



UMFT
Universitatea de
Medicină și Farmacie
„Victor Babeș”
din Timișoara

CURS DE MICROBIOLOGIE SPECIALĂ

VOL. II VIRUSOLOGIE, MICOLOGIE

Pentru studenții Facultății de Medicină

AUTORI:

**MONICA LICKER
DANA BREHAR CIOFLEC**

ELENA HOGEA

MIHAELA CRĂCIUNESCU

FLORIN HORHAT

DELIA BERCEANU-VĂDUVA

DORINA DUGĂEȘESCU

DELIA MUNTEAN

LIVIA STÂNGĂ

MIHAELA POPA

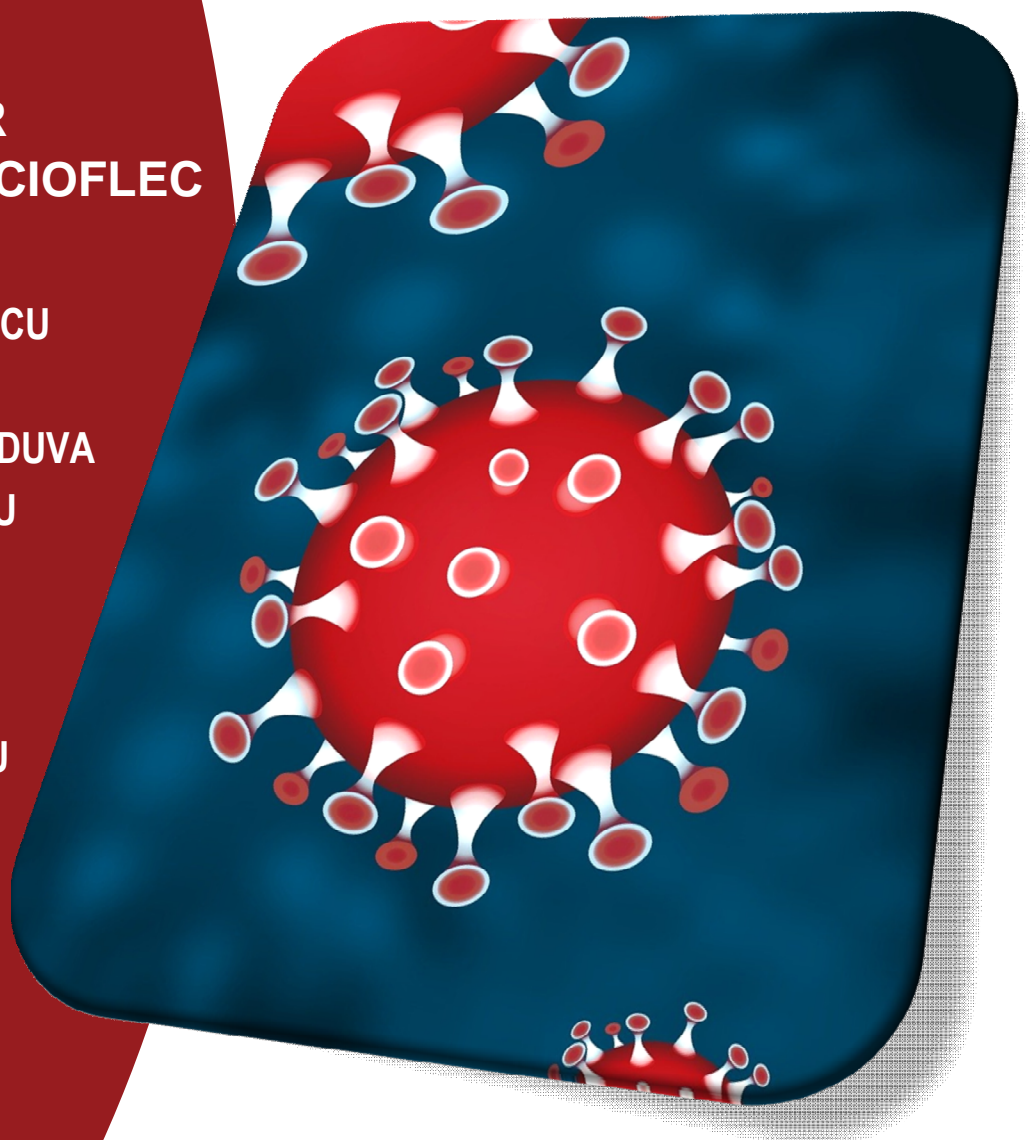
MATILDA RĂDULESCU

CIPRIAN PILUȚ

IULIA BAGIU

MARIA RUS

CORINA MUȘUROI



2020

Editura „Victor Babeș”

Piața Eftimie Murgu nr. 2, cam. 316, 300041 Timișoara

Tel./ Fax 0256 495 210

e-mail: evb@umft.ro

www.umft.ro/editura

Director general: Prof. univ. emerit dr. Dan V. Poenaru

Director: Prof. univ. dr. Andrei Motoc

Colecția: MANUALE

Coordonator colecție: Prof. univ. dr. Sorin Eugen Boia

Referent științific: Prof. univ. dr. Codruța Șoica

Indicativ CNCSIS: 324

© 2020

Toate drepturile asupra acestei ediții sunt rezervate.

Reproducerea parțială sau integrală a textului, pe orice suport, fără acordul scris al autorilor este interzisă și se va sancționa conform legilor în vigoare.

ISBN general: 978-606-786-179-2

ISBN Vol. I: 978-606-786-178-5

CUPRINS:

II. MICOLOGIA MEDICALĂ.....	5
1. Caractere generale ale fungilor.....	5
2. Dermatofiți.....	10
3. Levuri.....	11
3.1 Genul <i>Candida</i>	11
3.2 Genul <i>Cryptococcus</i>	12
3.3 Genul <i>Histoplasma</i>	12
4. Mucegaiuri.....	13
4.1 Genul <i>Aspergillus</i>	13
4.2 Genul <i>Coccidioides</i>	13
4.3 Genul <i>Penicillium</i>	13
4.4 Genul <i>Fusarium</i>	14
III. VIRUSOLOGIE MEDICALĂ.....	15
1. Caractere generale ale virusurilor.....	15
2. Familia Poxviridae.....	32
2.1 Genul <i>Orthopoxvirus</i>	32
2.2 Genul <i>Molluscipoxvirus</i>	33
3. Familia Adenoviridae.....	34
4. Familia Herpesviridae.....	37
4.1 Subfamilia <i>Alphaherpesvirinae</i>	38
4.2 Subfamilia <i>Betaherpesvirinae</i>	40
4.3 Subfamilia <i>Gammaherpesvirinae</i>	41
5. Familia Papillomaviridae.....	43
6. Familia Polyomaviridae.....	45
7. Familia Orthomyxoviridae.....	47
7.1 Virusurile gripale A, B și C.....	47
8. Familia Paramyxoviridae.....	51
8.1 Virusurile paragripale 1, 2, 3, 4.....	52
8.2 Virusul urlian.....	52
8.3 Virusul rujeolic.....	53
8.4 Virusul sincițial respirator.....	54
9. Familia Picornaviridae.....	55
9.1 Genul <i>Enterovirus</i>	55
9.2 Genul <i>Rhinovirus</i>	58
10. Familia Rhabdoviridae.....	59
10.1 Genul <i>Lyssavirus</i> -virusul rabic.....	59

