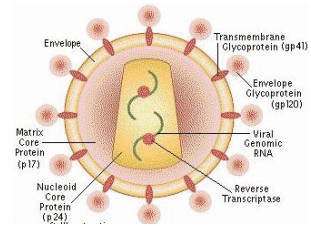
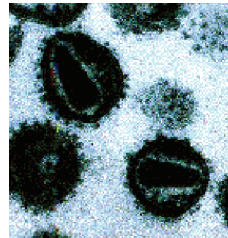


INFEKCIJA VIRUSOM HUMANE IMUNODEFICIJENCIJE



Oktavija Đaković Rode

VIRUS HUMANE IMUNODEFICIJENCIJE (HIV)

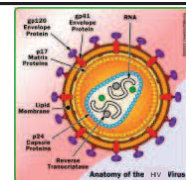


VIRUS HUMANE IMUNODEFICIJENCIJE (HIV)

- 1981. opis prvih bolesnika s AIDS-om (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*)
- 1983. izoliran virus HIV-1
- 1985. serološki anti-HIV testovi
- 1986. izoliran virus HIV-2
- 1987. odobren prvi anti-HIV lijek zidovudin (AZT, nukleozidni analog)
- 1991. odobren drugi nukleozidni analog ddl (didanozin)
- 1993. AIDS postaje najčešći uzrok smrti mladih odraslih osoba u SAD-u
- 1994. uspješnost AZT-a u prevenciji neonatalnog prijenosa, spoznaja o ograničenjima monoterapije

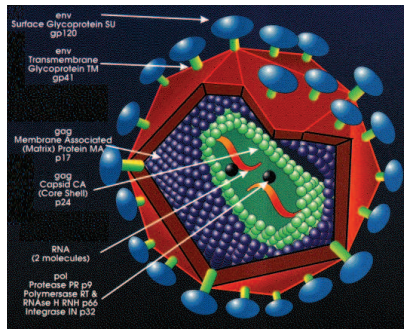
Klasifikacija HIV-a

- Porodica *Retroviridae*
- Potporodica *Lentivirinae*
- Rod *Lentivirus*

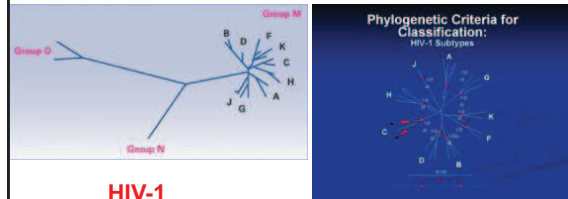


- **RNK** virus, promjera ~120nm, kuglasta oblika, simetrije ikozaedra, ovijen dvostrukom lipidnom ovojnicom
- genom: dvije identične podjedinice jednolančane (+) RNK
- Tipovi: **HIV-1 i HIV-2**
- HIV-1 je predominantni virus odgovoran za globalnu pandemiju
- HIV-2 pokazuje 40% nukleotidnu homologiju s HIV-1
- HIV-2 je najrasprostranjeniji u Africi

HIV-1 VIRION



GENETSKA VARIJABILNOST HIV-1



HIV-1

Grupe HIV-1:

M= major
O= outlier
N= non-M, non-O

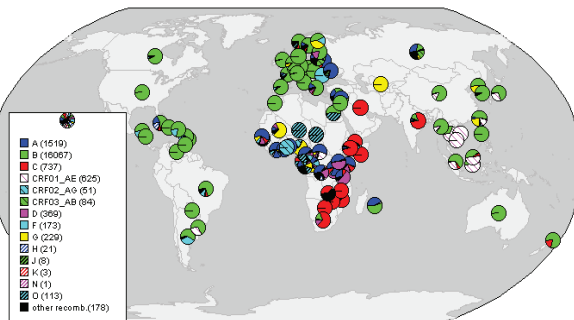
Grupa M:

Podtipovi
Rekombinante

Podtipovi HIV-1:

