravi alle alte vie respiratorie (per lo più il comune raffreddore).

Struttura

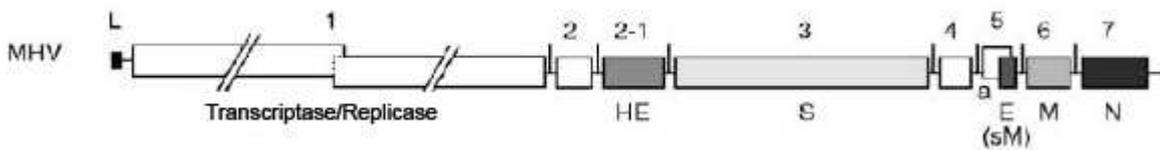


Virus rotondeggianti di 80-160 nm di diametro

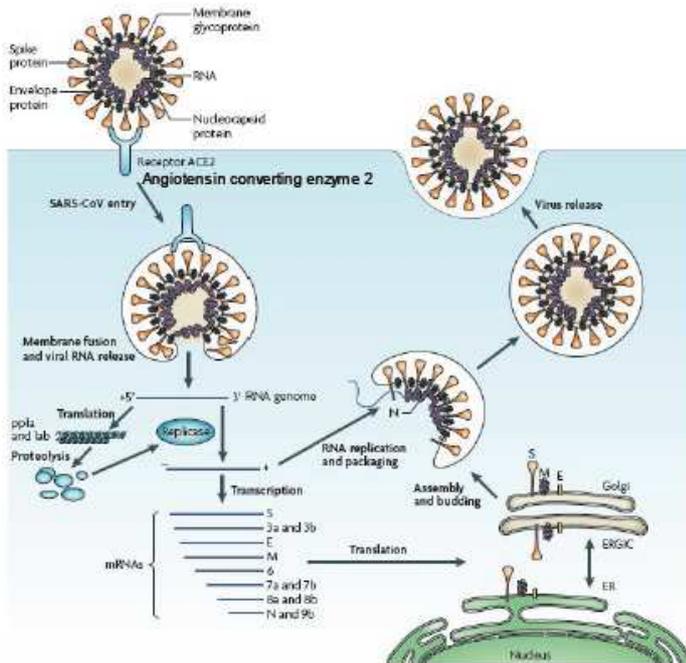
Formati da:

- rivestimento esterno glicoproteico formato da unità tozze e ben visibili (aspetto a corona)
- capside interno elicoidale di 20nm di diametro
- genoma: RNA monocatenario non segmentato (+) infettante di 27-31.000 paia di basi, presenza della nucleoproteina (eccezione).

Genoma e Replica



L'RNA presenta un cap al 5' e la polyA al 3'. Il segmento 1 codifica per le proteine non strutturali, il 3 per la glicoproteina, il segmento E codifica per le proteine dell'envelope, M per la membrana e N per la nucleoproteina.



Il virus entra nella cellula per mezzo di un recettore ACE2, c'è la formazione di un vacuolo endocitosico; le membrane si fondono e l'RNA viene rilasciato. Gli RNA sub genomici negativi vengono prodotti attraverso un meccanismo di trascrizione discontinua del genoma e servono come stampi per la sintesi di mRNA (ciascuno per una proteina).

Un RNA (-) a lunghezza intera serve da stampo per l'RNA genomico.

Il virus della SARS del 2003 è stato denominato SARS-CoV e determina

un'infezione respiratoria che può degenerare in una polmonite interstiziale ed è letale nell'11% dei casi, è geneticamente distinto da tutti gli altri Coronavirus ed è geneticamente simile a alcuni virus isolati in animali. Il reservoir è un tipo particolare di pipistrello. Successivi salti di specie dal pipistrello ad animali selvatici e da questi ai piccoli mammiferi venduti nei mercati in Cina. Questo ha dato origine ad un nuovo CoV in grado di infettare l'uomo!

Si trasmette per via aerea, per contatto con agenti inquinati o per contaminazione fecale. È comunque necessaria un'elevata carica virale. E' verosimile che il virus non si sia mai completamente adattato all'uomo e per questo motivo, intervenendo rapidamente con misure atte a prevenire il contagio è stato "facile" interrompere la trasmissione interumana. Imponenti misure di sanità pubblica atte a limitare la diffusione sono state in grado, almeno in questo caso, di controllare l'epidemia. Che questo è il modo con cui dovremo in futuro affrontare nuove minacce virali.

PICORNAVIRUS

PATOLOGIA DELL'UOMO ASSOCIATA ALLE INFEZIONI	
Genere	Principali patologie
Enterovirus	Infezioni del sistema nervoso centrale, del cuore, della muscolatura scheletrica, della cute e delle mucose
Hepatovirus	Epatite acuta
Rhinovirus	Raffreddore comune
Parechovirus	Gastroenteriti e malattie respiratorie (ex-Echov.22-23)
Kobuvirus	Gastroenterite alimentare (Aichi virus)
Aphovirus	Raramente colpisce l'uomo (Afta epizootica ungulati)
Cardiovirus	Episodi acuti febbrili (encefalite e miocardite roditori e suini)

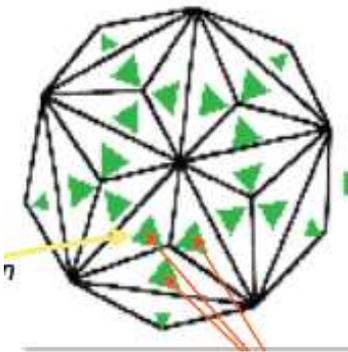
Infettano solo gli animali

Enterovirus: causano Poliomielite

Hepatovirus: sono separati dagli Entero per genetica

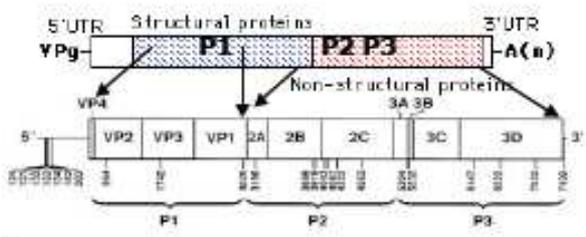
Rhinovirus: più di 100 tipi

Struttura



- PICCOLO: 22-30 nm
- ICOSAEDRICO
- 20 FACCE
- 12 VERTICI
- COMPOSTO DA 4 PROTEINE VP1 - VP4 assemblate insieme a formare un protomero. In corrispondenza di ogni vertice c'è un avvallamento formato da VP1,2,3 in fondo al quale c'è VP4.
- GENOMA RNA (+)
- SPROVVISTO DI ENVELOPE
- RESISTENTE

Genoma



Consiste di una molecola di RNA (+) a singolo filamento di circa 7,5Kb

* Ci sono due regioni non tradotte (UTR), una all'estremo 5' (600-1200 basi) (importante per la traduzione, la virulenza e l'incapsidamento); l'altra al 3' (50-100basi) (importante per la sintesi del filamento (-)). La 5' UTR contiene diverse strutture secondarie a forma di "foglia di trifoglio" e di stem loop conosciute

nel complesso come **IRES: Internal Ribosome Entry Site** che attaccano l'RNA direttamente al ribosoma sul codone AUG di inizio, non c'è bisogno di scanning o capping.

* Il resto del genoma è rappresentato da una singola ORF che codifica per una poliproteina

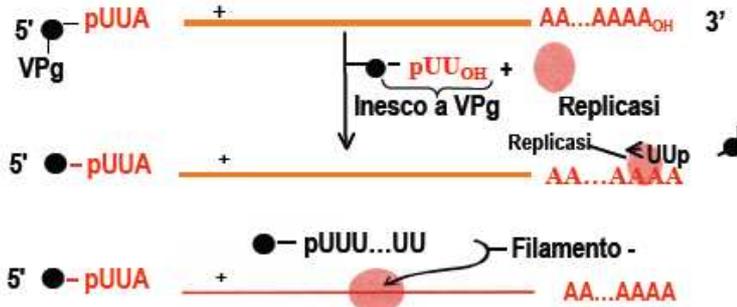
* entrambe le estremità sono modificate, al 5' dal legame covalente con una piccola proteina basica la **VPg** (~23 aa) importante per la *replicazione* e il packaging di RNA virale, al 3' dalla **poliadenilazione** (che è codificata nel genoma e non aggiunta dopo la trascrizione come per mRNA cellulari).

Replica

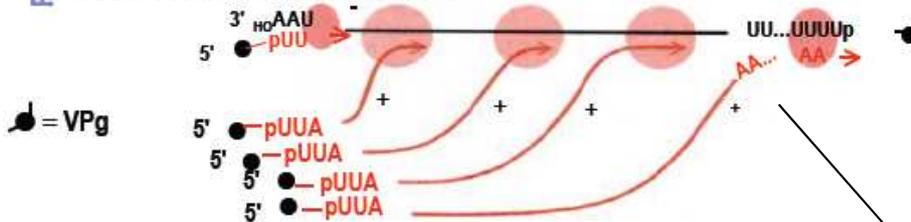
Dopo l'attacco sulla membrana della cellula, entra solamente il genoma che viene tradotto e clivato. Le PNS comprendono una proteasi e una replicasi (RNAPol – RNAdip). Si produce un intermedio (-) che funge da stampo per altri RNA che verranno impacchettati e tradotti.

Replicazione del poliovirus

La replicasi 3Dpol permette la poliuridilazione di VPg il che favorisce l'innescio al 3' per la produzione del filamento negativo



Intermedio di replicazione per la sintesi di multipli filamenti +:



L'attacco al recettore causa la perdita di VP4 per cui il virus non è più infettante e quindi deve iniettare il genoma nella cellula. I siti di legame per il virus sono simili agli anticorpi, per cui il sito di legame per il recettore è competitivo per gli anticorpi.

La replicazione dell'RNA inizia quando viene sintetizzata la proteina 3D che è la polimerasi che si lega a VPg e le attacca molte U e ciò favorisce l'innescio al 3' della produzione del filamento -.

La polyA è già nella sequenza genica!

Il rilascio avviene tramite la lisi della cellula.

ENTEROVIRUS

Poliovirus

Non causano gastroenteriti ma vengono trasmessi per via fecale-orale.

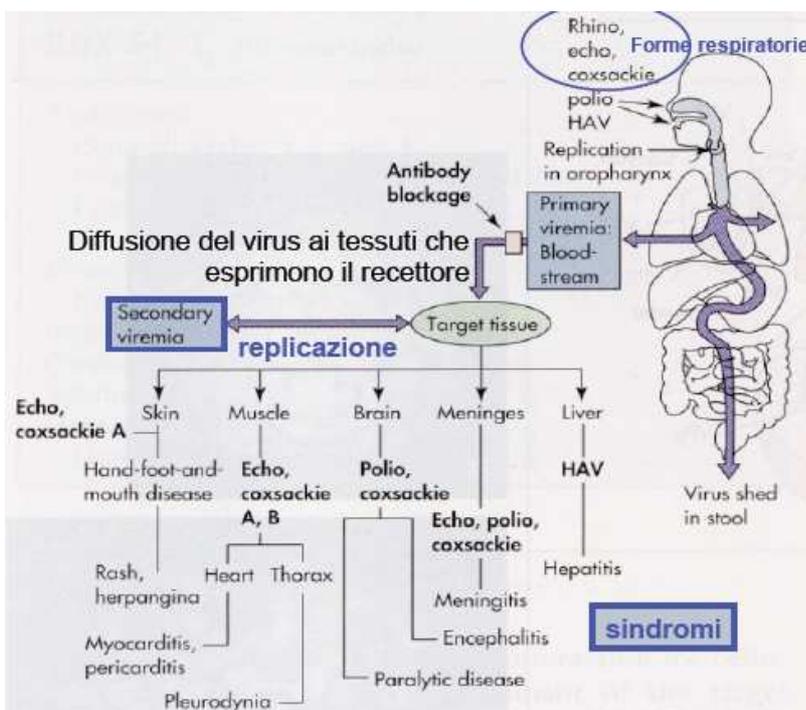
Coxsackie A

Causano infezioni molto comuni nell'uomo che spesso non vengono diagnosticate (isolamento difficile).

Coxsackie B

Echovirus

Entero



Patogenesi

- Trasmissione oro-fecale
- Periodo di incubazione una-due settimane.
- Il virus si replica nel tessuto linfoide delle mucose orofaringee e dopo l'ingestione (resiste al pH dello stomaco) in quelle intestinali. Il tropismo è determinato dalla presenza del recettore CD155
- Il sistema linfatico, ed in particolare le tonsille e le placche di Peyer sono invase dal virus, che successivamente si diffonde nel sangue dando luogo ad una viremia. (disseminazione agli organi bersaglio)

- **In una minoranza** di casi a seguito di una più intensa fase viremica si ha diffusione del virus nel sistema nervoso centrale.
- Immunità anticorpale è presente circa nello stesso periodo in cui compaiono i sintomi (7°- 10° giorno).
- Trasmissibilità 7-10 gg prima dell'esordio dei sintomi; il virus è presente nelle feci per 3-6 settimane.

È simile per tutti gli Entero, tranne che per il Rhinovirus che da invece infezione localizzata.