11. Familia Coronaviridae.....	61
12. Familia Reoviridae.....	63
12.1 Genul <i>Rotavirus</i>	63
13. Familia Togaviridae.....	64
13.1 Genul <i>Rubivirus</i>	64
14. Virusurile hepatitice.....	66
14.1 Virusul hepatitic A (HAV).....	66
14.2 Virusul hepatitic B (HBV).....	69
14.3 Virusul hepatitic D (HDV, agentul delta).....	74
14.4 Virusul hepatitic C.....	76
14.5 Virusul hepatitic E.....	78
14.6 Virusul hepatitic F.....	79
15. Familia Retroviridae.....	80
Bibliografie.....	85

II. MICOLOGIA MEDICALĂ

Micologia medicală este știința care se ocupă cu studiul fungilor și a relației lor cu gazda umană. Fungii reprezintă un grup divers de microorganisme eucariote. Sunt foarte răspândiți în natură și trăiesc în zonele cu materie organică moartă. Doar o parte dintre ei alcătuiesc flora normală a organismului uman.

Au fost descrise **peste 100.000 de specii**, mai puțin de 100 dintre acestea fiind implicate în etiologia infecțiilor umane numite micoze.

Terapia modernă a afecțiunilor neoplazice cu doze crescute de chimioterapice, transplanturile de organe solide și infecțiile imunosupresive au permis **emergența speciilor de fungi oportunist - patogeni**, cauză comună a infecțiilor invazive la gazda imunocompromisă.

1. Caractere generale ale fungilor

Fungii constituie un grup divers de microorganisme, suficient diferențiate de alte forme de viață pentru a putea fi considerate ca un univers aparte.

Structura fungilor

Sunt celule eucariote, care posedă un nucleu cu membrană nucleară și un perete celular constituit din polizaharide, polipeptide și chitină. Au o nutriție heterotrofă și trăiesc ca saprofiți, paraziți sau comensali, pentru o mare varietate de substraturi organice. Structura lor poate fi **unicelulară**, cum este cazul levurilor, sau **multicelulară**, observată la celulele care se alungesc pentru a forma filamente sau hife. Acestea sunt divizate printr-un perete transversal, denumit sept. Unii fungi au un sept foarte îngust motiv pentru care se numesc aseptați. Filamentele constituie o structură denumită micelium.

Anumiți fungi prezintă ambele forme de creștere și prin urmare pot exista fie sub formă de levuri, fie sub formă de filamente, în funcție de temperatură. Stadiul de levură se formează în țesutul gazdă și în cultura dezvoltată la 37°C, iar stadiul de mușgai este observat în culturile dezvoltate la temperaturi cuprinse între 25-28°C. Acești fungi se numesc dimorfi.

Există însă microorganisme care produc și levuri și filamente, astfel încât cele două forme pot coexista iar apariția lor nu este neapărat determinată de temperatură. Acești fungi se numesc polimorfi.

Clasificare

Fungii se **clasifică în funcție de reproducere** (sexuată și asexuată). Cei la care înmulțirea sexuată nu a fost demonstrată încă, se numesc **fungi imperfecti**. Majoritatea fungilor patogeni pentru om sunt fungi imperfecti.

În cazul reproducerii sexuate, are loc fenomenul de fecundație adică de contopire a două celule de sex diferit în două etape distincte: plasmogamia (fuzionarea citoplasmelor) și cariogamia (fuzionarea nucleilor) cu formarea sporilor sexuați. În reproducerea asexuată, spori asexuați se formează fie în organe specializate (conidiile și sporangiosporii), fie direct în celulele hifale sau levurice (blastosporii, chlamidosporii și artrosporii). Se cunosc patru grupe de fungi implicați în producerea micozelor:

-*Levuri* - celule rotunde sau ovalare care se multiplică prin înmugurire (*Cryptococcus neoformans*).

-*Fungi asemănători levurilor* - cresc predominant ca levuri care înmuguresc. Pot forma lanțuri sau celule filamentoase alungite denumite pseudohife (*Candida albicans*).

-*Fungi filamentoși* - cresc ca filamente (hife) și produc o rețea împletită denumită miceliu. Produc spori asexuați (conidii) care pot fi izolați sau multicelulari. Conidiile sunt produse în lanțuri lungi sau în hife (conidiofori): *Aspergillus*, *Trichophyton* și *Zygomycete*.

-*Fungi dimorf i*- au două forme de creștere: filamentoasă la 22°C (faza saprofită) și asemănătoare levurilor la 37°C (faza parazitară): *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Histoplasma capsulatum*.

Patogenia infecțiilor

Afecțiunile care apar în urma invaziei constituie micozele superficiale, subcutanate și sistemice; penetrarea fungilor se poate face:

- direct prin traversarea tegumentului;
- prin inoculare prin intermediul unei plăgi;
- prin diseminarea infecției

Un alt tip de micoză este cea alergică la antigenele fungice specifice. Aceasta apare în general în urma inhalării sporilor. Se estimează că între 4-15% dintre afecțiunile respiratorii alergice (astmul) sunt provocate de fungi.

Patogenia infecțiilor depinde de prezența sporilor contagioși în mediu (artroconidiile la dermatofiți pot supraviețui mai mulți ani în scuamele de la nivelul pielii), precum și de alterarea barierelor naturale de protecție de la suprafața pielii.

Antifungicele în practica medicală

Nystatinul, descoperit în anul 1951, a fost primul antifungic polienic utilizat cu succes sub formă topică și orală în tratamentul candidozelor. **Nytramicina și amfotericina B**, utilizate în tratamentul micozelor sistemice, fac parte tot din categoria antifungicelor polienice.

Griseofulvina, antifungic administrat pe cale orală și produs în 1959 din *Penicillium griseofulvum* s-a dovedit a fi eficient față de dermatofiți. Este utilizată în tratamentul micozelor superficiale, mai ales în dermatofițiile firului de păr.

Introducerea antifungicelor azolice a marcat dezvoltarea dermatoterapiei. **Derivații azolici** se disting prin spectrul lor larg de acțiune, fiind activi pe dermatofiți, levuri și o mare parte dintre mucegaiurile patogene pentru om.

În 1969 au apărut sub denumirea de derivați imidazolici: **clotrimazolul și miconazolul, urmate de econazol și ketoconazol** utilizate în tratamentul local al micozelor cutanate. Ketoconazolul a fost primul antimicotic sistemic cu spectru larg din acest grup.

Tratamentul sistemic al micozelor a cunoscut o ascensiune importantă odată cu descoperirea **fluconazolului și itraconazolului**, antifungice din grupa derivaților triazolici.

Amorolfina aparține unei noi clase chimice (derivați de morfolină) și este un antifungic local. Efectul său fungistatic sau fungicid se bazează pe alterarea membranei celulare fungice, ținta primară fiind biosinteza sterolilor.

Terbinafina, antimicotic sistemic cu administrare orală (face parte din grupul alilamine).

Cele mai noi antifungice sunt cele din **clasa Echinocandine**, o clasă nouă de lipopeptide semisintetice care prezintă activitate selectivă antifungică (Caspofungin).