A (zapadna i središnja Afrika)
B (Europa, sjeverna Amerika)
C (južna i istočna Afrika, Indija, Nepal)
D (istočna i središnja Afrika)
F (središnja Afrika, južna Amerika, istočna Europa)
G (Afrika, središnja Europa, središnja Afrika)
J (središnja Amerika)
K (Kongo, Kamerun)

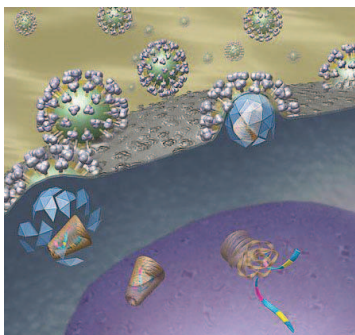
Raspodjela HIV-1 podtipova i rekombinantnih oblika u svijetu



PRIJENOS HIV-a

- Spolni put** – muški **homoseksualci** čine najveću rizičnu grupu u zapadnoj Europi i Sj. Americi. U zemljama u razvoju najznačajniji je **heteroseksualni** put prijenosa
- Krv i krvni pripravci**
 - ✓ **iv. ovisnici** - druga najveća grupa u Europi i S. Americi.
 - ✓ **Hemofilijari** – identificirani kao jedna od prvih rizičnih grupa; inficirani putem kontaminiranog faktora VIII prije uvođenja testiranja krvi
 - ✓ u **zdravstvenim organizacijama** - transkutani (perkutani) doticaj s krvlju i drugim tjelesnim tekućinama
 - ✓ **rizik nakon ubodnog incidenta je 0,2-0,3%**
 - ✓ prijenos **transfuzijskim pripravcima** - u stalnom padu i iznosi manje od 3%; nije sasvim isključen → «**period prozora**» → akutna faza HIV bolesti → protutijela se još nisu stvorila
 - ✓ **rizik prijenosa transfuzijama u nas iznosi 1:1 000 000**
 - ✓ **Transplantacije i umjetna oplodnja**
- Vertikalni prijenos** – od majke na dijete – transplacentarno, perinatalno tijekom poroda, postnatalno dojenjem
 - ✓ **Rizik prijenosa s majke na dijete 13-40%**

HIV-INFEKCIJA



CILJNE STANICE ZA HIV

• AKTIVNE STANICE - KOJE POSJEDUJU RECEPTOR CD4

• CD4+ T-limfociti

- Odgovorni za većinu produkcije virusa tijekom infekcije
- Većina stanica se brzo zaražava i brzo umire, mali dio je latentno zaražen
- Deplecija CD4+ T-limfocita dovodi do imunodeficijencije

• Makrofagi/monociti

- Tivni makrofazi u limfnim čvorovima, plućima i SŽS-u mogu biti **rezervoar** HIV-a
- Vjerojatno su važni u prijenosu infekcije

• Stanice mikroglije

- Infekcija ovih stanica važna je za **neuropatogenezu**
- Mehanizam infekcije nepoznat

• Dendritičke stanice

- Vežu, zaštićuju i prenose HIV-1 na CD4+ T-limfocite bez da se zaraze
- Potencijalno vrlo važan **medijator širenja** virusa u domaćinu

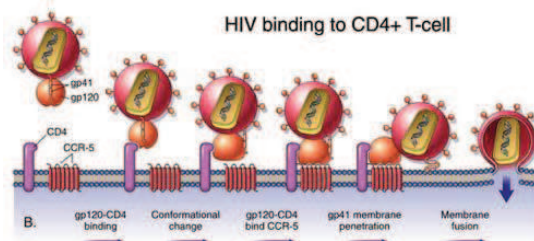
• Folikularne dendritičke stanice (FDC)