POLIOVIRUS

- 3 tipi (1, 2, 3), con bassa omologia nucleotidica (36- 52%). La poliomielite paralitica è associata in 85% dei casi al tipo 1
- Spettro d'ospite limitato all'uomo (e primati) perché hanno il CD155.
- Tropismo tissutale limitato a poche cellule che esprimono il recettore CD155 (neuroni del CNS e cellule linfoidi/epiteliali nell'orofaringe e nell'intestino) è primato-specifico
- Distribuzione globale. Nei paesi in via di sviluppo la maggior parte degli individui si infetta prima dei 5 anni.

L'infezione da poliovirus può avere tre possibili decorsi:

- **Infezione subclinica (90%)** - nella maggior parte di casi la malattia decorre in maniera asintomatica.
- **Malattia minore e polio non-paralitica (5-7%) o meningite asettica (1-2%)** – Sintomi non specifici, febbre, faringite, sintomi di lieve meningite. Diagnosi solo attraverso esami di laboratorio
- **Malattia maggiore (0,1 - 2%)** - Dopo una transitoria fase di benessere che segue la malattia minore, la sintomatologia riprende con gravi sintomi neurologici. La severità dipende dall'estensione del tessuto colpito e da quali neuroni sono colpiti. La poliomielite bulbare (muscoli respiratori, faringei e corde vocali) è caratterizzata da elevata mortalità e da gravi sequele.

Prevenzione

Non esistono farmaci antivirali. Sono invece disponibili due vaccini molto efficaci.

• Intramuscular Poliovirus Vaccine (IPV)

- Consiste di virus inattivato con formalina.
- Vengono prodotti solo anticorpi di tipo IgG. Non dà immunità mucosale ed il paziente può essere infettato con poliovirus wildtype, ma si previene la malattia maggiore.
- Il vaccino conferisce IMMUNITA' INDIVIDUALE
- Sicuro, anche in soggetti immunodepressi

• Oral Poliovirus Vaccine (OPV)

- Virus attenuato, privo di neurotropismo.
- Produce una immunità mucosale che impedisce la replica virale.
- Il vaccino conferisce IMMUNITA' DI GREGGE
- Causa raramente una malattia paralitica (<1 caso per milione)

Può essere trasmesso ai contatti e può subire ricombinazione se sono già presenti altri Enterovirus.

COXACKIEVIRUS

• Sono caratterizzati dalla patogenicità per il topo neonato. A seconda delle lesioni che inducono nell'animale a seguito di inoculazioni sono divisi in due gruppi.

- Gruppo A (CVA): miositi e necrosi dei muscoli volontari
- Gruppo B (CVB): aree di degenerazione cerebrale, miocardite.

- Ciascuno dei 23 del gruppo A e dei 6 del gruppo B presenta un **antigene tipo-specifico**
- Tutti i 6 Coxsackie del gruppo B e Cox. A29 condividono un **antigene gruppo-specifico**
- Cross-reattività si osservano tra alcuni del gruppo A ma non sono legate ad un comune antigene di gruppo.

ECHOVIRUS

- Sono stati scoperti accidentalmente, isolati da feci umane. Inizialmente non sono stati correlati a malattie (**Enteric Cytopathic Human Orphan virus**), per molti ancora non è stato possibile trovare un'associazione morbosa
- Non esiste un'antigene di gruppo
- Possono causare *congiuntiviti, esantemi, meningiti asettiche e miositi*.
- Sono associati alle *epidemie estive* di:
 - Meningite asettica
 - Malattie febbrili con esantema (bambini piccoli)

RHINOVIRUS

- Hanno una replicazione ottimale a 33°C e sono labili a pH acido
- Esistono più di 100 sierotipi (quindi infezioni ripetute!)
- Sono responsabili del raffreddore comune (malattia lieve ed autolimitante)
- I sintomi sono dovuti al danno sostenuto dall'epitelio ciliato del tratto respiratorio superiore (possibili superinfezioni batteriche)
- Si diffondono per via aerea e per contatto (mani, oggetti contaminati)
- Generano danno economico (perdita di giorni di lavoro)
- Nelle epidemie di comunità circola di solito il sierotipo più recente dando credito alla possibilità che ci sia una graduale deriva antigenica come nell'influenza

Diagnosi

Coxsackie B e Echovirus

- Diagnosi diretta mediante isolamento in coltura cellulare dei campioni biologici
 - Secrezioni e tamponi naso-gola
 - Feci
 - Liquido cefalo-rachidiano

Coxsackie A

- Isolamento in topolino neonato
- **Tecniche molecolari (RT-PCR)**
- Diagnosi sierologica poco utile.

Trattamento

- Pleconaril è un farmaco che blocca l'attacco al recettore e quindi lo scapsidamento e la replicazione virale, ma l'efficacia è legata alla sensibilità del virus (alcuni isolati non sono sensibili alla dose utilizzata e una buona parte di RV diventa resistente: bassa barriera genetica)
- Ha ampio spettro contro i virus che utilizzano lo stesso recettore (EV e RV)
- Somministrato per via orale.

EPATITE A

- Isolato per la prima volta nel 1973 da Purcell.
- HAV è un **Picornavirus** inizialmente classificato nel genere degli *Enterovirus* successivamente riclassificato in suo proprio genere: *Hepatovirus*.

• HAV è l'agente eziologico dell' **epatite infettiva epidemica**, a **trasmissione fecale orale**, frequentemente associata con il consumo di frutti di mare
≠Picornavirus perché:

Genetiche: sequenza nt e aa, taglia e funzione di alcune proteine (assenza di strutture a canyon, 2A non è una proteasi e VP4 non fa parte del virione)

Crescita in coltura di cellule: adattamento difficile, crescita lenta, mancanza di ECP la replicazione non è litica

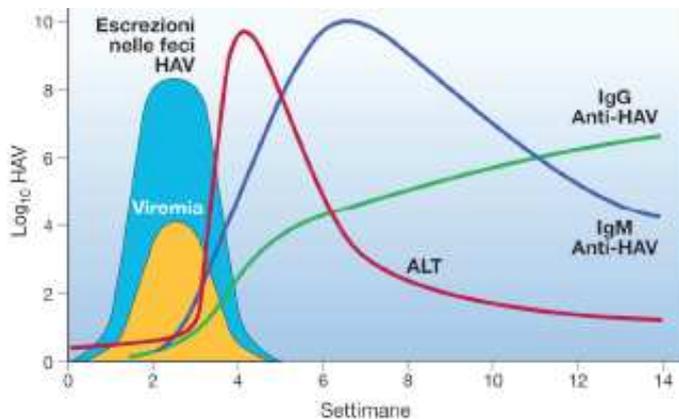
Sintomatologia su base immune piuttosto che virale

Resistenza a temp. e sostanze che inattivano altri picornavirus

Un solo sierotipo umano, un solo sito di neutralizzazione

Patogenesi

Ha un'incubazione di circa 30gg, la trasmissione è oro – fecale. Provoca l'ittero nella maggior parte dei casi negli adolescenti (>14 anni): rilascio della bilirubina nel sangue con urine marroni e feci bianche. Non si verifica mai un'infezione persistente!



Ingresso dal canale alimentare, moltiplicazione nell'intestino tenue e quindi escrezione nelle feci, dall'intestino tenue va in circolo quindi viremia e raggiungimento dell'organo bersaglio il fegato dove replica e non è citolitica i virioni vengono liberati attraverso processi secretori, i danni compaiono con la risposta immune.

C'è un rialzo delle transaminasi quasi contemporaneamente alla viremia.

Diagnosi

La diagnosi è sierologica: le IgM indicano un'infezione acuta, le IgG un'infezione pregressa con conseguente immunità.

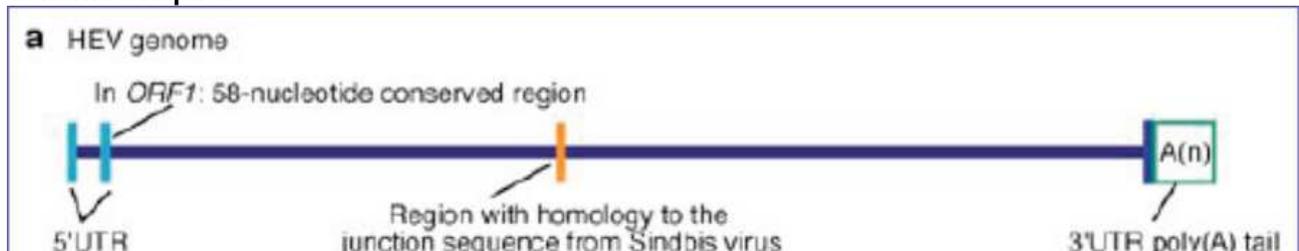
Profilassi

- E' disponibile un vaccino a virus inattivato di notevole efficacia e sicurezza
- In caso di possibile esposizione (o di rischio immediato) è consigliata una immunoprofilassi PASSIVA a base di immunoglobuline umane che è efficace nel prevenire lo sviluppo di epatite se fatta entro 15 giorni

EPATITE E

Prima si pensava che fosse un Calicivirus, poi lo studio del genoma ha identificato le differenze.

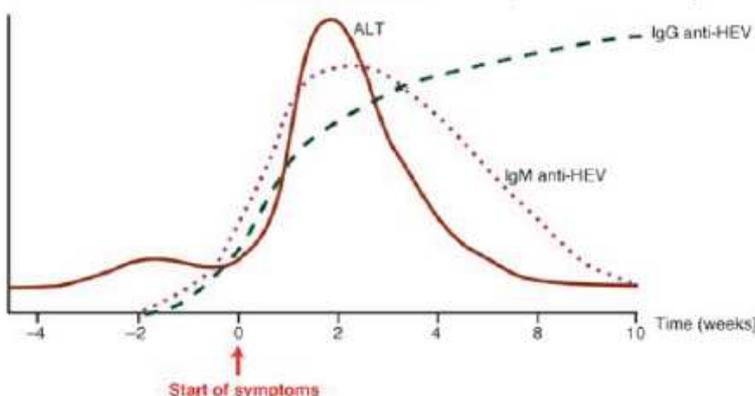
Genoma e Replica



Il genoma è simile a quello dei Togavirus con ORF al 3' e al 5'.

L'RNA viene subito tradotto nelle proteine non strutturali che permettono la replica e la trascrizione di RNA sub genomici che vengono tradotti nelle proteine strutturali. Il rilascio avviene per escitosi senza morte cellulare.

Patogenesi



Incubazione in media 40 giorni (range 15-60 giorni)

Tasso di mortalità nel complesso, 1%-3% in gravidanza (III° tri.) 15%-20%

Sintomatologia vomito, febbre, dolori addominali, ittero, innalzamento ALT: aumenta con l'età

Infezione persistente non identificata

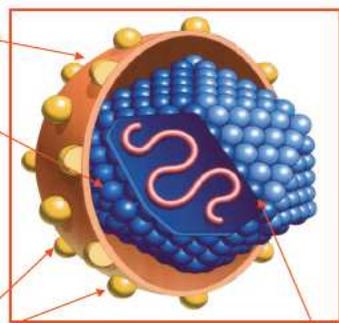
¼ delle infezioni non A, B, C è dovuta a HEV.

L'infezione è endemica in molti Paesi in via di sviluppo in cui sono presenti scarse condizioni igienico sanitarie. La via principale di trasmissione è quella oro fecale attraverso l'ingestione di acqua contaminata, la malattia ha spesso caratteristiche epidemiche. Possibili altre vie di trasmissione: cibi contaminati, contatto diretto, trasfusioni, via verticale, *trasmissione zoonotica*.

Negli ultimi anni sono stati registrati casi sporadici di malattia anche in numerosi Paesi industrializzati. Molti dei casi sporadici sono legati a viaggi in aree endemiche. Alcuni tuttavia riguardano soggetti senza anamnesi di viaggi all'estero (*virus autoctoni*). Per i casi autoctoni nei paesi industrializzati fonte d'infezione non chiara → possibile *trasmissione zoonotica*.

HCV (VIRUS DELL'EPATITE C)

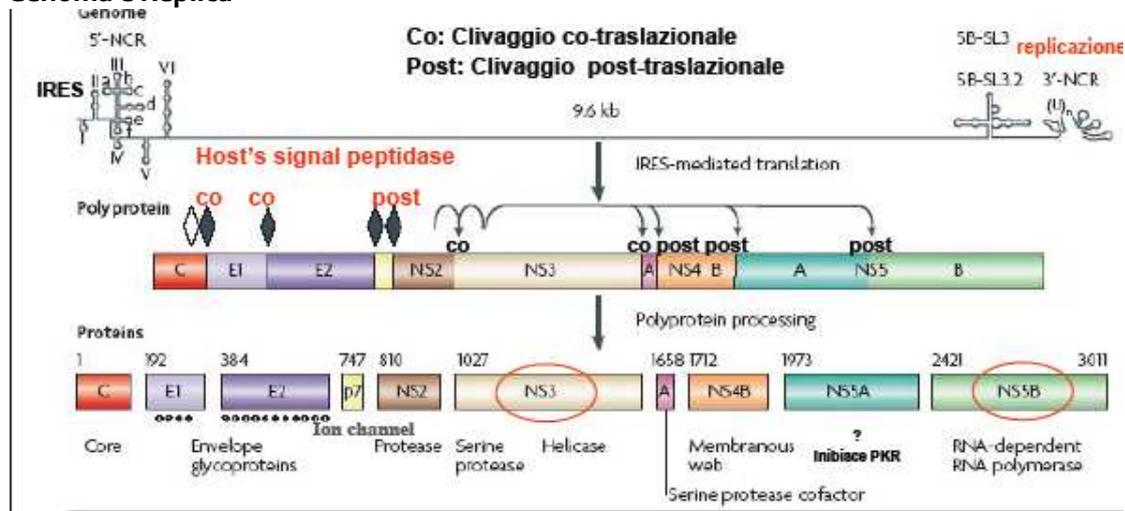
Struttura



- *Flaviviridae*
- Hepacivirus
- genoma 9,5 kb (+)
- identificato nel 1989
- 6 genotipi maggiori (clade)
- >50 sottotipi
- Quasispecie nell'ospite

Questo virus è stato isolato per la prima volta nella scimmia. È stato sottratto l'mRNA della scimmia sana, sono stati sintetizzati i peptidi da mRNA presenti nell'animale infetto. È stato poi analizzato il siero di pazienti con epatite non A e non B per vedere la presenza di anticorpi contro i peptidi sintetizzati.