Principalele clase de antifungice utilizate în practica medicală

A. Alilamine

1. Naftilina (topic)
2. Terbinafina (oral, topic- cremă)

Spectru de acțiune: levuri, dermatofiți și unele mucegaiuri.

Indicații: micoze ale pielii și unghiilor produse de dermatofiți, eficacitate variabilă în micoze ale mucoaselor produse de levuri; preparatele topice pot fi utilizate în candidozele cutanate și în pityriazis versicolor.

Efecte adverse: tulburări gastro-intestinale, erupții cutanate și urticarie, ocazional pierderea reversibilă a gustului, rare cazuri de hepatită.

B. Antimetaboliți

Singurul agent antifungic care acționează ca un adevărat antimetabolit este **5-fluorocytosine**.

Flucytosina (oral)

Indicații: se folosește în combinație cu Amfotericina B și fluconazolul; aceste combinații s-au dovedit eficiente în tratarea criptococcozei și candidozei; prezintă toxicitate și rezistență secundară; monitorizarea concentrației plasmatice a flucytosinei este esențială pentru evitarea toxicității.

Spectru de acțiune relativ restrâns: *Candida* spp, *C.neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae*; nu are acțiune semnificativă asupra *Aspergillus* spp. sau alte mucegaiuri.

Efectele secundare majore ale flucytosinei: mielosupresie, intoleranță gastro-intestinală și hepatotoxicitate.

Flucytosina este excretată renal și nefrotoxicitatea datorată administrării concomitente a amfotericinei B poate duce la acumularea unor niveluri sangvine toxice de flucytosină.

C. Imidazoli (derivați azolici)

1. Miconazol, clotrimazol, econazol, tioconazol, ketoconazol (topice-aplicații locale)

Spectru de acțiune: levuri, dermatofiți, mucegaiuri.

Indicații: micoze cutanate și vaginale; onicomicoze și candidoze bucale.

Efecte adverse: iritații locale sub formă de arsură și prurit.

2. Ketoconazol (oral-comprimate)

Spectru de acțiune: levuri, dermatofiți, mucegaiuri.

Indicații: micoze cutanate și ale firului de păr, candidoze bucale și vaginale.

Efecte adverse: grețuri, vărsături, cefalee, vertij, în caz de tratament prelungit și în doze mari produce ginecomastie și oligospermie, risc de hepatită: 1/1000-1/3000.

D. Triazoli (derivați azolici)

1. Fluconazol (oral, IV)

Spectru de acțiune: levuri, dermatofiți, mucegaiuri.

Indicații: candidoze bucale, esofagiene și vaginale, micoze cutanate.

Efecte adverse: tulburări gastro-intestinale, cefalee; rareori hepatită, trombocitopenie.

2. Itraconazol (oral-capsule, IV)

Spectru de acțiune: levuri, dermatofiți, mucegaiuri.

Indicații: candidoze bucale, esofagiene și vaginale, micoze cutanate, onicomicoze.

Efecte adverse: tulburări gastro-intestinale, cefalee, vertij, prurit; în doze de peste 600 mg/zi produce hipokaliemie, edeme și hipertensiune; reacții hepatotoxice rare.

3. Voriconazolul este un triazol nou cu spectru larg care este disponibil atât sub formă de administrare orală cât și intravenoasă(oral, IV).

Spectru de acțiune foarte larg:

- *Candida* spp,
- *Candida neoformans*,
- *Trichosporon* spp,
- *Fusarium* spp, și alte mucegaiuri.
- Voriconazolul este activ pe fungii rezistenți la amfotericina B,

Indicații: tratamentul primar al aspergilozei invazive, tratamentul infecțiilor produse de *Fusarium* spp. la pacienții intoleranți la alți agenți antifungici sau la pacienți cu infecții refractare la alți agenți antifungici.

Ca și ceilalți triazoli, voriconazolul este în general bine tolerat.

Efecte adverse: perturbarea reversibilă a vederii, care apare la aproximativ 30% dintre pacienți, este însă tranzitorie și rareori impune întreruperea tratamentului; erupții cutanate (<10%).

Alți triazoli: Ravuconazol (oral, IV), Posaconazol (oral, IV)-în studiu

E. Echinocandine –o nouă clasă de lipopeptide semisintetice: Caspofungin (IV), Anidulafungin (IV), Micafungin(IV)

Echinocandinele prezintă o farmacocinetică liniară dependentă de doză și se leagă în procent foarte mare (>95%) de proteine.

Indicații clinice: terapia primară a candidozelor invazive, inclusiv candidemia, tratamentul pacienților cu aspergiloză refractară (sau pacienți intoleranți) la alte antifungice; s-a demonstrat că caspofunginul are activitate similară celei a amfotericinei B în tratamentul pacienților cu candidemie; sunt inactice față de *Fusarium* spp. și active față de tulpinile de *Candida* spp. rezistente la fluconazol.

Efecte adverse: creșterea transaminazelor hepatice, disconfort gastrointestinal, migrene.

F. Poliene

Nystatin (gel, suspensie, ovule)

Amfotericina B (IV., topic)

Spectru de acțiune: *Candida* spp.

Indicații: candidoze bucale, gastro-intestinale și vaginale

Efecte adverse: grețuri, diaree

G. Morfoline: Amorolfina (cremă, lac de unghii)

Spectru de acțiune: levuri, dermatofiți, mucegaiuri.

Indicații: micoze cutanate și onicomicoze.

Efecte adverse: iritații tegumentare.

H.Griseofulvina (oral-comprimate)

Spectru de acțiune: doar pe dermatofiți.

Indicații: micoze ale pielii, părului, onicomicoze.

Efecte adverse: cefalee, tulburări gastro-intestinale, ocazional modificări ale formulei sanguine și reacții alergice, erupții cutanate, hepatotoxicitate.

Agenți antifungici în studiu: În prezent, există diferiți agenți antifungici în studiu, cu o toxicitate mai mică, interacțiuni medicamentoase mai puține, proprietăți farmacocinetice mai favorabile și posibil activitate îmbunătățită asupra agenților patogeni refractari.

Au fost descrise **trei mari grupe de fungi:** dermatofiți, levuri și mucegaiuri, agenți ai infecțiilor cutanate superficiale, precum și ai infecțiilor viscerale profunde diseminate. Principalele genuri și specii de fungi cu importanță în patologia umană sunt redate în tabelul nr. 16.

Tabelul 16: Genuri și specii de fungi implicate în patologia umană

Genuri		Specii
DERMATOFIȚI	<i>Epidermophyton</i>	<i>E. floccosum</i> , <i>E. stockdaleae</i>
	<i>Microsporum</i>	<i>M. audouinii</i> var. <i>langeroni</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. cookei</i> , <i>M. equinum</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>M. persicolor</i> , <i>M. praecox</i> , etc.
	<i>Trichophyton</i>	<i>T. equinum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> (var <i>mentagrophytes</i> , var. <i>interdigitale</i> etc), <i>T. rubrum</i> , <i>T. schoenleinii</i> , <i>T. soudanense</i> , <i>T. verrucosum</i> , <i>T. violaceum</i> , etc.
LEVURI	<i>Candida</i>	<i>C. albicans</i> , <i>C. famata</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. guilliermondii</i> , <i>C. kefyr</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitaniae</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> , etc
	<i>Cryptococcus</i>	<i>C. neoformans</i> , <i>C. luteolus</i> , <i>C. terreus</i> , <i>C. gastricus</i> , etc.
	<i>Histoplasma</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>
	<i>Malassezia</i>	<i>Malassezia furfur</i>
MUCEGAIURI	<i>Aspergillus</i>	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , etc.
	<i>Coccidioides</i>	<i>Coccidioides immitis</i>
	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium marneffeii</i>
	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium solani</i>

2. Dermatofiți

Dermatofiții reprezintă un grup de fungi cu capacitate de invazie în profunzimea stratului corneean epidermic și al țesutului keratinizat (păr, unghii). Sunt încadrați în trei genuri anamorfe: *Trichophyton*, *Microsporum* și *Epidermophyton*, fiecare dintre ele fiind alcătuită din mai multe specii.