- Vežu veliku količinu viriona u limfnim čvorovima

STANIČNI RECEPTORI ZA HIV

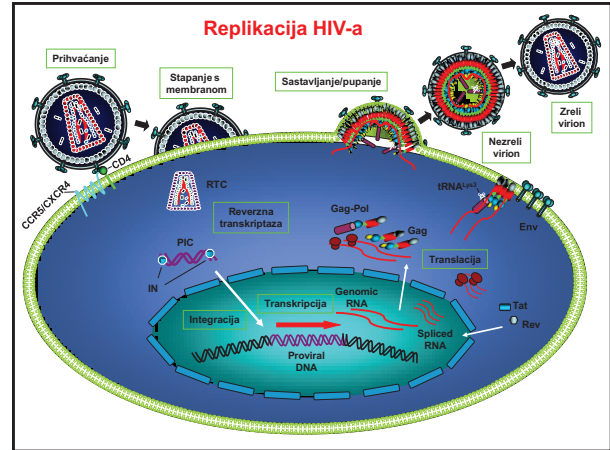
- HIV-1 se veže za 2 stanična receptora:
 - Glavni receptor - **molekula CD4**
 - Koreceptor - **kemokinski receptor CCR5 i CXCR4**
- **Virusni glikoproteini HIV-1**
- **gp120** - površinski glikoprotein nekovalentno vezan na gp41
 - ima determinante kojima se veže za CD4 i determinante za CCR5 odnosno CXCR4
- **gp41** - transmembranski protein koji učvršćuje kompleks gp120/gp41
 - omogućava fuziju membrane virusnog i domaćinskog lipidnog dvosloja tijekom ulaska virusa u stanicu

Vežanje HIV-a na ciljnu stanicu



UMNOŽAVANJE HIV-a

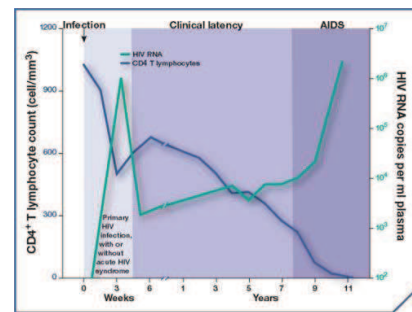
1. **Vežanje** gp120 za receptor CD4 na stanici → **stapanje** viriona sa staničnom površinom → **ulazak** u stanicu
2. **Prepisivanje** RNK genoma pomoću reverzne transkriptaze u **provirusnu DNK** koja se integrira u stanični genom ili ostaje kao neintegrirani provirus
3. Tvorba mRNK i virusnog RNK genoma
4. Translacija virusne RNK → tvorba enzima i strukturnih proteina
5. Sastavljanje i "**pupanje**" virusa



PATOGENEZA HIV INFEKCIJE

- Nakon **ekspozicije** dolazi do intenzivnog umnožavanja HIV-a i izražene **primarne viremije** i **diseminacije**
→ simptomi **akutne infekcije** HIV-om (3-6 tjedana nakon ekspozicije)
- Izbjegavanje imunskog odgovora i utemeljenje **kronične infekcije** sa stalnim aktivnim umnožavanjem → nakon ~12 mjeseci viremija se ustali
→ **faza kliničke latencije** → svakodnevno stvaranje i eliminacija oko 10^{10} virusa → deplecija CD4+ T-ly
→ ustaljena niža viremija = sporija progresija bolesti
- **Klinička latencija** ~10 godina
→ u neliječenih: pad broja CD4+ T-ly na <200/ μ L
→ rizik **oportunističkih infekcija**
– Citotoksični CD8+ T-ly direktno liziraju virusom zaražene CD4+ T-ly; obzirom na značajnu depleciju CD4+ T-ly, CD8+ T-ly proliferiraju
- Kad se uništene CD4+ T-ly više ne mogu zamijeniti, imunski sustav posustaje → razvija se **AIDS** (sindrom **stečene imunodeficijencije**)