Genoma e Replica



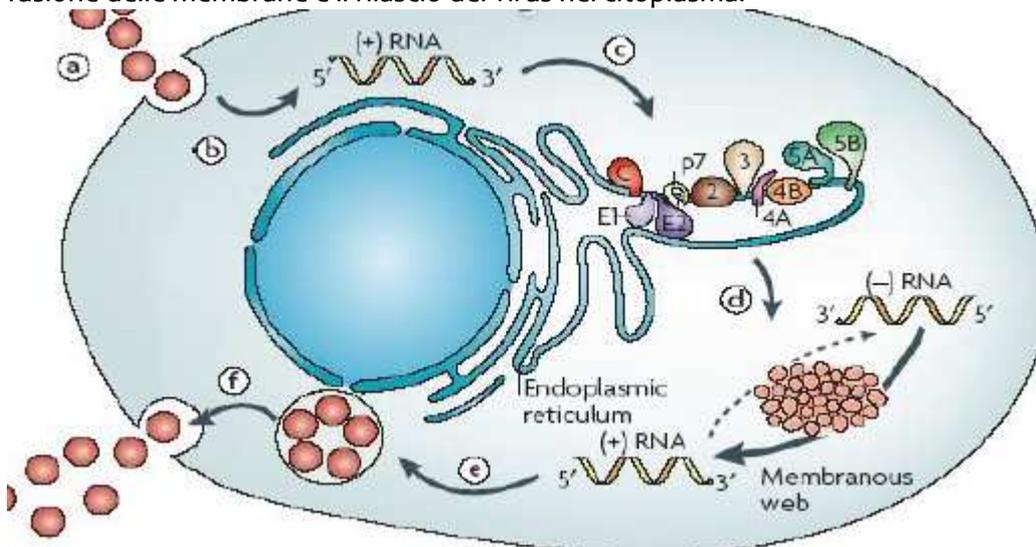
Il genoma è a ssRNA(+), ha un'IRES simile a quella dei Picornavirus che pone il ribosoma direttamente sul codone AUG al 5' importante anche per la replicazione e il packaging di genomi neoformati, l'hairpin al 3' permette la replicazione perché viene riconosciuta dall'RNAPol - RNAdip.

L'RNA viene subito tradotto in una poliproteina di 3010aa che vengono poi separati nelle proteine strutturali e funzionali che sono posizionate rispettivamente al 5' e al 3'. Per il clivaggio viene usata una peptidasi dell'ospite sia durante che dopo la traduzione.

NS3 è responsabile del suo clivaggio e delle altre proteine non strutturali che la seguono: è un'elicasi e quindi fa parte del complesso di replicazione. NS4 tiene il complesso unito alla membrana citoplasmatica della cellula, NS5A inibisce la PKR che regola la traduzione dell'interferone.

Il virus circola nel sangue associato a lipoproteine, è quindi verosimile che i recettori per le lipoproteine siano i primi inneschi, sicuramente poi intervengono altri recettori per l'attacco e l'entrata nella cellula. Il

virus entra tramite la formazione di un vacuolo circondato da clatrina, l'acidificazione permette la fusione delle membrane e il rilascio del virus nel citoplasma.



Il processo di replica ed espressione avviene in stretta associazione con la membrana del RER (c). 4B è fortemente idrofobica rimane all'interno della membrana determinando la formazione della rete all'interno del quale si verifica il processo di espressione e replica. La replica avviene con la produzione di un intermedio replicativo. La maturazione avviene nel Golgi e il virus viene rilasciato tramite esocitosi, quindi la cellula non viene uccisa.

Proteine

Core p22

- Encapsidazione del genoma
- Sopprime la trascrizione di alcuni geni immunoregolatori dell'ospite (*promuove la persistenza*)
- Nei sistemi artificiali interferisce con la morte cellulare programmata (*promuove la persistenza e la proliferazione cellulare, vs p53*)
- Interferisce con l'espressione dei genomi di virus coinfezionanti (abbassa la carica virale di HBV)

Glicoproteine E1 e E2

- E1 ed E2 : coinvolte nel *legame al recettore* e nel processo di *penetrazione*
- E2 contiene le due porzioni *HVR1* e *HVR2* più variabili del genoma.
- Anticorpi contro HVR1 neutralizzano il legame di E2, ma *solo alcuni cloni anticorpali appaiono protettivi*
- La variabilità di E2 si origina per mutazioni random e selezione di mutanti che probabilmente funzionano come "*falsi bersagli*" per il sistema immune inducendo una risposta **non neutralizzante**. (*promuove la persistenza*)
- E2 contiene una sequenza identica per la fosforilazione da parte della protein-chinasi (PKR), quindi interferisce con i meccanismi di induzione dello stato antivirale (competendo con eIF2 per la fosforilazione da parte di PKR attivata dall'IFN) (*promuove la persistenza*)

NS5a e NS5b

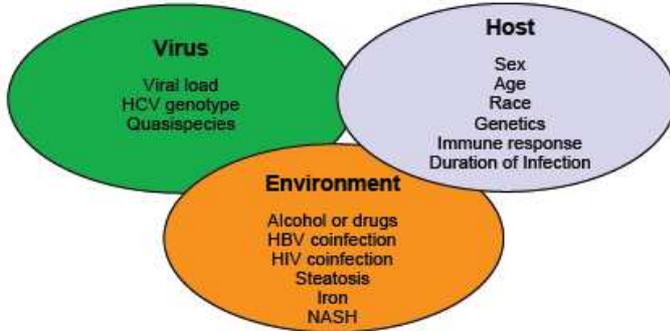
NS5a interagisce direttamente con PKR attivata da IFN, **interferendo con lo stato di resistenza antivirale** indotto da IFN (*promuove la persistenza*)

- NS5b rappresenta la *RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)*
- Come tutte le RNA polimerasi non possiede un processo di correzione dell'errore e questo è alla base della **variabilità virale**, la creazione di nuovi epitopi confonde il sistema immune e permette l'evasione dal controllo cellulare e umorale (*promuove la persistenza*)

NS3

- È responsabile del processo proteolitico dell'intera poliproteina a valle (*attività di serine proteasi*)
- Srotola l'RNA per permettere la traduzione e la replicazione (*attività di RNA elicasi*)
- È un *target* attraente per la terapia antivirale

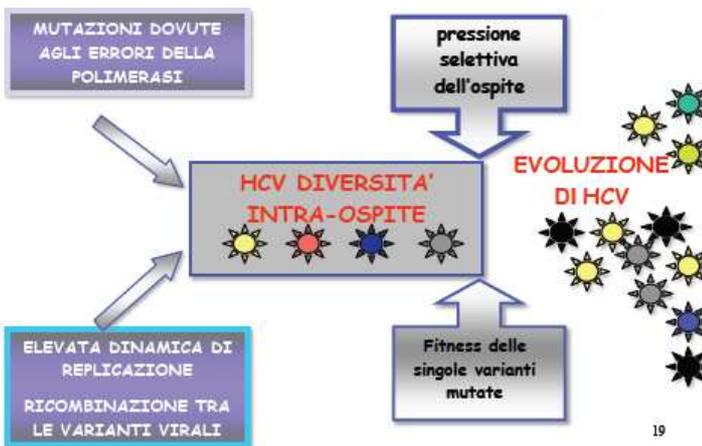
l'esito dell'infezione da HCV è influenzato da tre fattori:



la carica virale, il genoma del virus e la sua variabilità genica sono molto importanti. Anche l'ospite gioca il suo ruolo: le donne sono più colpite, così come gli adulti, la razza e alcuni caratteri genetici dell'ospite sono legati alla cronicità ed anche la risposta immune. Più l'infezione dura, più è probabile che cronicizzi. Anche l'ambiente gioca un ruolo enorme, come per esempio l'uso di alcool, le

confezioni di HBV o HIV, il catabolismo del ferro.

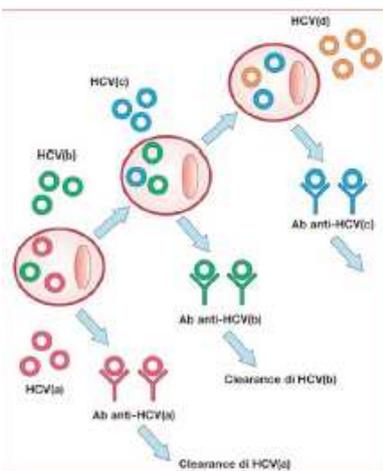
La variabilità genetica di HCV può essere interspite (genotipi) oppure intraospite (quasi specie virali) ed



è causata da tre fattori: la velocità di replicazione del virus, l'alto tasso di errore della pol, e la pressione selettiva operata dall'ospite.

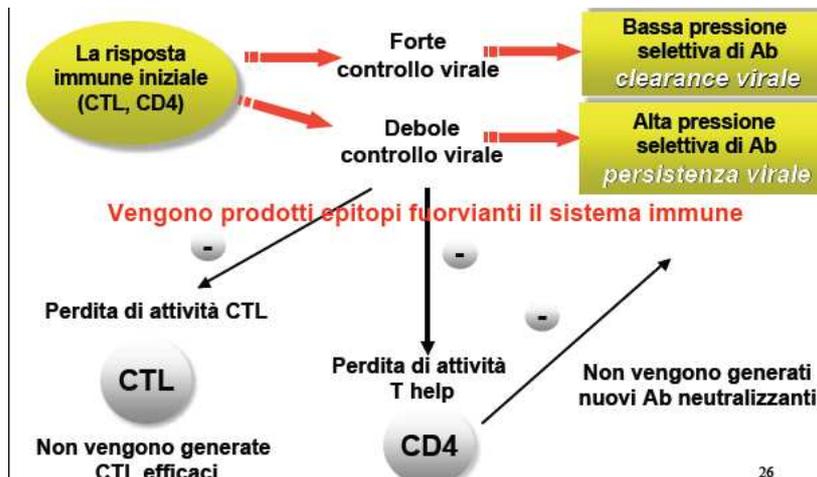
Attraverso alcuni studi si è scoperto che ogni giorno c'è un ricambio quasi del 100% dei genomi di HCV, ogni singolo nucleotide può essere cambiato ogni giorno. Si instaura una corsa contro il tempo: un virus che replica così velocemente non muore mai e sarà sempre più "avanti" rispetto all'ospite. Se gli Ab e il sistema immune non riescono a eliminare completamente il virus, esso

continuerà a replicare selezionando nuove varianti che non vengono riconosciute dal sistema immune.



Le quasi specie vengono identificate da **complessità genetica**, cioè dal numero delle varianti presenti in un ospite e da **diversità genetica**, cioè quanto le singole sequenze differiscono l'una rispetto all'altra.

Alcuni lavori hanno messo in evidenza che c'è una relazione tra



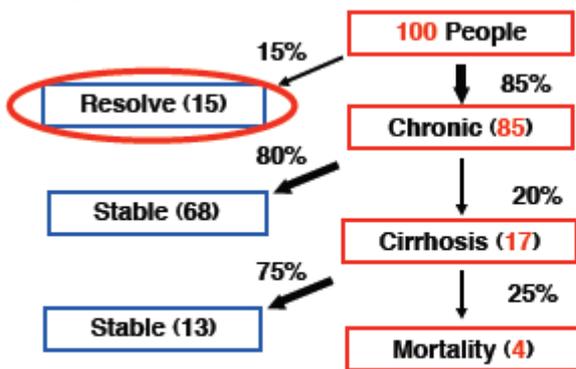
l'evoluzione dell'infezione e le caratteristiche della quasi specie virale: i pazienti che risolvono l'infezione hanno varianti con ridotta complessità e ridotta

variabilità. Al contrario pazienti che presentano quasi specie complesse e variabili presentano un'infezione cronica, questo perché il sistema immunitario non è stato in grado di contrastare subito l'infezione dando la possibilità al virus di replicare e di variare.

I pazienti che rispondono alla terapia si distinguono da quelli che non rispondono per una precoce riduzione della complessità della quasi specie virale e anche per una diminuzione della variabilità della stessa.