Semnificație clinică

Infecțiile produse de dermatofiți se împart astfel:

- cele transmise de la om la om - sunt antropofile,
- cele transmise de la animal la om - sunt zoofile iar
- cele transmise de la nivelul solului la om - sunt infecții geofile.

Dermatofițiile piciorului (tinea pedis) sunt caracterizate prin multiple descuamări pruriginoase între degete, în special la nivelul celui de-al treilea și al patrulea spațiu interdigital; adesea descuamările se pot întinde și pe fața plantară a degetelor.

Dermatofițiile mâinii (tinea manum) sunt afecțiuni în care palma și degetele sunt acoperite de scuame, pruritul este nesemnificativ; atingerea poate fi bilaterală.

Onicomicozele sunt dermatofiții unghiale, mai frecvente la nivelul degetelor de la picior, unghiile fiind îngroșate, casate și decolorate.

Dermatofițiile inghino-crurale (intertrigo inghino-crural) se caracterizează prin multiple scuame localizate la nivelul părții superioare a coapsei și în jurul perineului; în general infecția este bilaterală și pruriginoasă.

Toate aceste dermatofiții enumerate mai sus sunt produse de fungi antropofili ca *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* și mai rar de *Epidermophyton floccosum* (epidermofiții).

Dermatofițiile pielii glabre sunt provocate mai frecvent de fungii zoofili (*M. canis*, *T. verrucosum*, *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, *M. persicolor*), antropofili (*T. rubrum*) și mai rar de cei geofili (*M. gypseum*). Leziunile sunt inelare, adesea neregulate, multiple, inflamatorii și foarte pruriginoase. Marginile leziunii sunt nete, iar foliculii piloși sunt proeminenți.

Dermatofițiile pielii păroase a capului sunt produse de fungii zoofili (*M. canis*, *T. verrucosum*), antropofili (*T. tonsulans*) și se caracterizează prin supurații și cruste apărute pe un fond eritematos, severitatea pruritelui fiind variabilă. Favusul (produs de *T. schoenleinii*) este o dermatofiție a pielii păroase a capului, caracterizată prin numeroase cruste. Este o dermatofiție mai frecventă la femei și copii, fiind responsabilă de alopecia cicatriceală.

Alte dermatofiții. Dermatofiția feței sau herpesul cincinat al feței este o afecțiune mai puțin frecventă, uneori dificil de recunoscut caracterizată prin eritem, scuame și durere locală. Sicozisul bărbii este o dermatofiție produsă de fungii zoofili (*T. verrucosum*) și se caracterizează prin multiple pustule și scuame localizate la nivelul bărbii și gâtului. Tinea imbricata este o dermatofiție exotica, produsă de *T. concentricum* și se manifestă prin apariția a numeroase leziuni inelare concentrice, extinse pe toată suprafața pielii.

3. Levuri

3.1 Genul *Candida*

Candidele sunt microorganisme unicelulare cu structură antigenică complexă. Levurile din genul *Candida* sunt paraziți umani și animali, omul fiind principalul rezervor de *Candida albicans*. Aceasta este de altfel principala specie implicată în etiologia micozelor sistemice (65-70%). Cu toate că tulpinile de *Candida albicans* continuă să reprezinte cea mai frecvent izolată specie cauzatoare de infecții la gazda umană, speciile de *Candida* non-*albicans* devin cauze tot mai răspândite ale infecțiilor invazive și tind să dezvolte rezistență la antifungicele standard.

Semnificație clinică

Afecțiunile produse sunt cunoscute sub numele de candidoze (candidomicoze) și se împart în două mari grupe:

- candidoze superficiale:
 - mucoase: buco-faringiene (muguet), anale, genito-urinare;
 - cutanate: onix, perionix, intertrigo, foliculite.
- candidoze sistemice: septicemice sau viscerale, care iau forme variate (infecții urinare, osteoarticulare, renale, pulmonare, oculare, cardiace, peritoneale, etc); acestea pot fi iatrogene, nosocomiale sau endogene.

Factorii care favorizează apariția micozelor sunt:

- vârsta (mai frecvente la nou-născuți și vârstnici);
- patologia asociată, afecțiuni cronice debilitante (cancer, diabet, ciroză, tuberculoză);
- tratamentul medicamentos (antibiotice, imunosupresoare, contraceptive);
- traumatismele, intervențiile chirurgicale.

Uneori, doar simpla colonizare cu levuri trebuie raportată clinicianului, deoarece poate reprezenta ipostaza premergătoare a unei infecții invazive la pacienții cu risc. Diferențierea colonizării de infecție se face pe baza prezenței reacției inflamatorii, manifestă clinic sau observată prin investigații de laborator. În tabelul 17 sunt redate câteva recomandări privind pragul de semnificație clinică al levurilor din diverse prelevate clinice:

Tabel 17: Pragul de semnificație clinică al levurilor din diverse prelevate clinice (Buiuc D., 2008)

Situs	Colonizare	Infecție
Mucoase (oro-faringiană, genitală)	< 50 colonii/tampon (cultură); celule levurice (microscopie)	=50 colonii/tampon + reacție inflamatorie Celule levurice ±filamente+ celule inflamatorii
Sânge, LCR, lichid articular	-	Prezența celulelor levurice (capsulate sau nu), cultură pozitivă
Urină (la pacient fără sondă uretrală)	<10 ⁴ UFC/ml	>10 ⁴ UFC/ml + leucociturie
Fecale	<10 ⁶ UFC/g	>10 ⁶ UFC/g+ semne clinice (enterită) + teren favorizant (sugari, bătrâni)

Sensibilitatea la antifungice: Speciile genului *Candida* sunt sensibile la amfotericină B, nystatin, miconazol, econazol, ketoconazol și rezistente la 5-fluorocitozină.

3.2 Genul *Cryptococcus*

Reprezentantul genului este *Cryptococcus neoformans*, o levură încapsulată, agentul etiologic al criptococozei. Alte specii ale genului *Cryptococcus*, mai puțin importante în patologia umană sunt *C. uniguttulatus*, *C. luteolus*, *C. terreus*, *C. gastricus*, etc.

Semnificație clinică

Cryptococcus neoformans are tropism accentuat pentru SNC, sistemul osos și piele, factorii favorizanți apariției bolii fiind deficitul imun celular (mai ales la cei cu maladie Hodgkin), corticoterapia, SIDA. Criptococoza poate apărea și la cei cu ciroză, grefe de organ precum și la indivizii sănătoși.