Patogeneza HIV infekcije



→ **viremija HIV-RNK**, broj CD4+ T-limfocita

Imunološki status bolesnika u kasnoj simptomatskoj fazi HIV-bolesti

Stanična subpopulacija	PACIJENT	Referentne vrijednosti
T-limfociti	67,1	60-85
B-limfociti	9,7	5-20
CD4+ T-limfociti	2,4	35-60
Broj CD4+ T-limfocita/ μ L	13	500-1500
CD8+ T-limfociti	58,2	10-30
omjer CD4+/CD8+	0,0	1,5-2,5
NK stanice	6,8	0-15
HLA-DR+ T-limfociti	10,4	0-10

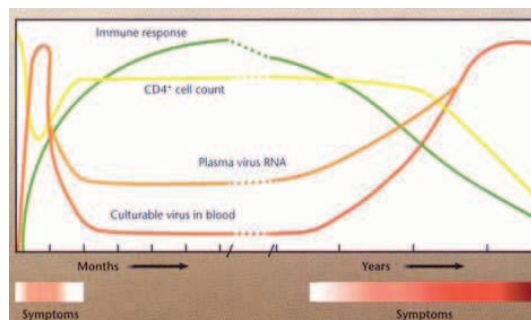
Klasifikacija HIV bolesti prema CDC

CD4+ T- limfociti (stanice/mm ³)	A Asimptomatska ili akutna HIV infekcija	B Simptomatska (Non A ili C)	C AIDS indikatori
> 500 (>29%)	A1	B1	C1
200-499 (14-28%)	A2	B2	C2
< 200 (<14%)	A3	B3	C3

KLINIČKE SLIKE

- Akutna bolest** ("serokonverzijska") – viđa se u 10% pacijenata **nekoliko tjedana nakon ekspozicije** i koincidira sa serokonverzijom. Može se prezentirati kao sindrom infektivne mononukleoze
- Klinička latencija**- pacijent je potpuno bez simptoma kroz nekoliko mjeseci, **pa i više godina** (≥ 10 godina).
- Oportunističke bolesti ili perzistirajuća generalizirana limfadenopatija**
- AIDS**

TIJEK HIV INFEKCIJE I IMUNOSNI ODGOVOR



IMUNOSNI ODGOVOR

- Pojava protutijela najčešće **4-12 tjedana** nakon primarne infekcije
1. protutijela na proizvode gena *gag*
 - p24, p17, p55
 2. protutijela prema proizvodima gena *env* i *pol*
 - *env* → gp120, gp41, gp160
 - *pol* → p31, p51, p66

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

SEROLOGIJA

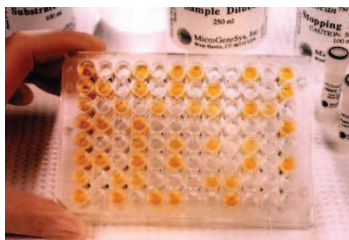
Serološki testovi:

Screening

Potvrđni

- **Screening testovi**
 - imunoenzimski testovi (EIA, ELISA)
 - visoka osjetljivost i specifičnost
 - PROBLEM: mogući lažno pozitivni i lažno negativni testovi; neki testovi ne dijagnosticiraju neke podtipove HIV-1 (genotip O)
- **Potvrđni testovi**
 - Western blot (WB); LIA (*line immunoblot*)
 - “zlatni standard” u serološkoj dijagnostici

ELISA za HIV protutijela

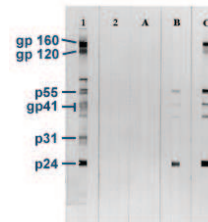


Mikropločica ELISA za HIV protutijela:
obojene jažice upućuju na reaktivan / pozitivan nalaz

WESTERN BLOT (WB) za HIV protutijela

HIV-1 Western Blot

- Traka 1: Pozitivna kontrola
- Traka 2: Negativna kontrola
- Uzorak A: Negativno
- Uzorak B: Granično
- Uzorak C: Pozitivno