È la risposta immunitaria quindi gioca un ruolo fondamentale, il momento decisivo per la cronicizzazione è all'inizio dell'infezione e dipende dalla comparsa e dalla qualità di questa risposta, i fattori cellulari sono importantissimi (NK e T) che esprimono linfochine per iniziare la risposta citotossica.

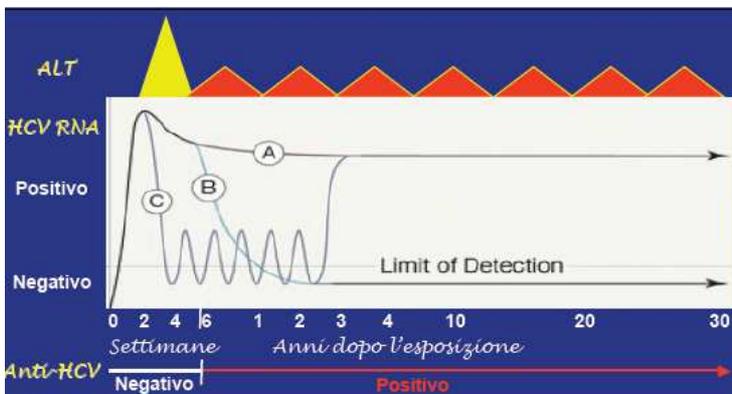
Patogenesi



Leading Indication for Liver Transplant



- Trasmissione parenterale
- Incubazione: 50 giorni (15-160 gg)
- Sintomi : 20-30%, i soggetti non sanno di avere l'infezione.
- Infezione persistente: 50-85% (Ep.Cronica: non attiva 35%, lieve/moderata 40%, severa 25%)
- L'infezione risolta non fornisce protezione da una successiva reinfezione virale
- **L'immunità non è duratura**



All'inizio dell'infezione i dati clinici mettono in evidenza un rialzo delle transaminasi nella fase acuta dell'infezione, gli Ab non sono ancora stati prodotti e nel sangue c'è un'altissima concentrazione di HCV RNA. Dopo alcune settimane si ha siero conversione; gli Ab diminuiranno di titolo se l'infezione si risolve.

Nel grafico la situazione A si riferisce a un'infezione cronica con una viremia elevata, la B si riferisce a un'infezione risolta in cui l'HCV RNA diventa negativo, la C è un'infezione cronica con viremia oscillante. La viremia negativa va comunque sempre controllata perché potrebbe essere confusa con C.

Il 3% della popolazione mondiale è infettato da HCV, soprattutto in Africa Orientale ed Egitto.

Trasmissione:

- Percutanea
 - Scambio di siringhe
 - Trasfusioni, emofilia
 - Trapianti d'organo da donatori infetti
 - Terapeutica (per oggetti/taglienti contaminati)
 - Occupazionale (accidentale)
- Per mucosale
 - Perinatale
 - Sessuale

Si può prevenire con:

- Screening dei materiali a rischio
- Modifica dei comportamenti a rischio
- Adozione dei dispositivi di protezione individuali

Diagnosi

LIVELLO	1°	Diagnosi eziologica
		Test di screening immunoenzimatici Test di conferma RIBA (immunoblot)
LIVELLO	2°	Stadiazione - Monitoraggio
		HCV-RNA qualitativo HCV-RNA quantitativo HCV-RNA genotipo

- Saggio immunoenzimatico (EIA) che evidenzia anticorpi contro il core e antigeni non strutturali del virus
- I saggi EIA di III^a generazione hanno una elevata sensibilità e specificità (99-99.7%), ma basso valore predittivo di positività in popolazioni a bassa prevalenza di infezione
- La positività deve essere confermata (immunoblotting)
- La positività del saggio è di per sé diagnostica di infezione da HCV, ma per precisare il tipo di infezione (cronica o acuta, attiva o non attiva, in atto o pregressa) sono necessarie altre indagini, cioè i test molecolari che non servono a diagnosticare l'infezione ma per monitorarla.

I test molecolari possono essere qualitativi, quantitativi o del genotipo che ci dicono rispettivamente se il virus c'è, quanto è presente e quale tipo è presente.

Test qualitativo:

- Il saggio si effettua con metodica RTPCR o altra metodica con sensibilità di almeno 5-10 UI/mL
- Il risultato positivo documenta l'attività replicativa virale e non richiede ulteriori determinazioni che non abbiano una precisa motivazione clinica (ad es. risposta alla terapia)
- Il risultato negativo indica una replica virale minima non rilevabile, o guarigione, spontanea o indotta dalla terapia. Un singolo risultato negativo va riconfermato (tempi dei controlli non standardizzati).

Test quantitativo:

- Il saggio viene ormai eseguito con metodiche sensibili di PCR quantitativa (*real-time RT-PCR*)
- Fornisce indicazioni sui livelli di HCV circolante (*carica virale* o *viral load*)
- Non è accertata alcuna correlazione tra carica virale e gravità istologica o progressione della malattia
- La determinazione dell'HCV-RNA quantitativo trova indicazione solo prima e durante la terapia.

Test del Genotipo:

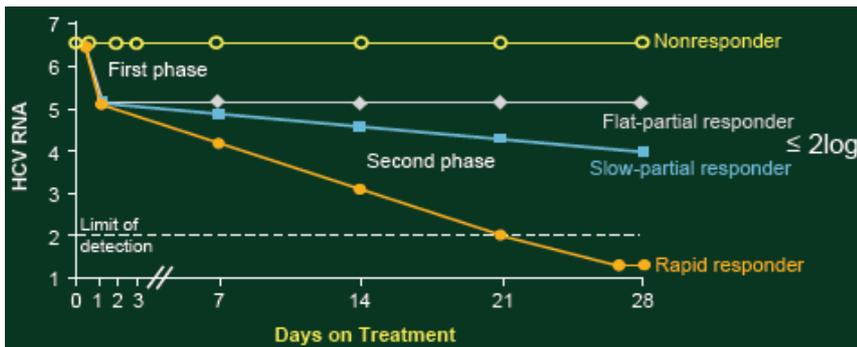
- Sono identificabili 6 genotipi principali di HCV (da 1 a 6) e diversi sottotipi (a, b, c...), il sequenziamento si fa della 5' UTR che ha sequenze caratteristiche per genotipi e sottotipi.
- Non esiste correlazione tra genotipo e gravità istologica o progressione della malattia
- Non esiste correlazione tra genotipo e carica virale
- La valutazione del genotipo trova indicazione solo per studi epidemiologici o per determinare, nel singolo individuo, la probabilità di risposta e la durata della terapia con IFN pegilato più ribavirina
- La conoscenza del genotipo di per sé non determina la decisione terapeutica. Nei casi di difficile decisione, può essere un dato aggiuntivo per scegliere se trattare o no.

La terapia viene iniziata comunque anche se non si conosce il genotipo.

Trattamento

PEG-IFNs + Ribavirin

Si usa interferone alfa associato a polietilenglicole che fa rimanere l'IFN in circolo più a lungo così da diminuirne le dosi. La Ribavirina è un analogo nucleotidico (guanossina) che interferisce col capping e con la replicazione determinando un alto tasso di mutazioni letali nei nuovi virus. Nel caso di genotipi 1 e 4 viene prolungato il tempo di trattamento e viene aumentata la dose di Ribavirina.



il paziente può essere un “non-responder” (giallo), “responder parziali” in cui la carica virale diminuisce troppo poco rispetto alle aspettative, oppure un “rapid responder” se in poco tempo la carica virale diminuisce fino a diventare negativa. Si calcola un tempo di 4 settimane.

Il trattamento prolungato può dare esito a:

- **Breakthrough:** nel corso del trattamento il soggetto a un certo punto ha un elevato rialzo della carica virale che rimane tale anche dopo 48 settimane. La terapia si interrompe
- **Relapse:** il rialzo della carica virale si ha dopo le 48 settimane. La terapia non è stata efficace.

il responder deve mantenere la viremia assente anche dopo le 48 settimane di terapia. Si fa un controllo dopo 6 mesi, cioè 72 settimane.

Vaccino

Fattori virali:

Elevata diversità di sequenza tra i ceppi all’interno e tra le diverse aree geografiche. Presenza di quasispecie che evolvono continuamente nel corso dell’infezione.

Fattori dell’ospite:

Necessità di una maggiore definizione dei correlati immunologici associati alla progressione o protezione.

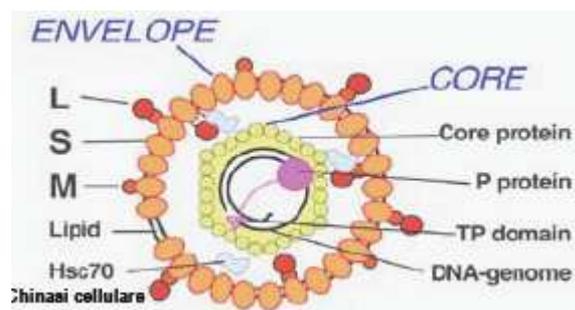
Limitazioni tecniche:

Mancanza di un sistema affidabile di coltura in vitro per lo studio di Abs neutralizzanti e per l’espansione o i passaggi del vaccino. Lo scimpanzè è l’unico modello animale disponibile per lo studio dell’infezione.

HBV – HDV

Struttura

HBV	
Ospite	Uomo, scimpanzè
Genoma (numero di basi)	3200
ORF	S, C, P, X
Tropismo d’organo	Epatociti, linfociti, cellule renali, cellule pancreatiche
Patologia	Epatite, cirrosi, epatocarcinoma, stato di portatore asintomatico

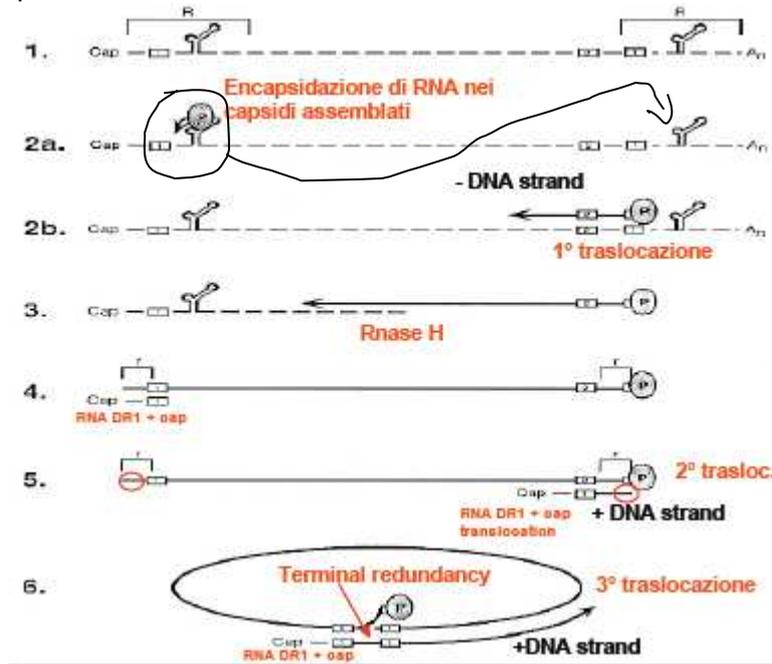


- Envelope con antigene S sotto tre forme L – M – S
- Capside icosaedrico
- Genoma a DNA formato da due filamenti asimmetrici circolarizzati
- Si presenta sotto due forme, virioni e particelle subvirali. Queste ultime possono scatenare la risposta immunitaria facendo da scudo.

Genoma e Replica

!!GUARDA FOGLIO!!

Durante il suo ciclo replicativo il virus passa per un intermezzo a DNA che grazie a una RT ritorna ad essere un RNA. Questo processo di trascrizione inversa avviene nei virioni neoformati e avviene in questo modo:



al punto 1 abbiamo il nostro RNA a lunghezza intera. Al 5' c'è l'innesco per la polimerasi P che funziona in direzione 5' → 3' (va quindi verso sx in questo caso). Una volta sintetizzati i primi nucleotidi si assiste alla prima traslocazione che avviene perché il DNA appena sintetizzato è complementare alla sequenza che si trova al 3' (2b).

a questo punto la pol continua a trascrivere sempre in direzione 5' → 3' sintetizzando una molecola di DNA (-) mentre l'Rnase H rompe l'RNA stampo fino alla sequenza RNA DR1 + cap (4). Questa porzione è complementare a quella che si trova al 3' e quindi assistiamo a una seconda

traslocazione. A questo punto le due estremità di DNA sono complementari e si possono appaiare facendo circolare il genoma per permettere alla pol di finire di sintetizzare la porzione + di DNA.

Proteine

- Gli antigeni s (**HBsAg nelle 3 forme**) costituenti dell'involucro esterno (envelope) prodotti del gene s (trascritti subgenomici 3 AUG)
- L'antigene c (**HBcAg**) il costituente del capsido (core) prodotto del gene precore/core (trascritto pre-genomico AUG interno)
- L'antigene e (**HBeAg**) prodotto del gene precore/core (trascritto pre-genomico AUG iniziale) è processato diversamente dalla cellula, viene secreto dall'epatocita si può trovare nel siero. Attraverso la placenta ed induce immunotolleranza nel neonato (modello murino)
- La **polimerasi** associata al virione è un prodotto del gene P, ha attività di primasi, trascrittasi inversa (DNA polimerasi RNA e DNA dipendente), Rnase H, (trascritto pre-genomico AUG interno *non in frame*)
- L'antigene X (**HBxAg**) localizzazione cellulare, debole transattivatore della trascrizione di fattori cellulari è necessario per la replicazione (trascritto subgenomico)

Patogenesi

L'esito dipende da una varietà di fattori virali e dell'ospite e sebbene la risposta immune giochi un ruolo determinante per l'evoluzione, la stessa biologia del virus, e una varietà di meccanismi di adattamento, riferibili a mutazioni in regioni critiche del genoma del virus possono influire sull'andamento dell'infezione.