Din punct de vedere clinic distingem următoarele forme de criptococoză: cu atingere pulmonară, neuro-meningeală, cutanată, osoasă și forma cu diseminare septicemică.

Sensibilitatea la antifungice: *C. neoformans* este sensibil la amfotericină B, fluconazol, itraconazol. În cazurile grave se asociază amfotericina B cu 5-fluorocitozină.

3.3 Genul *Histoplasma*

Reprezentantul genului este *Histoplasma capsulatum* cu cele două variante: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* și *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*.

Semnificație clinică

Histoplasma capsulatum produce histoplasmoza. Contaminarea pulmonară se produce prin inhalarea sporilor. Foarte rar, în caz de contaminare masivă, mai ales la copii și imunodeprimați asistăm la o atingere poliviscerală cu interesarea tubului digestiv, a endocardului, meningelui sau a suprarenalelor.

Sensibilitatea la antifungice: *Histoplasma capsulatum* este sensibilă la amfotericină B, itraconazol, ketoconazol.

4. Mucegaiuri

4.1 Genul *Aspergillus*

Cauzează un grup de afecțiuni cunoscute sub numele de aspergiloze, mai frecvente la pacienții cu agranulocitoză și la cei aflați sub corticoterapie.

Reprezentanții genului: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor* sunt fungi filamentoși și rezistenți.

Semnificație clinică

Infecția umană este favorizată de existența unor leziuni bronșice sau pulmonare, sau condiționată de deficitul imun provocat de terapie (corticoterapie, iradiere, imunodepresoare, etc). Atâta timp cât prezența sporilor de *Aspergillus* este normală în mediu, cea mai frecventă formă clinică este reprezentată de infecția tractului respirator inferior, urmată de cea a sinusurilor paranasale.

Aspergilomul pulmonar, caracteristic gazdei imunocompromise, este frecvent produs de *Aspergillus fumigatus*, urmat de *A. niger* și *A. flavus*.

Aspergiloza invazivă interesează endocardul, creierul, sistemul osos.

Aspergiloza imuno-alergică se manifestă ca aspergiloză bronhopulmonară alergică, alveolită alergică sau sinuzită alergică.

Sensibilitate la antifungice: *Aspergillus* sp. sunt sensibile la itraconazol, 5-fluorocitozină. Sunt rezistente la amfotericină B.

Recent au fost introduse **teste serologice** comerciale (Platelia *Aspergillus* ELISA, Bio-Rad), utilizând metoda ELISA dublu-sandwich pentru detectare antigenemiei din infecțiile invazive.

4.2 Genul *Coccidioides*

Semnificație clinică

Coccidioides immitis este agentul etiologic al coccidioidozei pulmonare (acută sau cronică) și a formelor cu diseminare hepatosplenică, cutanată, suprarenală. Coccidioidoza poate afecta atât indivizii imunodeprimați cât și pe cei sănătoși.

Sensibilitatea la antifungice: *Coccidioides immitis* este sensibil la amfotericină B, itraconazol, fluconazol.

4.3 Genul *Penicillium*

Semnificație clinică

Specia tip a genului este *Penicillium marneffe* care produce infecții pulmonare subacute sau cronice, precum și infecții diseminante la nivelul ficatului, splinei, măduvei osoase, tegumentelor, în special la pacienții imunodeprimați (mai ales cei cu SIDA).

Sensibilitatea la antifungice. Speciile genului *Penicillium* sunt sensibile la amfotericină B, itraconazol.

4.4 Genul *Fusarium*

Semnificație clinică

Specia tip a genului este *Fusarium solani*, agentul micotic al infecțiilor oculare, al sinusitelor, infecțiilor tegumentare sau sistemice.

Sensibilitatea la antifungice: *Fusarium* sp. sunt sensibile la itraconazol și fluconazol.

III. VIRUSOLOGIE MEDICALĂ

1. Caractere generale ale virusurilor

Definiție

Virusurile reprezintă una dintre cele mai frecvente cauze ale infecțiilor la gazda umană, fiind responsabile de un spectru larg de afecțiuni, de la guturaiul simplu, până la infecțiile fatale produse de virusul HIV cu compromiterea imunității și distrugerea limfocitelor T4 (CD4+).

Virusologia a evoluat rapid de la tehnicile de microscopie electronică utilizate în scopul caracterizării morfologiei virale, la metodele evaluate de cultivare pe culturi celulare și până la tehnici sofisticate de biologie moleculară pentru identificarea virusurilor și măsurarea cantitativă a răspunsului la terapie.

Se estimează că există peste 400 de virusuri distincte care infectează omul, iar spectrul manifestărilor clinice, epidemiologice și patogenice care rezultă în urma infecțiilor virale este foarte vast.

Virusurile sunt unice în cadrul agenților infecțioși. Caracteristicile majore care le diferențiază de celelalte microorganisme sunt:

- dimensiunea redusă (20-300 nm) care le permite să traverseze filtrele bacteriologice păstrându-și infecțiozitatea
- genomul viral posedă un singur tip de acid nucleic, fie ADN (dezoxiribovirusuri), fie ARN (ribovirusuri)
- sunt total dependente de celula vie, fie eucariotă, fie procariotă, pentru replicare și existență
- nu posedă ribozomi sau aparat propriu de sinteză a proteinelor, mitocondrii sau sursă proprie de energie, deci sunt metabolic inerte în afara celulei gazdă
- deși unele virusuri posedă enzime proprii ca, de pildă, ARN- sau ADN-polimeraza, ele nu pot amplifica și reproduce informația în propriul genom în absența celulei gazdă.

Virionul (corpusul elementar sau viral) reprezintă unitatea virală infecțioasă intactă, inertă în afara celulei gazdă.

Virusurile pot parazita celule umane, vegetale, bacteriene, fungice, parazitare și ale insectelor.

Morfologie

Unitatea de măsură a dimensiunii virale o reprezintă nanometrul ($1\text{nm}=10^{-9}\text{m}$).

Virusurile cu importanță clinică au dimensiuni cuprinse între 20-30 nm (picornavirusuri) până la 300 nm (poxvirusuri). Ele sunt vizibile numai prin microscopie electronică. În contrast, bacteriile au aproximativ 1000 nm iar eritrocitele 7500 nm în diametru.

Metodele de măsurare a dimensiunii virionilor sunt:

- ultrafiltrarea care este o filtrare prin membrane de colodiu cu pori de mărime cunoscută,
- observarea la ME în comparație cu particule de referință, de dimensiuni standard (particule de latex),

- ultracentrifugarea, datorită corelației între rata de sedimentare și dimensiunea virionilor.

Prin examinare la ME, virionii prezintă o diversitate de forme: sferică (v. gripale, v. paragripale, adenovirusuri), paralelipipedică (poxvirusuri), de cartuș (v. rabic), de bastonaș (v. mozaicului tutunului, fagii filamentoși), de spermatozoid (bacteriofagii) etc.

Structura

Cunoașterea structurii virusurilor reprezintă o etapă importantă în identificarea acestora.

Structura de bază, obligatorie, a virionului o reprezintă nucleocapsida constituită dintr-un miez (« core ») conținând acidul nucleic = **genomul viral**, protejat (înconjurat) de un înveliș proteic numit **capsidă**.

Virusurile formate numai din nucleocapsidă se numesc **virusuri neînvelite** sau neanvelopate (nude).