Line immunoassays (LIA) za HIV protutijela

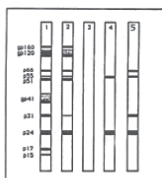


Figure:
Examples of reactions by an HIV-1 Western blot:
1. Positive control (strong)
2. Positive control (weak)
3. Negative control
4. Indeterminate profile
5. Indeterminate profile (highly suggestive)

- Značajna su At. na glikoproteine ovojnice gp120, gp41, gp160 (HIV-1) gp105, gp36 (HIV-2)
- Anti-p24 - obično prisutno, ali može biti nedetektabilno u kasnoj fazi HIV-infekcije

HIV

- HIV antigeni i HIV protutijela se pojavljuju i detektiraju u različitim fazama infekcije
- Rizik prijenosa infekcije je vrijeme “prozora” infekcije (*window period*), nakon infekcije, a prije serološke detekcije

DODATNI LABORATORIJSKI TESTOVI

- Rano postavljanje dijagnoze **detekcijom HIV-antigena, pro-DNK ili RNK HIV**
- **HIV viremija** – razina virusa HIV (*HIV viral load*) u krvi mjeri se određivanjem HIV-RNK metodama molekularne dijagnostike: RT-PCR, NASBA ili bDNK
- **HIV-antigen** – određivanje Ag u serumu ELISA testom
 - kombinirani testovi za istovremenu dijagnostiku Ag i At iz istog uzorka smanjen “window period” na ~ 3 dana
- Nakon postavljanja dijagnoze važno je **kontinuirano praćenje pacijenata** zbog pravovremenog otkrivanja progresije bolesti i započinjanja terapije te monitoriranja uspješnosti ART

PREPORUČITI TESTIRANJE – TESTIRANJE JE DOBROVOLJNO

1. anamnestički podatak o spolno prenosivim bolestima
2. invazivni cervikalni karcinom
3. učestale gljivične infekcije rodnice koje slabo reagiraju na liječenje
4. učestale gljivične infekcije usne šupljine
5. novodijagnosticirana tuberkuloza
6. trombocitopenija nejasne etiologije
7. herpes zoster koji se ponavlja
8. novonastala psorijaza koja nije nasljedno opterećena
9. teška pneumokokna pneumonija u mlađe osobe (dob 15-45 godina)
10. upalni proces zdjelice

PREVENCIJA - UOBIČAJENE MJERE ZAŠTITE - I

1. **STANDARDNE MJERE PREDOSTROŽNOSTI** - primjenjuju se na **sve bolesnike** bez obzira na njihovu dijagnozu
 - **TJELESNE TEKUČINE:** KRV, SPERMA, VAGINALNI I CERVICALNI SEKRET, PREEJAKULAT, EJAKULAT, URIN, LIKVOR, SLINA, SUZE, MAJČINO MLIJEKO
2. **Higijensko pranje ruku** – ruke treba prati prije i nakon dodira s bolesnicima, nakon skidanja rukavica te odmah ako su ruke vidljivo kontaminirane
3. **Rukavice** se moraju nositi kada postoji mogućnost dodira s krvi i drugim tjelesnim tekućinama
4. **Pregače, zaštitne naočale i maske** treba nositi kad postoji mogućnost raspršivanja i aerosolizacije krvi i drugih tjelesnih tekućina

UOBIČAJENE MJERE ZAŠTITE - II

5. **Rukovanje s oštrim predmetima** - pažljivo - obavezno odlagati u neprobojne posude
6. **Igle** se nikad ne diraju, ne svijaju, ne lome, niti se na njih vraća poklopac
7. **Mrlje od krvi** - prvo staviti upijajuće jednokratne ubruse, zatim ukloniti mrlju, onečišćenje oprati sapunom te dezinficirati površinu 0,5% otopinom hipoklorita (npr. razrijediti 4% varikinu vodom 1:10); sve postupke izvoditi u **rukavicama**
8. **Uzorci za laboratorijske pretrage** - ne treba posebno označavati; **sa svim uzorcima se postupa jednako!**
 - **TRANSPORT** materijala u čvrstom kontejneru da ne dođe do razbijanja i razlijevanja;
 - **Laboratorijski rad:** obavezno nositi rukavice tijekom rukovanja s tjelesnim tekućinama; zabranjeno pipetiranje ustima; dekontaminirati radne površine nakon vidljivog zagađenja i završetka rada; pravilno odložiti otpadni materijal