Il danno epatico non è dovuto direttamente al virus (infezione non citopatica) ma alla risposta immune che gioca un ruolo principale nella patogenesi della malattia e nella eliminazione virale.

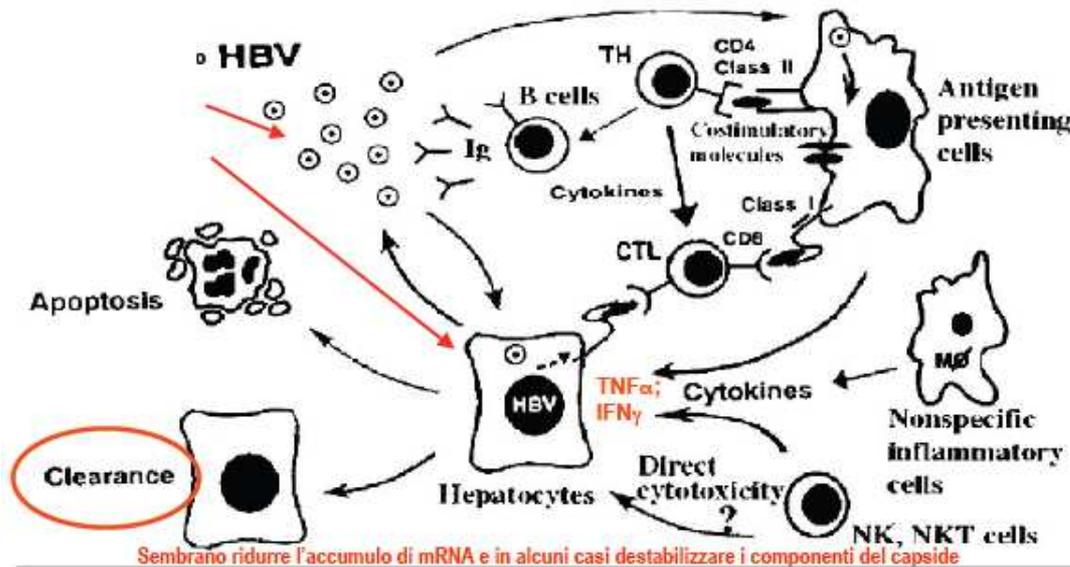
Risposta cellulare:

- Responsabile della patologia sia acuta che cronica
- Responsabile della clearance virale

Risposta umorale:

- Responsabile della protezione duratura (base per il vaccino)

-Responsabile delle manifestazioni extraepatiche dovute alla formazione di immunocomplessi (malattia da siero, vasculite, glomerulonefrite)



C'è una fortissima risposta cellulare guidata da cellule NK, macrofagi e linfociti CTL che riconoscono la cellula danneggiata e la attaccano determinandone la morte che, se massiva, può portare all'epatite fulminante. La clearance non è data solo dalla morte delle cellule ma anche dalle citochine che determinano la guarigione dell'epatocita riducendo l'accumulo di mRNA virus specifico nella cellula mettendo al riparo gli epatociti dall'apoptosi. Contemporaneamente il virus esprime meno i propri antigeni ed è meno vittima del sistema immune portando forse alla cronicità dell'infezione se essa non viene risolta subito.

Gli Ab vanno contro il virus che circola che riesce però a difendersi bene con i sub-virioni che fungono da scudo.

Se la risposta è abbastanza forte e policlonale (molto varia) è probabile avere una clearance del virus.

Contemporaneamente anche il virus contribuisce alla patogenesi tramite l'accumulo di cccDNA nel nucleo che può rimanere nel fegato a lungo, sono forme non sensibili ai farmaci e possono causare il relapse una volta terminato il trattamento; inoltre durante la retro trascrizione può non avvenire la seconda traslocazione ottenendo un doppio filamento di DNA con tutta la capacità codificante del virus che può essere integrato nel genoma della cellula infettata (tumori) o può circolare rimanendo nel nucleo della cellula per molto tempo (relapse).

Il virus ha 8 genotipi diversi ma il virus non è così variabile come HCV.

- Il virus ha un elevato tasso di mutazione (10^{-4} - 10^{-5} per base per ciclo)
- Tuttavia la maggior parte delle mutazioni che avvengono durante la replicazione sono dannose o letali e non sono mantenute nella popolazione virale che è piuttosto omogenea
- Ciononostante possono emergere degli *escape mutants* selezionati dalla risposta immune o dalla terapia o comunque mutanti che sopravvivono perché hanno qualche vantaggio selettivo rispetto alla popolazione preesistente.

I geni che possono variare sono quelli **pre-core/core** ottenendo virus E-, l'antigene non viene espresso e non viene rilasciato, il gene **s**, scoperto quando si vide che alcuni bambini non venivano coperti dal vaccino perché avevano contratto un virus mutato dalla madre, il gene **pol**, che muta in risposta alla terapia come resistenza.

In quali circostanze sono stati trovati imutanti dell'HBsAg?

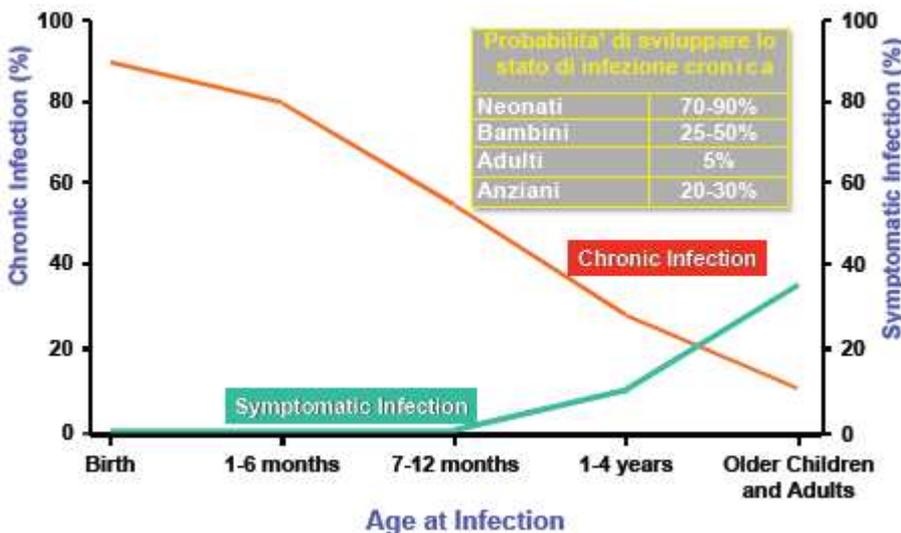
- Erano i responsabili di almeno tre situazioni:
 - 1) insuccesso della vaccinazione in neonati da madri HBsAg-positive
 - 2) fallimento della immunoprofilassi in pazienti sottoposti a trapianto ortotopico di fegato (OLT)
 - 3) diagnosi di infezione da HBV in soggetti negativi per HBsAg

Presenza del virus:

alta	moderata	bassa
sangue	sperma	urine
siero	fluido vaginale	feci
essudato ferite	saliva	sudore
		lacrime
		latte

Vie di trasmissione:

- Parenterale percutanea • Tossicodipendenti • Trascusi /Trapiantati • Medici • Paramedici • Sessuale
- Perinatale • Madri HBeAg+ (70-90%) • Madri HBeAg- (20-30%)
- **Periodo di incubazione: 60-90 gg (range 45-180)**
- Circa il 50%-60% degli adulti non mostrano segni o sintomi d'infezione.
- Le infezioni sintomatiche possono essere caratterizzate da:
Astenia, dolori articolari, Dolori addominali, Perdita di appetito, Nausea, vomito, Ittero.



Esito:

nei giovani adulti è più frequente avere un'infezione asintomatica. Prima si viene infettati, tanto più probabilmente si va incontro a infezione cronica.

Il più delle volte l'infezione è asintomatica e può evolvere verso un'infezione cronica che può evolvere verso

cirrosi che evolve verso la cirrosi compensata oppure in 5 anni diventa carcinoma che porta poi a morte. Cirrosi e carcinoma si risolvono solo col trapianto.

Diagnosi

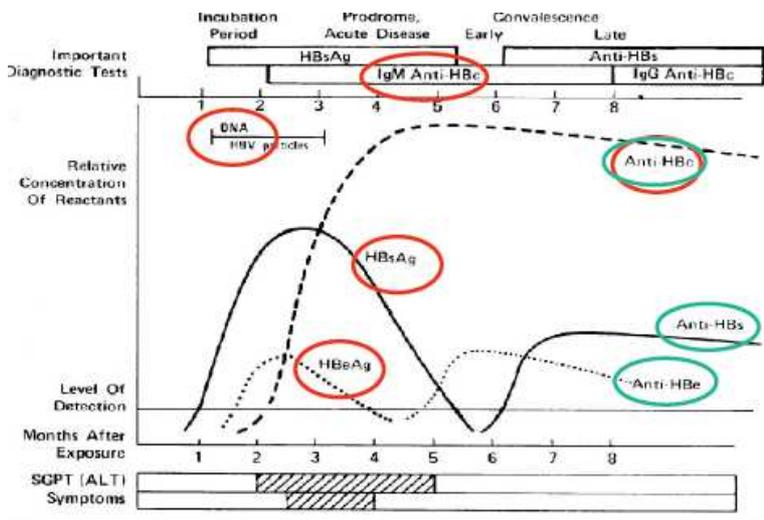
Si usa la sierologia e si cerca l'antigene di superficie che viene espresso molto durante l'infezione acuta. La definizione quantitativa dell'acido nucleico (DNA associato a particelle di DNA) con tecniche molecolari sensibili è utile per valutare :

-l'attività della replicazione

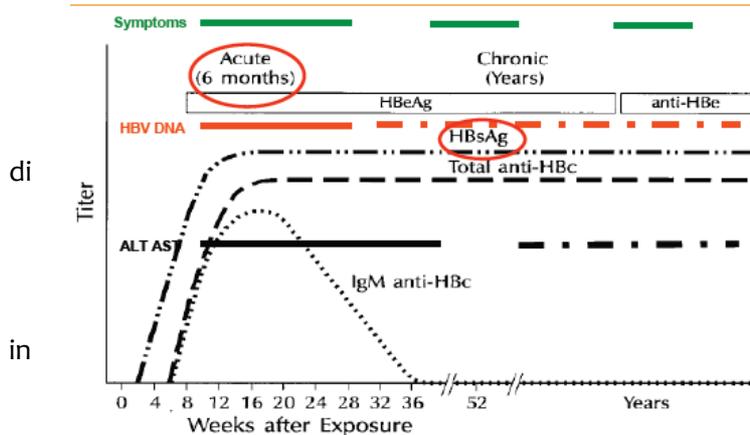
-la risposta alla terapia

-l'infezione occulta in particolari categorie di soggetti

L'utilizzo coordinato di tecniche sierologiche e molecolari ci permette di definire alcune fasi nella storia naturale dell'infezione.



Nell'infezione acuta abbiamo un rialzo delle transaminasi, presenza di antigeni di superficie e di antigene E solubile e di anticorpi di classe IgM contro il core virale che vengono cercati per primi. Quando si risolve abbiamo siero conversione nei confronti degli antigeni virali e non si trova più il DNA del virus.



Nell'infezione persistente l'antigene S continua ad essere determinabile per più sei mesi, ci sono sempre i sintomi variabilmente presenti così come la presenza di HBV DNA, le transaminasi sono sempre alte e riflettono il danno epatico. Le IgM scompaiono e riappaiono seguito alla riattivazione dell'infezione.

Per distinguere se una persona con malattia cronica è un portatore sano o meno si controllano le transaminasi che nel portatore sano sono basse perché non abbiamo danno epatico e la carica virale che è più bassa.

Quindi:

- **HBsAg**

–Definisce l'infezione in atto: la persistenza per più di 6 mesi consente di stabilire la presenza di una infezione cronica.

- **HBeAg**

–Indica invariabilmente la presenza di replica / infettività

- **Anti-HBe**

–La sieroconversione da HBeAg a anti-HBe indica classicamente la risoluzione, ma la positività non esclude replica/infettività

- **Anti-HBs**

–Indica immunità (naturale o in seguito a immunoprofilassi)

- **Anti-HBc**

–Presente in tutte le fasi dell'infezione: può essere l'unico marcatore nelle infezioni occulte

- **Anti-HBc IgM**

–Differenzia l'infezione acuta/recente dallo stato di portatore "sano". Positivo a bassi livelli nelle fasi di esacerbazione dell'infezione cronica.