Virusurile care prezintă pe lângă nucleocapsidă și un înveliș extern lipoproteic (peplos sau anvelopă), derivat din membrana citoplasmatică a celulei gazdă, se numesc **virusuri învelite** (anvelopate).

a) Genomul viral este constituit dintr-un singur tip de acid nucleic, fie ADN fie ARN (niciodată ambii acizi nucleici!) care conține întreaga informație genetică necesară replicării virusului și care reprezintă suportul infecțiozității virusului.

Molecula acidului nucleic (indiferent dacă este ADN sau ARN) poate fi simplu spiralată (ss) sau dublu spiralată (ds), liniară sau circulară, continuă sau segmentată.

Acidul nucleic al tuturor virusurilor ADN, cu excepția parvovirusurilor, este «**ds**» (hepadnavirusurile au ADN parțial « ds » când nu sunt în timpul replicării).

Acidul nucleic al tuturor virusurilor ARN, cu excepția reovirusurilor, este «**ss**».

În cazul virusurilor ARNss, genomul conține acid nucleic care poate fi cu polaritate pozitivă (+), caz în care poate acționa direct ca ARNm (mesager) în interiorul celulei infectate, sau poate fi cu polaritate (-), caz în care trebuie transcris de o enzimă asociată virusului, ARN-transcriptaza, într-un ARN cu polaritate (+) = “imaginea în oglindă”.

Mărimea genomului viral se corelează cu mărimea capsidului sau anvelopei. Astfel:

- virusurile mari au un genom de dimensiuni mari care conține câteva sute de gene și codifică un număr relativ mare de proteine (poxvirusurile, herpesvirusurile, etc)
- virusurile mici au un genom de dimensiuni reduse care conține doar 3 sau 4 gene și codifică un număr mic de proteine.

b) Capsida virală este un înveliș format din numeroase unități proteice numite capsomere.

Aceste capsomere sunt, de obicei, proteine de dimensiuni mici care se autoasamblează în structuri capsomerică mari iar în final se asamblează sub forma capsidului viral.

Capsomerele individuale pot fi puse în evidență prin microscopie electronică. Fiecare capsomer trebuie să aibă o anumită structură chimică ce îi permite să se asambleze cu capsomere asemănătoare pentru a forma o structură complexă cum este capsida.

Cea mai simplă structură care poate fi construită în această manieră este simetrică și include 2 tipuri de simetrie a capsidelor:

- helicoidală (helicală) - aspect tubular
- icosaedrică - aspect sferic.

Tipurile nesimetrice de capsidă sunt reprezentate de:

- capsidă cu simetrie binară (icosaedrică-helicală)
- virusurile cu organizare complexă

1. Capsidele cu simetrie icosaedrică au 20 de fețe triunghiulare, 30 de muchii și 12 vârfuri, de unde aspectul aparent de “sferă”.

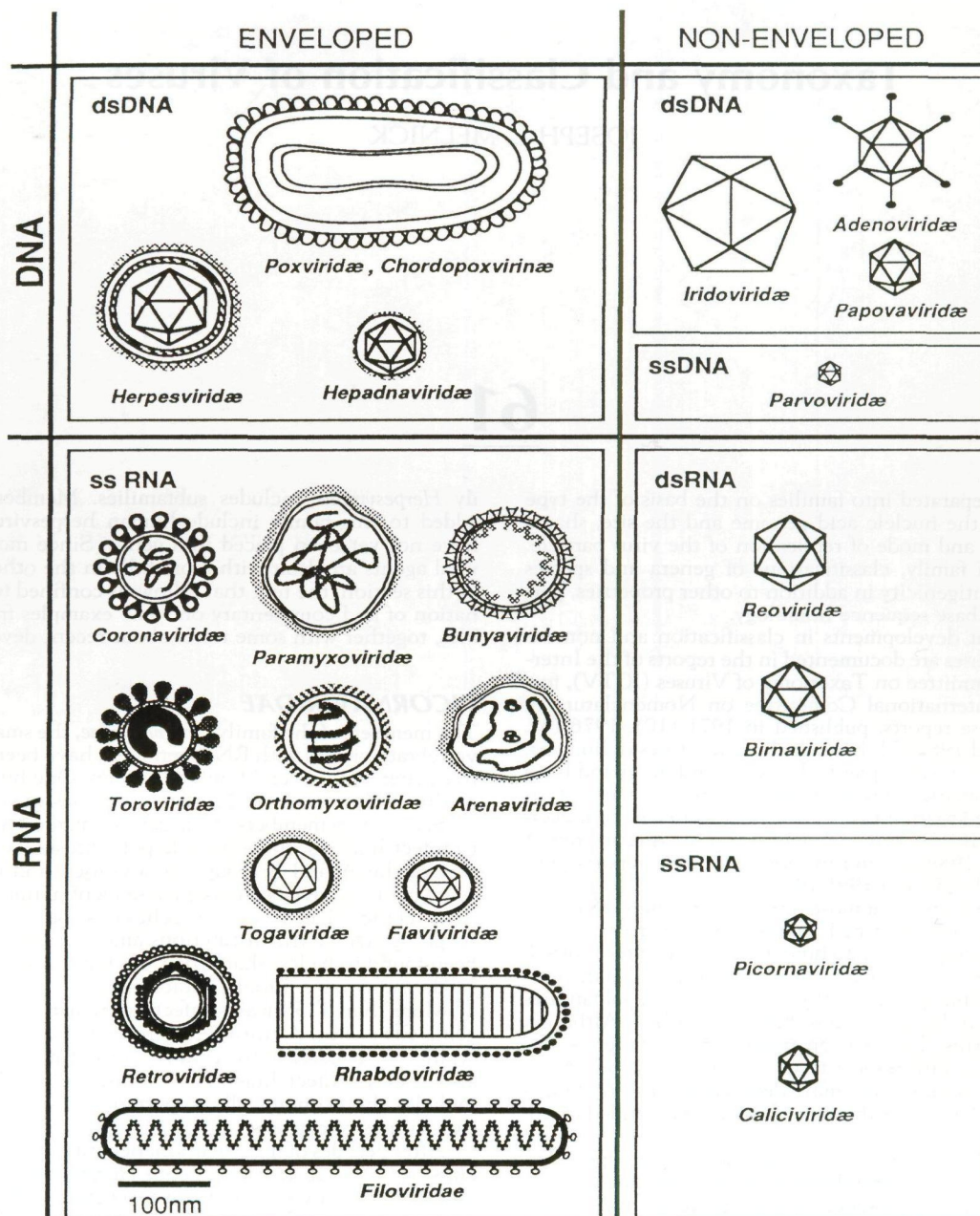


Fig.24: Morfologia principalelor familii de virusuri (după Muray P, 2005)

Fiecare din capsomerele situate în cele 12 vârfuri se învecinează cu câte 5 capsomere și se numesc **pentone**. Celelalte capsomere situate pe cele 20 de fețe sau pe cele 30 de muchii se învecinează fiecare cu câte 6 capsomere și se numesc **hexone**.

Mărimea capsidei icosaedrice este dată de numărul hexonelor inserate de-a lungul muchiilor și fețelor dintre pentone.