UOBIČAJENE MJERE ZAŠTITE - III

9. **Kontaminirane predmete/aparate koji se ponovo koriste** treba sterilizirati, a ako nije moguće - dezinficirati dezinficijensima visokog stupnja
10. **Kardiopulmonalna resuscitacija** - maske i baloni za umjetnu ventilaciju trebaju biti lako dostupni radi smanjenja direktnog kontakta kod umjetnog disanja
11. **Zdravstveni radnici s otvorenim ranama i vlažnim dermatitisom** trebaju izbjegavati izravni kontakt s bolesnicima i ne bi smjeli rukovati s kontaminiranim materijalom
12. **Bolesnike zaražene HIV-om** nije potrebno posebno izolirati osim u slučajevima kad boluju od prenosivih oportunističkih bolesti

POSTEKSPOZICIJSKI POSTUPAK

- Rizik HIV infekcije:
 - nakon perkutanog (ubodnog, transkutanog) incidenta **0,2-0,3%**
 - nakon kontakta zaražene krvi sa sluznicom **~0,1%**
- **POSTUPAK KOD PERKUTANOG INCIDENTA**
- Obavezno pranje ruku sapunom odmah nakon perkutanog incidenta
- Nakon incidenta pustiti ranicu da krvari ili čak potaknuti krvarenje (nema jasne potvrde, ali ne šteti)
- Sluznice koje su kontaminirane krvlju odmah isprati vodom
- Učiniti anti-HIV test u zdravstvenog radnika

POSTEKSPOZICIJSKI POSTUPAK

- Ako se radi o seronegativnoj osobi, testiranje treba ponoviti nakon 6 tjedana, 12 tjedana i 6 mjeseci od incidenta.
 - Zdravstveni radnik treba zatražiti pomoć ako se unutar tih 6 mjeseci javi bilo kakva akutna bolest obilježena povišenom temperaturom, osipom, bolovima u mišićima, općom slabošću ili povećanim limfnim čvorovima.
 - Savjetuje se primjena sigurnog spolnog ponašanja, ne davati krv, druge organe, spermu i ne dojit.
- Ako je osoba seronegativna nakon 6 mjeseci, testiranje ne treba dalje ponavljati
- Ovisno o ekspoziciji može se odlučiti o **postekspozicijskoj antiretrovirusnoj kemoprofilaksi**
 - Kod značajnijih ekspozicija (veća količina krvi, bolesnik s izraženom viremijom) treba primijeniti kombinaciju triju lijekova

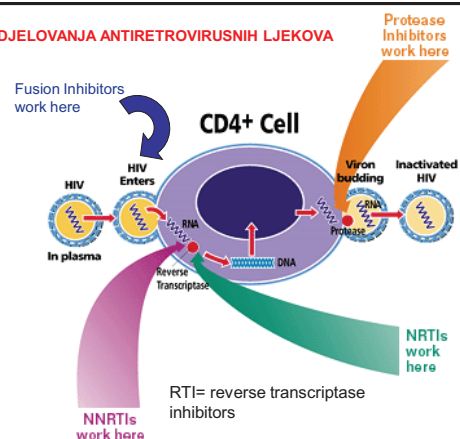
SPOZNAJE KOJE SU DOVELE DO NOVOG PRISTUPA LIJEČENJU

- ✓ HIV se stalno intenzivno umnožava (svakodnevno se stvori i eliminira 10^{10} virusnih čestica)
- ✓ određivanje viremije (HIV-1 RNK) - prognostički značaj
- ✓ definiranje rezistencije za HIV - klinički i prognostički značaj
- ✓ HAART smanjuje umnožavanje virusa te značajno utječe na morbiditet (pojavu novih oportunističkih infekcija) i smrtnost