UTILIZZO CLINICO DEI SAGGI QUANTITATIVI

a. Epatiche acute

Possibile valore prognostico (negativizzazione entro due settimane)

b. Infezione persistente

Necessaria per stabilire se e quanto il virus replica

HBsAg-/anti-HBeAg+ (varianti e-minus)

c. Monitoraggio dell'infezione attiva e prognosi

La presenza di HBV DNA è associata ad un rischio significativamente elevato di progressione verso CLD

d. Trattamento farmacologico dell'infezione

Decidere se trattare, monitorare il trattamento, valutare l'emergenza di resistenza

e. Management del paziente candidato al trapianto di fegato per malattia HBV correlata

Infezione occulta

Terapia

Raccomandata in pazienti con :

- ALT persistentemente elevata
- Attiva replicazione virale
- Danno epatico da moderato a severo
- Fibrosi.

End points :

- Sieroconversione eAg/anti-e
- scomparsa di HBV-DNA sierico (test PCR),
- normalizzazione ALT
- Prevenire scompenso epatico, HCC, morte.

- Interferone - per pazienti HBeAg + con epatite cronica attiva e malattia epatica compensata. Risposta nel 20 to 30%.
- Lamivudina-Adefovir (Entecavir, Telbivudina Tenofovir) - Analoghi nucleosidici inibitori della trascrittasi inversa.
 - Possibile l'emergenza di resistenze dopo trattamento prolungato.
 - Possibile il rebound dopo interruzione

Prevenzione

- **Vaccinazione** - E' disponibile un vaccino estremamente efficace costituito da antigene S (HBsAg) ricombinante.
- **Immunoglobuline iperimmuni** - Possono essere usate per prevenire l'infezione. Devono essere somministrate entro 24-48 ore dall'esposizione. Vengono somministrate ai neonati da madri HBsAg+ assieme al vaccino.

L'infezione da HBV e HCV è strettamente correlato al Carcinoma del Fegato (PLC).

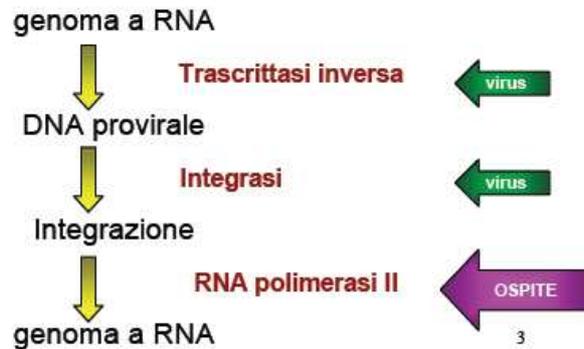
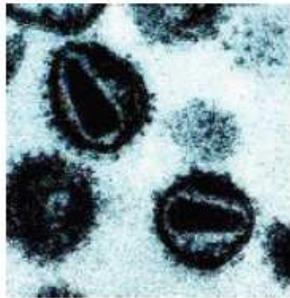
E' verosimile che l'effetto sia indiretto e forse multifattoriale:

1. L'infezione persistente con questi virus provoca un danno cronico (continua erosione immunologica) al fegato con conseguente iperplasia rigenerativa,
2. Aumenta di conseguenza il numero di cellule a rischio di subire successive alterazioni genetiche,
3. Una di queste cellule trasformate può essere l'origine di un clone HCC;
4. HBV esprime proteine che possiedono attività transattivante (HBxAg, mutanti preS₂) e potrebbero giocare un ruolo iniziale nella perdita di controllo, la proteina C di HCV interagisce coi sistemi di controllo della proliferazione cellulare e dell'apoptosi.

RETROVIRUS

DNA Polimerasi RNA-dipendente codificata dal virus

TRASCRIPTASI INVERSA



Questo ciclo può avvenire in ogni tipo di cellula perché sfrutta la polimerasi II cellulare.

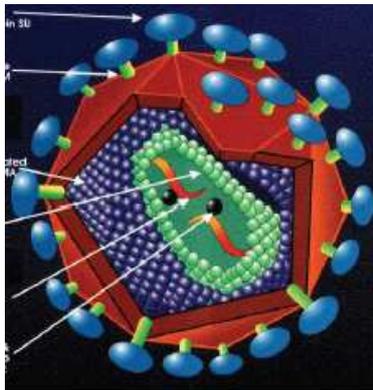


I Retrovirus fanno parte della VI classe di Baltimore:

Sottofamiglie / generi

- *orthoretrovirinae*
 - alfa-beta-gamma-epsilon-retrovirus: virus tumorali degli animali
 - deltaretrovirus: virus con potere trasformante per l'uomo (HTLV I e II)
 - **lentivirus**: retrovirus che danno infezioni a decorso lento (HIV)
- *spumavirinae*
 - spumavirus: isolati dai primati, non associati a patologie umane determinano “degenerazione schiumosa” delle cellule inoculate. Sono importanti come vettori per la terapia genica.

Struttura



- Virione piccolo, 100 nm di diametro
- Genoma costituito da DUE molecole di RNA positivo (diploide) in struttura dimerica legate da ponti idrogeno
- tRNA, usato durante la retro replicazione
- capside icosaedrico
- envelope
- Si replicano in maniera peculiare

Genoma e Replica

(RNA positivo)

R U5 GAG POL ENV U3 R

Le regioni R sono identiche e come le sequenze degli Hepadnavirus, permettono l'appaiamento. U5 e U3 sono sequenze uniche che non vengono tradotte.

Un Retrovirus ha tipicamente tre geni:

GAG : proteine interne

ENV: glicoproteine dell'envelope

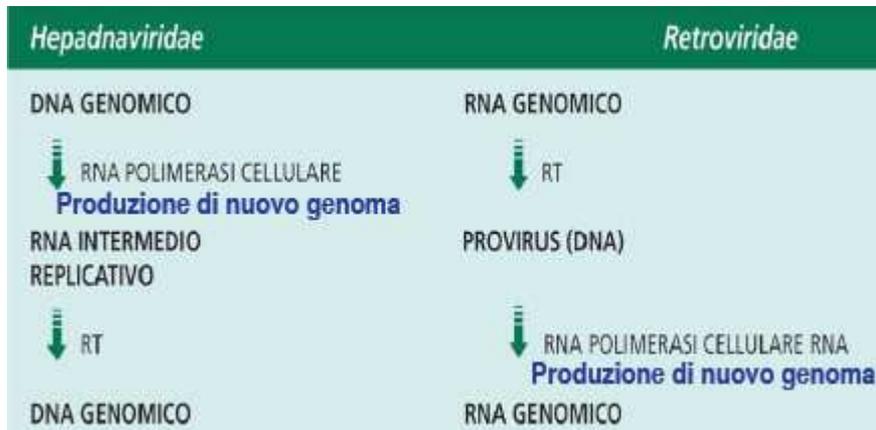
POL: enzimi, Trascrittasi inversa/Rnasi-H, Integrasi, Proteasi; indispensabili per le infezioni produttive.

È un RNA:

- Diploide dotato di cap al 5', poliadenilato al 3'
- orientamento positivo (come mRNA) L'RNA virale non può essere letto direttamente perché

è incapsulato dalle proteine, Nuovo mRNA deve essere sintetizzato. Per far questo il virus deve passare attraverso un intermedio replicativo a DNA. Per questo motivo la trascrittasi inversa è all'interno del virione.

Sia Hepadna che Retrovirus usano un enzima cellulare:



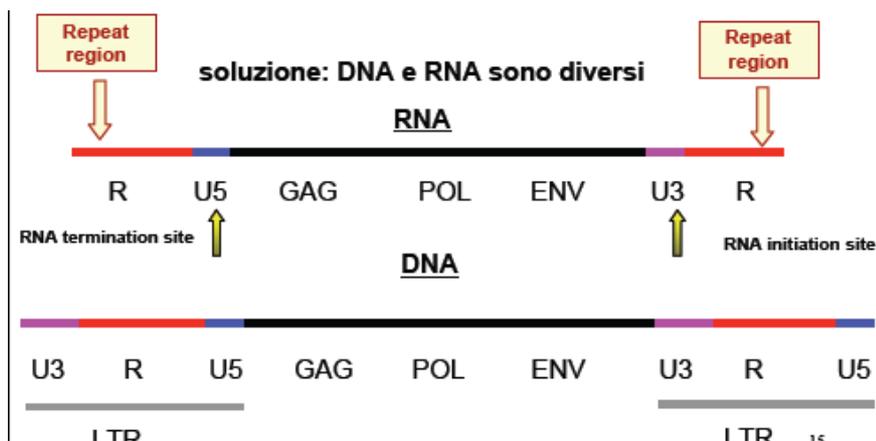
L'utilizzo di RNA Pol II pone dei problemi per la replicazione dell'RNA genomico perché l'enzima cellulare sintetizza mRNA.

Facendo questo **non copia** l'intero gene, non può copiare le sequenze regolatorie a monte e a valle.

IL RISULTATO DELLA TRASCRIZIONE È UN RNA SENZA SEQUENZE DI REGOLAZIONE CHE NON SERVONO PER LA TRADUZIONE!

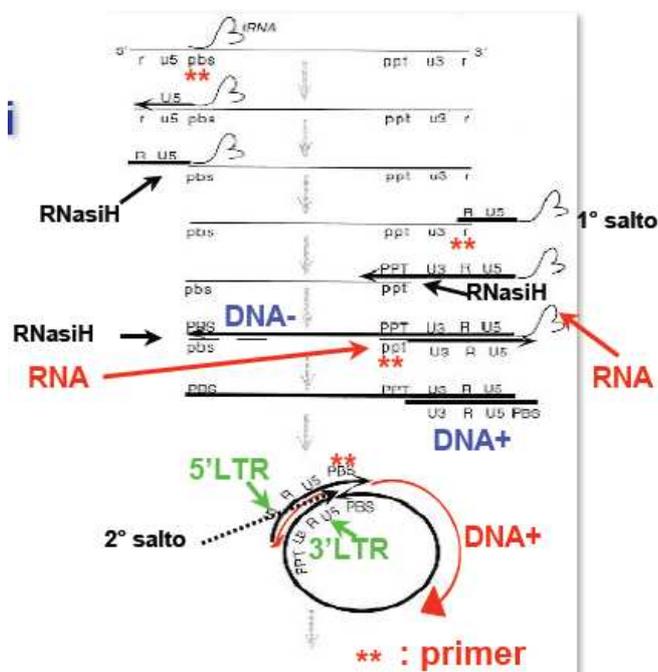
Il pro virus in questo caso ha due possibili soluzioni: o integrarsi a valle di un promotore cellulare oppure avere il proprio promotore che però non viene copiato!

La soluzione finale è che RNA e DNA sono diversi perché grazie alla RT si ottengono delle LTR.



U5 nell'RNA è il sito di termine della trascrizione, mentre U3 è il sito di inizio cioè il promotore.

Nel DNA invece, dopo la creazione delle LTR, U3 e U5 sono messe nell'ordine giusto, e la pol cellulare non si ferma alla prima U5 perché non la riconosce.



Come si formano le LTR?

La trascrittasi inversa ha bisogno di un innesco che è dato dal tRNA, che si lega al "primer binding site" che si trova sull'RNA creando una piccola porzione a doppio filamento. La RT inizia a trascrivere in direzione 5' → 3' quindi verso sinistra, copiando U5.

La RT ha anche una RNasi H che denatura l'RNA che ha appena fatto da stampo.

A questo punto c'è la 1^ traslocazione: la R che è appena stata trascritta è complementare a quella che si trova al 3' e quindi si appaia ad essa creando un altro primer per la RT che adesso può leggere tutto il genoma mentre la RNasi - H denatura lo stampo tranne una porzione chiamata PPT.

Il dimero PPT (RNA/DNA) fa da primer, la RT copia il DNA in direzione 5' → 3', questa volta verso destra copiando anche il PBS. A questo punto l'RNasi - H denatura l'RNA restante. Adesso ci sono due PBS, una sul DNA + e una sul -, sono complementari, quindi si appaiano e viene copiato il tratto mancante del DNA +.

Alcuni Retrovirus possono avere un gene aggiuntivo:

Rous Sarcoma Virus

R U5 GAG POL ENV SRC U3 R

SRC è un oncogene grazie al quale il virus induce il sarcoma.

- Il gene è stato acquisito dalle cellule eucariote in seguito a continue infezioni
- È probabile che nel corso del processo evolutivo i retrovirus siano stati fondamentali per lo scambio di genoma, sono infatti uno strumento eccezionale per lo scambio orizzontale di genoma tra individui. Nella maggior parte dei casi però l'oncogene si trova al posto di un gene regolatore e quindi il virus non può produrre le proprie proteine strutturali o funzionali per questo hanno bisogno di un virus helper per produrre infezione e replicare.

L'oncogene virale è un gene simile al proto-oncogene cellulare ma è capace di indurre trasformazione perché nel retrovirus è overespresso perché si trova vicino a un promotore.

Un oncogene cellulare induce tumore per:

- mutazione
- altri cambiamenti nel genoma cellulare

Virus che contengono un oncogene possono essere:

- Acutamente trasformanti quando
 - Possiedono un gene sostituito (v-onc)
 - Possono agire direttamente o trans attivando fattori cellulari (trans-attivanti)
 - Non hanno bisogno di inserirsi in un sito particolare
 - Non sono in grado di replicarsi
- Cronicamente trasformanti quando causano il tumore in modo inefficiente e dopo molto tempo.