Exemple:

- virusuri ARN: capsida parvovirusurilor, herpesvirusurilor, adenovirusurilor
- virusuri ADN: capsida calicivirusurilor, reovirusurilor (care prezintă o capsidă dublă, formată din 2 structuri icosaedrice).

2. Capsidele cu simetrie helicoidală - capsomerele se aranjează în jurul spiralei de acid nucleic, formând o suprafață cilindrică flexibilă sau rigidă.

Majoritatea virusurilor cu simetrie helicoidală posedă o anvelopă externă, aspectul extern al virionului fiind de:

- sferă (v. gripale, v. paragripale)
- cartuș sau glonț (v. rabic)
- filament (v. Marburg).

Anvelopa lipoproteică externă derivă din membrana celulei gazdă în timpul etapei de înmugurire a ciclului de replicare virală (vezi mai jos: Replicarea virală).

3. Capsidele cu simetrie binară (icosaedrică-helicoidală) sunt prezente la bacteriofagii cu coadă contractilă (virusurile bacteriilor) la care capul cuprinde nucleocapsida cu simetrie icosaedrică iar coada are simetrie helicală.

4. Virusuri cu organizare complexă. Arhitectura complexă este specifică virusurilor cu genom mare (poxvirusuri).

Virionul conține "nucleoidul" format din ADN înconjurat de o membrană internă omogenă și flancat de două mase ovoide numite "corpi laterali". Nucleoidul împreună cu corpii laterali sunt înconjurați de o membrană externă formată din tubuli dispuși aleator.

Funcțiile capsidei:

1. asigură forma caracteristică virionului
2. protejează acidul nucleic viral
3. la virusurile neînvelite, fixează virionul de receptorii specifici de pe celula gazdă.

Peplousul sau anvelopa reprezintă o membrană cu structură similară membranei citoplasmice a celulei gazdă. Această membrană conține lipide, proteine și lipoproteine.

Pe suprafața acestei membrane se găsesc formațiuni specifice virale, codificate de virus:

1. spiculi ("peplomere") de natură glicoproteică. Au funcția de adsorbție și penetrare în celula gazdă.

Exemple:

- hemaglutinina (HA) = rol în atașarea virusurilor la celula gazdă; conferă virusurilor proprietatea de a aglutina hematiile diverselor specii animale
- neuraminidaza (N) = facilitează pătrunderea virusurilor în celulă

2. factori de fuziune. Se găsesc sub formă inactivă (F0) iar sub acțiunea proteazelor celulei gazdă se scindează generând forme active (F1, F2). Au funcția de inițiere a infecției.

3. proteina M (matrix) captează fața internă a anvelopei (frecvent la virusurile ARN cu polaritate negativă).

La unele virusuri, facilitează asamblarea, iar la altele, asigură menținerea formei (exemplu: rhabdovirusuri)

Funcțiile învelișului sunt:

a) de atașare - asigură atașarea virusurilor anvelopate (învelite) la celula gazdă

b) de protecție - rolul protector al învelișului viral este anihilat de tratamentul cu solvenți lipidici (eter, cloroform, săruri biliare), rezultând inactivarea particulei virale. Pe baza acestui fenomen, virusurile sunt clasificate în:

- eter-sensibile = virusurile învelite
- eter-rezistente = virusurile neînvelite

Proteine funcționale - enzime

Numărul de gene care compun genomul viral este redus, de aceea sinteza proteinelor enzime codificate de virus este limitată. Sinteza lor este importantă pentru replicarea genomului viral.

Exemple:

1. replicaze sau transcriptaze virale = ARN-polimeraze ARN-dependente prezente la virusurile ARN cu polaritate negativă (-).
2. reverstrascriptaza (ADN-polimeraza ADN-dependantă) sau integraza, prezentă la retrovirusuri.

Taxonomie. Clasificarea virusurilor

Taxonomia virală actuală desparte ribovirusurile (genom ARN) de dezoxiribovirusuri (genom ADN). În cadrul acestor două categorii, virusurile se grupează (de la simplu la complex) în tulpini, specii, genuri, subfamilii și familii, după criteriul înrudirii secvenței nucleotidelor din genom.

Familia este desemnată cu sufixul *-VIRIDAE*. Apartenența la o familie presupune o origine comună și caractere comune care nu se întâlnesc la alte grupuri de virusuri.

Subfamilia este desemnată prin sufixul *-VIRINAE*.

Genul este desemnat prin sufixul *-VIRUS* și este constituit din specii care au în comun caracterele familiei dar au și particularități care le diferențiază de alte grupuri de virusuri ce aparțin aceleiași familii.

Specia se exprimă fără sufix, denumirii de "virus" adăugându-i-se numele întreg. Este definită ca grup de tulpini virale care se deosebesc între ele prin prezența unor gene ce codifică aceste deosebiri dar au asemănări genomice și antigenice.

Criterii taxonomice

1. Proprietățile virionului: dimensiuni, formă, prezența peplousului
2. Proprietățile genomului: tipul de acid nucleic (ADN sau ARN), numărul de spire (simplu sau dublu spiralat = s.s / d.s), liniar sau circular (L / C), sensul de transcriere sau polaritatea (pozitivă, negativă sau ambele = ambisens), dimensiunea genomului.
3. Replicarea virală: strategia replicării, transcripție, translație, modificări posttranslaționale, asamblarea și eliberarea virionilor proeni.
4. Proprietățile proteinelor virale: număr, secvența de aminoacizi, greutate moleculară, funcție (transcriptaze, reverstrascriptaze, hemaglutinine, neuraminidaze)
5. Proprietăți fizico-chimice: stabilitate termică, rezistența la pH, radiații, detergenți, solvenți.
6. Proprietăți biologice: spectrul gazdelor naturale (bacterii, plante, animale vertebrate sau nevertebrate) și experimentale, tropism celular, transmisie prin vector, aspecte serologice.

Replicarea (multiplicarea) virală

Virusurile prezintă un înalt grad de parazitism intracelular și sunt inerte metabolic până când infectează o celulă susceptibilă. În celula gazdă, virusurile se replică redirecționând mecanismele biochimice ale celulei spre formarea de componente pentru noi particule virale.

Virusurile mari au, de obicei, acid nucleic cu greutate moleculară mare și care are capacitatea de a codifica un număr mare de proteine; de aceea, aceste virusuri codifică un număr mare de enzime implicate în replicarea lor.

Virusurile mici au un acid nucleic cu greutate moleculară scăzută și un potențial de codificare limitat, de aceea codifică doar unele din proteinele lor structurale și utilizează cel puțin câteva enzime ale celulei gazdă, pentru propria replicare.

Replicarea virusurilor parcurge următoarele secvențe:

1. recunoașterea celulei gazdă
2. adsorbția (atașarea) virusului de celula gazdă
3. penetrarea (pătrunderea) virusului în celula gazdă
4. decapsidarea virusului
5. sinteza macromoleculară
 - a) biosinteza ARNm precoce și a proteinelor precoce = proteine-enzime
 - b) replicarea genomului viral
 - c) biosinteza ARNm tardiv și a proteinelor tardive = proteine structurale
6. eliberarea virionilor progeneri din celula gazdă

1. Recunoașterea celulei gazdă

Pentru a infecta o celulă, virusul trebuie, în primul rând, să recunoască celula care îi permite replicarea. Acest proces este realizat datorită existenței unor situsuri receptor-specifice (de natură proteică) situate pe suprafața externă a particulei virale. Aceste situsuri reacționează specific cu receptori corespunzători (de natură glicoproteică sau glicolipidică) de pe suprafața celulelor "țintă". Astfel, prin această interacțiune precisă de tip "cheie-broască" se explică faptul că anumite virusuri prezintă tropism pentru anumite gazde și pentru anumite țesuturi ale gazdei respective.