ANTIRETROVIRUSNO LIJEČENJE (ART)

- **HAART** (engl. *highly active antiretroviral therapy*)
= kombinacija antiretrovirusnih lijekova koja postiže smanjenje viremije u plazmi na nemjerljivu razinu (< 50 kopija/ml)
- **Ciljevi primjene HAART-a:**
 - smanjiti viremiju na nemjerljivu razinu i održati je na toj razini što je duže moguće
 - omogućiti porast broja CD4+ T-limfocita i barem djelomičnu rekonstrukciju imunološkog sustava
 - klinički značajan učinak (smanjenje učestalosti oportunističkih bolesti, kvaliteta života, duljina preživljenja)
- Liječenje se provodi prema međunarodnim (SAD, UK, WHO) i nacionalnim **preporukama**

MJESTA DJELOVANJA ANTIRETROVIRUSNIH LIJEKOVA



TERAPIJA - HAART

INHIBITORI REVERZNE TRANSKRIPTAZE (RTI) HIV-a:	
NUKLEOZIDNI ANALOZI - NRTI	zidovudin (ZDV, AZT; <i>Retrovir</i>); didanozin (ddI; <i>Videx</i>); zalcitabin (ddC; <i>Hivid</i>); stavudin (d4T; <i>Zerit</i>); lamivudin (3TC; <i>Epivir</i>); abakavir (ABC; <i>Ziagen</i>)
NUKLEOTIDNI ANALOG	Tenofovir (<i>Viread</i>)
NEUKLEOZIDNI INHIBITORI REVERZNE TRANSKRIPTAZE - NNRTI	nevirapin (NVP; <i>Viramun</i>); delavirdin (DLV; <i>Rescriptor</i>); efavirenz (EFV; <i>Sustiva, Stocrin</i>)
INHIBITORI PROTEAZE (peptidni analozi, kompetitivna inhibicija proteaze)	sakvinavir (SQV; <i>Inivase</i> (SQV-HGC); <i>Fortovase</i> (SQV-SGC)); ritonavir (RTV; <i>Norvir</i>); indinavir (IDV; <i>Crixivan</i>); nelfinavir (NFV; <i>Viracept</i>); amprenavir (APV; <i>Agenerase</i>); lopinavir + ritonavir (<i>Kaletra</i>)
INHIBITORI FUZIJE (sintetski peptidi)	Enfuvirtid (<i>Fuzeon</i>)

EKSPERIMENTALNI LIJEKOVI ZA HIV

- Inhibitori sazrijevanja
- Inhibitori integraze
- Inhibitori ulaska virusa, tj. kemokinskih (CCR5, CXCR4) koreceptora
- Modulatori staničnog metabolizma (hidroksiurea, mikofenolat – osiromašuju okoliš slobodnih nukleotida i olakšavaju učinkovitost NRTI)
- Citokini (IL-2)

• CJEPIVO

STERILIZACIJA I DEZINFEKCIJA

- **Inaktivacija HIV-a:**
 - alkoholom, hipokloritom, vodikovim peroksidom, fenolima i paraformaldehidom
 - na temperaturi od 56-60°C nakon oko 30 minuta
 - 0,5% Na-hipokloritom i 70% alkoholom nakon jedne minute
- Za dekontaminaciju **pribora za jelo** dovoljni su standardni postupci (topla voda sa sapunicom ili detergentom)
 - voda mora biti toliko topla da se moraju koristiti rukavice, a nakon pranja se posude suši
- Krvlju uprljano **rublje i posteljino** treba staviti u nepropusne vreće; temperatura pranja treba biti 71°C ili viša kroz 25 minuta
- Kontaminirani materijal treba staviti u dvostruke vreće
- Oštre predmete treba staviti u neprobojni kontejner

HIV