Questi ultimi molto spesso non contengono un oncogene e possono causare tumore quando si integrano in prossimità di un oncogene cellulare che è **c - myc**. Si ha quindi oncogenesi per inserzione di un promotore.

!gli enhancer/promoter virali sono molto potenti

!se il gene cellulare a valle è un oncogene il virus può trasformare la cellula

!il virus si integra a caso e solo quando si integra in siti particolari induce il tumore

!i virus di questo tipo sono detti **cis-attivanti**.

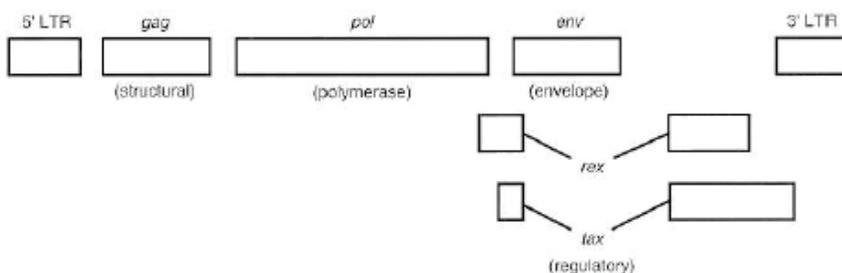
DELTARETROVIRUS

-A questo genere appartengono i primi retrovirus umani isolati, HTLV-1 e HTLV-2

-Questi virus causano il cancro dopo una latenza di almeno 30 anni

-Oltre ai geni virali contengono due geni regolatori, **tax** e **rex**.

Genoma



tax e rex derivano dall'espressione di due esoni uniti dallo splicing. REX regola l'espressione a livello post-trascrizionale agendo sugli mRNA virali, prevenendo ulteriore splicing e promuovendo il trasporto al citoplasma dei messaggeri lunghi.

TAX attiva la trascrizione dell'mRNA virale agendo sull'LTR dell'estremità 5'. Attiva anche altri geni che promuovono la crescita cellulare dei linfociti. In poche parole aumenta l'espressione del genoma.

Sono oncogeni non difettivi transattivanti che promuovono la crescita cellulare in un modo indiretto rispetto agli altri oncovirus attraverso la trans attivazione dei geni che controllano la crescita, non è necessaria l'integrazione vicino ai geni che controllano la crescita.

HTLV – 1

• È l'agente eziologico della leucemia a cellule T dell'adulto (Africa, Giappone, Caraibi)

1. Tutti i malati sono positivi per anticorpi anti HTLV-1
2. Nelle cellule tumorali viene messo in evidenza il genoma virale integrato.
3. Il tumore è usualmente oligoclonale o clonale

Patogenesi

-Attraverso lo scambio di fluidi biologici per contatto cellula-cellula e non attraverso virus libero

Rapporto sessuale (linfociti presenti nei fluidi genitali)

Trasfusione (prima del 1989 sangue non controllato per la presenza di anticorpi)

Condivisione di aghi contaminati da sangue (tossicodipendenti)

Perinatale (linfociti durante l'allattamento)

L'infezione è usualmente asintomatica, può rimanere latente o replicare lentamente per anni, ma può indurre la crescita clonale di cellule T CD4+ -> aberrazioni cromosomiche -> leucemia nel **0,1-5%** dei casi dopo 30-50 anni. La maggioranza dei soggetti infettati **NON** sviluppa la patologia leucemica. Dimostrato un legame tra questo virus e una rara malattia del SNC (paraparesi spastica tropicale).

HTLV – 2

E' stato isolato da una forma particolare di leucemia detta "a cellule capellute" (hairy cells leukemia).

Non sono chiari i legami di questo virus con le patologie umane.

È spesso presente in tossicodipendenti (IDU) infettati da HIV.

HIV (Orthoretrovirus - Lentivirus)

Famiglia: *Retroviridae*

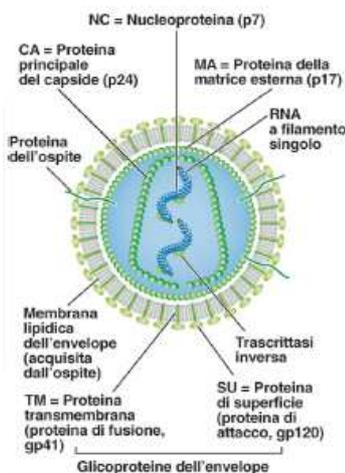
Sottofamiglia: *Orthoretrovirinae*

Genere: *Lentivirus*

- HIV-1: Isolato nel 1983
- Genoma esiste sotto due forme fisiche: **RNA** 9.2 kb nel virione libero, **DNA** ds 10.000 bp nella cellula infettata
- 2 distinti tipi: HIV-1 e HIV-2 (diversa capacità di patogenesi)
- HIV 1: 3 gruppi (M, N, O). Estrema variabilità per ricombinazione durante la RT.
- 9 sottotipi nel gruppo M (da A a K); 5 sotto-sottotipi (A1-4, F1-2);
- Quasispecie nell'ospite infettato

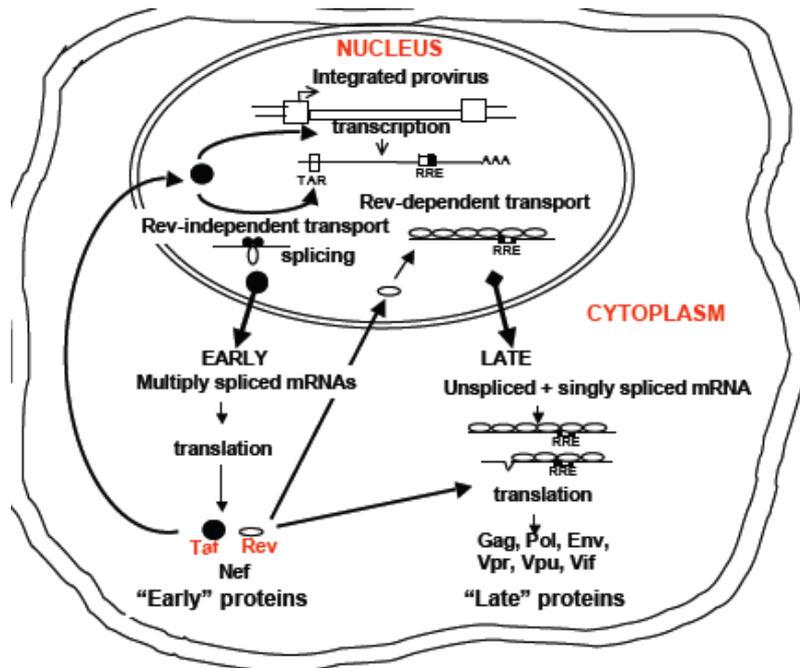
È l'agente eziologico dell'AIDS trasmesso all'uomo per zoonosi.

Struttura



- envelope con GP41 che attraversa la membrana e GP120 che media l'attacco.
- Matrice
- Core virale con capsidi che ha una struttura simil icosaedrica e acido nucleico diploide ssRNA(+) protetto da NP
- Trascrittasi inversa
- Integrase
- tRNA
- proteasi
- RNasi – H

La trascrizione del virus dell'HIV è regolata dai geni *tat* e *rev*



L'mRNA che subisce uno splicing multiplo codifica per le proteine regolatorie *tat* e *rev* che dopo essere state tradotte entrano nel nucleo. *Tat* si lega alla sequenza al 5' dell'mRNA aumentando la capacità della polimerasi di fare trascritti più lunghi, *rev* invece si lega a una sequenza sugli mRNA più lunghi (RRE) facendo da chaperon per trasportare gli mRNA interi fuori al nucleo senza che essi subiscano splicing. Quindi se la quantità di *rev* aumenta ho più probabilità di avere meno splicing e quindi mRNA più lunghi. Riassumendo:

1. **Tat**

- Rientra nel nucleo dove transattiva il genoma virale
- Non si lega al DNA ma esplica la sua azione legandosi all'inizio del trascritto virale
- In presenza di fattori dell'ospite aumenta la capacità di trascrizione della RNA Pol II sullo stampo del DNA virale (trascritti lunghi)
- Agisce anche in cellule non infettate provocando l'innescò di segnali di membrana per l'attivazione

2. **Rev**

- Protegge dallo splicing gli mRNA di maggiori dimensioni
- L'attività si estrinseca attraverso il legame di *rev* con sequenze **RRE**
- Promuove l'esporto di trascritti lunghi o non completamente processati

3. **Nef**

- Riduce la presenza di CD4 mediante endocitosi e l'espressione di MHC I
- Blocca l'apoptosi
- Eleva l'infettività
- Altera lo stato di attivazione cellulare. La sua delezione correla con una lenta progressione della malattia.

Vpr viral protein R (p15kD)

- Facilita l'importo nucleare del PIC
- Promuove l'arresto del ciclo cellulare in G2

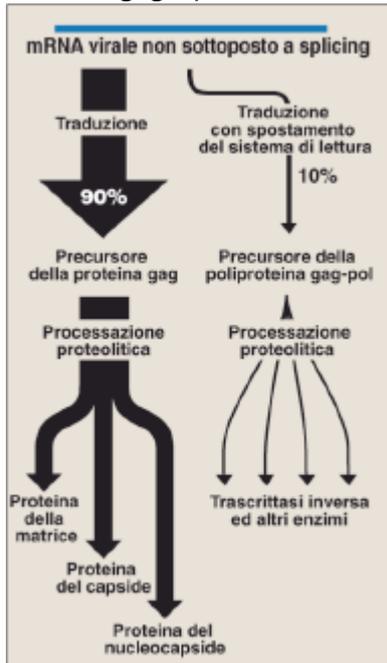
Vif viral infectivity factor (p23kD)

- Contrasta l'effetto di APOBEC3 (citidina deaminasi cellulare) che produrrebbe ipermutazione del genoma provirale e infezione abortiva nel ciclo successivo

Vpu (viral protein U, 16kD)

- Interviene nella degradazione di CD4 a livello del proteasoma
- Facilita il rilascio delle particelle virali dalla membrana

Proteine gag e pol:



le proteine pol sono la proteasi, la RT e l'integrasi.

Le proteine gag sono

- proteina miristilata di matrice MA (p17) facilita il trasporto del precursore p55 alle placche lipidiche sulla membrana (interagisce con env) e l'importo del PIC nel nucleo
- proteine nucleocapsidiche: NC p7 si lega all'RNA; NC p6 interagisce con Ψ
- proteina del core CA (p24), antigene più rappresentato, lega la ciclofillina A (una peptidil proil cis trans isomerasi coinvolta nella regolazione di molti processi cellulari) aumentando l'infettività

le proteine env sono

- precursore gp160 matura nel RE
- le proteasi CELLULARI lo scindono in due glicoproteine
 - gp41 che attraversa l'involucro lipidico
 - gp120 ancorata a gp41 che è esposta sulla superficie del virione

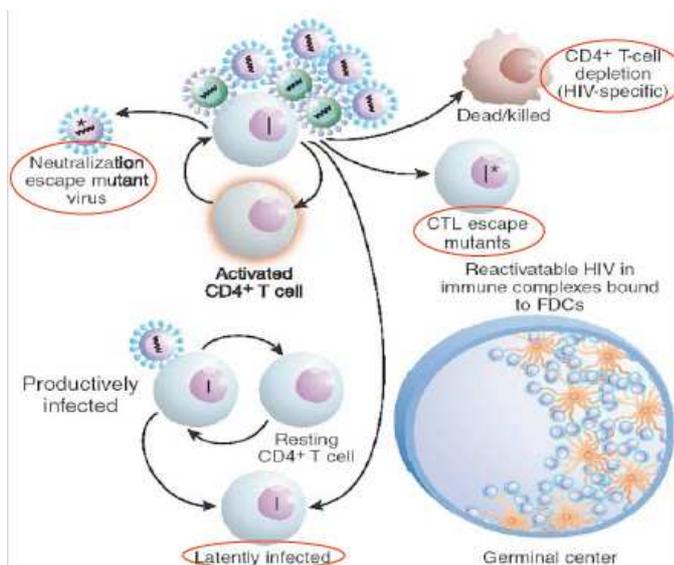
- Gli antigeni di env (gp120 e gp41), dopo la maturazione avvenuta nel Golgi, compaiono sulla superficie cellulare
- Il precursore gag-pol (pr170), l'RNA genomico, vpr e vif si assemblano al di sotto della membrana dove inizia il processamento delle proteine del core virale che continua dopo la gemmazione
- La gemmazione può danneggiare le cellule ma non è comunque l'unico motivo per cui abbiamo danno cellulare. Altre cause sono l'attività fusio genica di env, vpr che induce apoptosi, NEF che causa apoptosi delle cellule che riconoscono l'antigene HIV.

Patogenesi

L'ospite oppone una fortissima risposta antivirale contro il virus ma il virus infetta ed integra proprio nel genoma delle cellule deputate a contenere l'infezione. Si apre una gara impari, la persistenza dell'infezione è sicura.

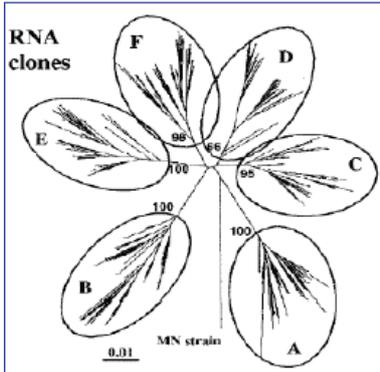
Nel momento in cui il virus arriva a livello della mucosa a quando lo ritroviamo in circolo passano solo 3gg, nel giro di poche ore abbiamo infezione sistemica (nella scimmia), nell'uomo questo intervallo va dai 4 agli 11 giorni.

La prima cellula infettata è quella del Langerhans che sono ovunque sulle mucose, essa acquisisce il



virus e richiama i linfociti che verranno infettati dal virus fino ad arrivare ai linfonodi, dove verranno infettate moltissime cellule del sistema immune.

La risposta immune è completa, comprende sia Ab che cellule e dovrebbe contenere l'infezione, ciò non accade perché il virus uccide le cellule CD4, il virus muta evadendo la neutralizzazione come HCV, può rimanere all'interno dei centri germinali delle cellule follicolari dendritiche per un tempo molto lungo e può essere riacquisito dai linfociti che circolano dentro il centro stesso, può stabilire infezioni silenziose nelle cellule resting che, se attivate, permettono al virus di esprimersi per produrre nuove infezioni.

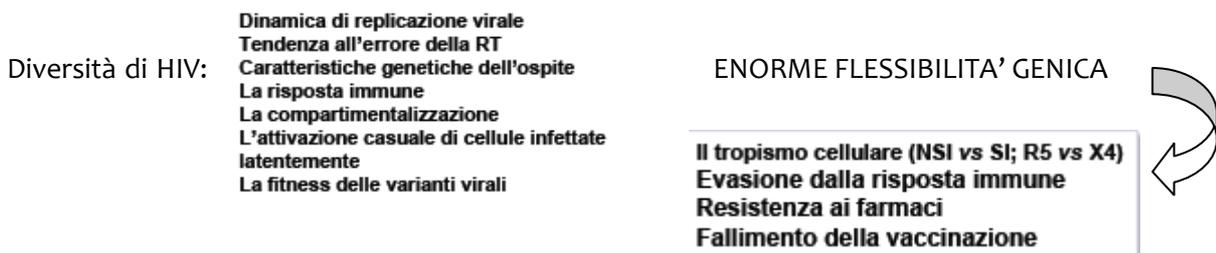


I sei “palloncini” rappresentano sei pazienti infettati con sei diversi varianti di HIV. Ogni ramo è un genoma del virus, quindi in una singola persona albergano genomi simili tra loro. La variabilità genica è data anche in questo caso dalla polimerasi che non corregge gli errori e dalla pressione selettiva.

! in una singola persona è stata trovata la stessa variabilità dell’influenza del '96.

Il 50% delle infezioni è dato dal sottotipo C ed ogni tipo di virus fa progredire la malattia in maniera diversa.

Perché l’infezione vada avanti il linfocita deve essere attivato, e questo accade molto facilmente durante un’infezione, qualsiasi essa sia.

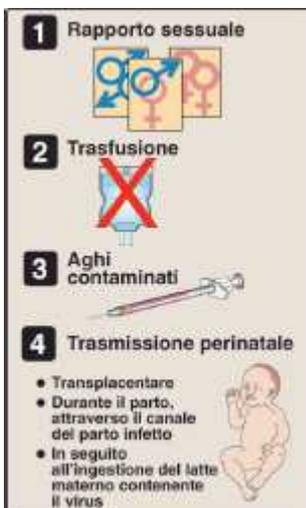


Studiando l’HIV, si è visto che alcuni ospiti potevano controllare l’infezione non andando incontro all’AIDS; sono persone (1% della popolazione) infettate anche da 16 anni che mantengono nel tempo un numero di linfociti CD4 stabilmente al di sopra di 600 per ul, sono asintomatici e non sono mai stati trattati.

Molto spesso il virus sotto la pressione selettiva va incontro verso una variante di env con inferiore capacità re plicativa, quindi meno patogena, oppure va incontro a variante del gene nef. Ci sono anche fattori legati all’ospite:

- Controllo mediato da una risposta immune cellulare efficace che persiste nel tempo senza esaurirsi
- Mutazioni del corecettore o dei ligandi naturali (25% dei long term progressors)
- Autoimmunità funzionale che abolisce il CCR5 dalla membrana
- Aplotipi MHC (HLA) classe I e II contro epitopi molto conservati (prostitute di nairobi)
- Immunità contro cellule umane (prostitute di nairobi)

Il virus HIV si trasmette tramite diverse vie:



ormai le trasfusioni non sono più un rischio.

STORIA DELL'INFEZIONE

Ci sono cinque momenti principali:

- Infezione primaria
- Siero conversione
- Latenza
- AIDS
- Morte

L'infezione primaria non è sempre sintomatica purtroppo e quando ci sono i sintomi sono molto generali come mal di testa, faringite, rash cutaneo tipici di mononucleosi o influenza.

A meno che una persona non sappia di poter essere entrata in contatto col virus, è difficile immaginare che l'infezione che si ha è data da HIV; durante questa fase la viremia è massima, raggiunge livelli altissimi, si ha quindi una perdita notevole di cellule CD4.

La siero conversione si ha quando viene attivato il sistema immune e si vede perché sono presenti gli anticorpi nel siero, la risposta immune fa abbassare molto la viremia e il numero delle cellule infettate,

ma non riesce a controllare fino in fondo la replicazione del virus. C'è un momento dopo l'infezione acuta detto set-point (dopo 6 mesi) in cui la viremia alta è direttamente proporzionale alla probabilità di andare incontro all'AIDS conclamato, se la viremia non è altissima il paziente ha aspettativa di vita più lunga.

Si stabilisce ora la latenza, in cui il paziente sta bene ma il virus continua a replicare, ma c'è equilibrio tra cellule infettate e cellule che rientrano in circolo; a un certo punto le CD4 diminuiscono e si hanno i sintomi della fase pre - AIDS, caratterizzati dall'attacco di

patogeni opportunisti: da qui c'è la progressione dell'AIDS che porta alla morte in pochi mesi se il paziente non viene trattato.

Diagnosi

• **Sierologia.** Include un test di screening ed un test di conferma per presenza di anticorpi. La positività indica contatto con il virus, e quindi infezione.

• **Screening:** viene utilizzato un test ELISA combinato ricerca degli anticorpi e dell'antigene p24. È molto precoce e risulta positivo anche nell'infezione acuta.

• **Conferma** - Viene utilizzato un Western Blot. Un individuo è positivo se presenta anticorpi contro envelope e contro il core virale.

- Isolamento virale (non usato)
- Ricerca RNA e DNA virale mediante PCR
- Standardizzate, rapide e molto affidabili

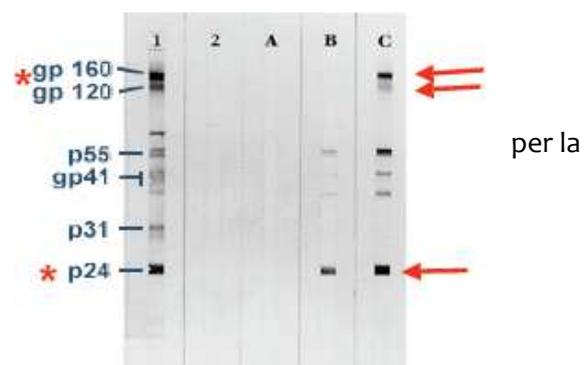
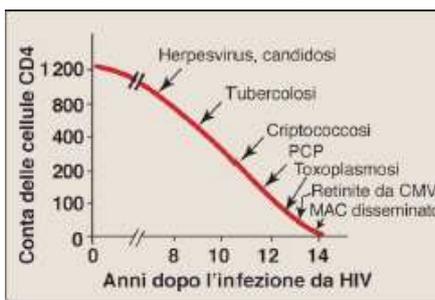
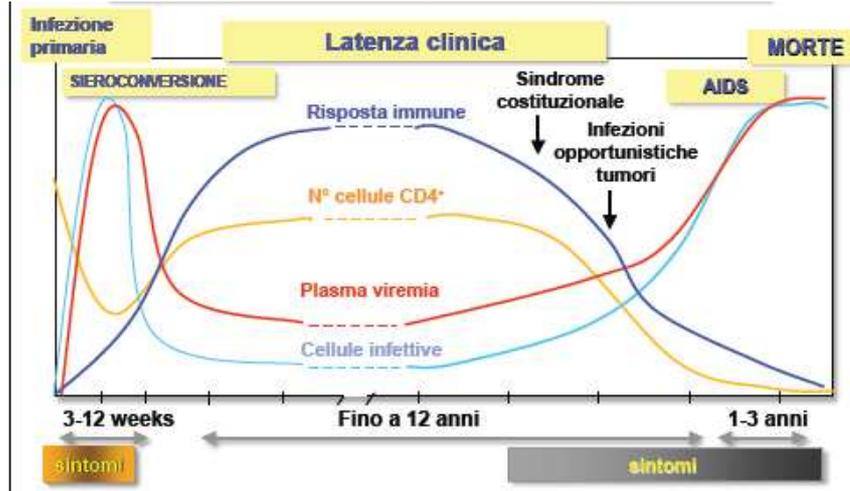
indispensabili per la diagnosi nei bambini nati da madre sieropositiva

• Ricerca quantitativa RNA genomico (**viremia**)

- Indispensabile per il controllo dell'andamento dell'infezione e della terapia

• Sequenziamento

- Permette la valutazione di resistenze a farmaci, se ci sono mutazioni il farmaco deve essere cambiato.



Terapia

1. Modulatore dell'espressione del recettore cellulare CD4
2. Inibitori della fase di attacco del virus (attivi su gp120)

3. Antagonisti dei recettori delle chemochine (Maraviroc)

4. Inibitori della fusione cellulare (Fuzeon)

5. Inibitori della trascrittasi inversa

- Inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa (NRTIs) (AZT, d4T, 3TC...)

- Inibitori nucleotidici della trascrittasi inversa (NtRTIs) (Tenofovir TFV)

- Inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa (NNRTIs) (Nevirapina...)

6. Inibitori dell'integrasi (Raltegravir)

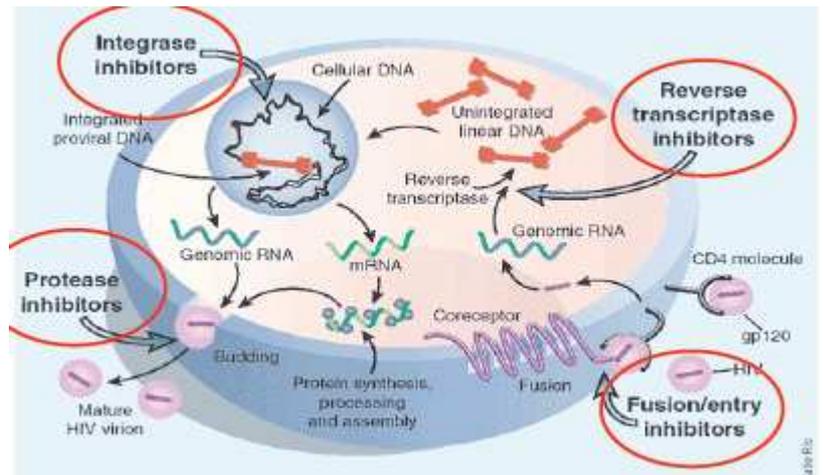
7. Inibitori della trascrizione

8. Inibitori della proteasi (PIs) (Indinavir, Ritonavir, Saquinavir...)

9. Inibitori della ribonucleasi H

[in rosso sono i farmaci che possono essere utilizzati in questo momento, gli altri sono oggetto di ricerca]

Il soggetto deve prendere tutti i farmaci che deve, altrimenti si dà la possibilità al virus di evolvere e avere resistenze.



Non esiste un vaccino efficace, ma la terapia è riuscita a diminuire drasticamente le co - infezioni.

-Il virus replica nonostante la vigorosa risposta immune (sia umorale che cellulare)

-La comparsa di **anticorpi neutralizzanti** è debole e tardiva rispetto al contenimento della replicazione subito dopo l'infezione primaria ☐ **non sono critici nel limitare la replicazione**

L'iniziale contenimento della replicazione coincide con l'emergenza di una **risposta CTL** virus specifica ☐ un vaccino efficace **dovrebbe stimolare questa risposta**

- Il virus muta molto rapidamente ☐ mutanti non riconosciuti dal sistema immune. Tuttavia sono stati generati alcuni monoclonali umani dotati di potente attività neutralizzante contro isolati primari differenti

- Il virus persiste come DNA provirale latente ☐ può replicare in tempi successivi

- La via di trasmissione più frequente è attraverso le mucose ☐ **immunità mucosale**.

- **L' educazione** ha ridotto il numero di nuove infezioni e quindi dell'AIDS

- **La terapia efficace** ha abbassato il tasso di mortalità

- Dunque è **aumentato** il numero di soggetti infetti nella popolazione

- Non si può abbassare la guardia.

- Ancora più educazione e ancora più farmaci efficaci sono necessari per superare il problema della diffusione del virus.