2. Atașarea virusului de celula gazdă

Atașarea virusurilor este specifică și implică legarea situsurilor receptor-specifice de receptorii specifici aflați pe membrana citoplasmatică a celulei gazdă.

- a) Structurile de atașare ale virusului pot fi: capsomerele capsidului, glicoproteinele;
- b) Receptorii specifici de pe membrana citoplasmatică a celulei gazdă sunt constituenți normali ai acesteia.

Multiplele interacțiuni dintre proteinele virale de atașare și receptorii celulei gazdă, atașează ferm virusul de celula gazdă. Aceste interacțiuni pot reprezenta mecanismul "trigger" (declanșator) în urma căruia este eliberată nucleocapsida în celula gazdă.

3. Penetrarea sau pătrunderea virusului în celula gazdă (internalizarea)

După atașarea la celula gazdă, virusul trebuie să penetreze membrana celulară externă și să elibereze genomul viral în mediul intracelular, pentru replicare. Penetrarea se poate realiza prin 3 mecanisme, în funcție de structura virusului:

- **fuziunea** învelișului viral cu membrana celulară externă și eliberarea ulterioară a acidului nucleic viral (întâlnit la paramyxovirusuri de tipul v. rujeolic) ,
- **viropexia (pinocitoza)** - internalizarea întregului virion și fuziunea ulterioară cu o membrană internă vacuolară, pentru eliberarea acidului nucleic viral
- **penetrarea directă** - virusurile lipsite de membrană lipidică par să treacă direct prin membrana citoplasmatică externă.

4. Decapsidarea și migrarea acidului nucleic la locul replicării.

Decapsidarea constă în îndepărtarea sau distrugerea capsidei virale astfel încât genomul viral să devină accesibil mecanismelor de transcripție și translație.

5. Sinteza macromoleculară. Biosinteza componentelor virali

Convențional, se consideră că ARNm (specia de ARN care funcțional se fixează pe ribozomi pentru a i se traduce mesajul genetic) are o polaritate pozitivă "+". Transcripția cu formarea ARNm pentru sinteza proteinelor precoce diferă în funcție de acidul nucleic viral.

Acizii nucleici dublu catenari (dc) au două catene: una pozitivă (+) și una negativă (-), deci polaritatea va fi notată (\pm). Pentru formarea de ARNm (+), genomul acestor virusuri, ADN sau ARN, este transcris asimetric, adică va fi transcrisă o singură catenă, cea cu polaritate (+).

Acizii nucleici monocatenari (mc) au catena fie cu polaritate (+), identică cu cea a ARNm, fie cu polaritate (-), complementară cu cea a ARNm.

5.1. Transcripția genomului viral în ARN mesager (ARNm) și replicarea genomului viral

A. Virusuri ARN

Virusurile ARN pot urma 3 tipuri de transcripție, în funcție de sensul mesajului înscris în genomul lor.

- virusuri **ARN cu polaritate pozitivă**: când ARN-ul viral este ARNm și poate fi translat în proteine virale precoce și tardive. Replicarea genomului parental se produce prin sinteza unei forme intermediare dublu catenare din care, sub acțiunea ARN-polimerazei (proteină virală precoce), sunt sintetizate multe copii ale genomului parental.

- virusuri **ARN cu polaritate negativă**: inițial sunt produse copii cu polaritate pozitivă ale genomului parental (sub acțiunea ARN-polimerazei virale). Aceste copii constituie ARNm și ele sunt apoi translate în proteine virale. ARN polimerazele virale transcriu ARN-ul parental, cu polaritate negativă, într-o copie completă sub forma unui intermediar dublu catenar, din care se vor sintetiza noi molecule de ARN cu polaritate negativă care vor fi încorporate în noii virioni.

- **retrovirusurile**: ARN-ul viral parental este transcris sub acțiunea unei revers-transcriptaze virale (ADN polimerază-ARN dependentă) într-un ADN monocatenar care formează un hibrid ADN-ARN. Lanțul ARN al acestui hibrid este distrus și este înlocuit de o copie ADN, rezultând astfel o moleculă de ADN dublu catenar. Acest ADN_{dc} (numit ADN proviral) este integrat în ADN-ul celulei gazdă. Din ADN-ul proviral sunt transcrise moleculele de ARNm care sunt apoi translate în proteine virale. Din ADN-ul proviral sunt transcrise și copii complete de ARN viral care vor fi încorporate în noii virioni.

B. Virusuri ADN

Virusurile ADN trebuie, de asemenea, să producă un transcript ARNm, de obicei sub acțiunea unei enzime a celulei gazdă (ARN-polimeraza ADN-dependentă). Moleculele de ARNm viral sunt translate în proteine precoce și tardive. ADN-ul parental dublu catenar este de obicei replicat de o ADN-polimerază ADN-dependentă codificată de virus.

5.2. Sinteza proteinelor virale

Biosinteza proteinelor nestructurale precoce precede replicarea acidului nucleic viral. Aceste proteine inhibă sinteza proteinelor celulei gazdă și sunt implicate în replicarea acidului nucleic viral. Acestea sunt componente cu funcții importante (de obicei, enzimatic), dar care nu fac parte din virion.

Biosinteza proteinelor structurale tardive începe imediat după replicarea genomului viral. Biosinteza se realizează prin translația ARNm format în etapa anterioară, în proteine specifice particulei virale (proteine capsidale, peplomere). Acestea sunt proteine constitutive ale particulei virale. După ce au fost sintetizate, proteinele virale structurale migrează la nivelul membranei citoplasmice sau se acumulează în citoplasma sau în nucleul celulei gazdă. În toate cele 3 situații, ele suferă transformări biochimice sub acțiunea enzimelor celulei gazdă.

Moleculele de ARNm viral sunt translate pe poliribozomii celulei gazdă pentru sinteza proteinelor virale structurale și nestructurale. Enzime ale celulei gazdă sunt responsabile de citirea mesajului genetic al virusului.

6. Eliberarea virusului din celula gazdă.

În urma proceselor descrise mai sus, se realizează maturarea și se pun premisele eliberării noii particule virale din celula gazdă, prin două mecanisme: prin înmugurire și prin liză celulară.

În cazul virusurilor eliberate prin înmugurire, o parte din proteinele virale sunt transportate la nivelul membranei celulare externe a celulei gazdă, iar alte proteine structurale virale se cantonează la nivelul membranei celulare interne. Proteinele și acidul nucleic se asamblează și proemină prin membrana celulară. Această proeminență ("mugure") este apoi desprinsă și virionul este eliberat. Adesea, în cazul virusurilor eliberate prin înmugurire, procesul descris mai sus se repetă succesiv, astfel încât o celulă gazdă eliberează valuri succesive de noi particule virale.

Eliberarea prin liză celulară presupune asamblarea completă a virionului în citoplasma celulei gazdă și eliberarea sa prin lizarea și moartea celulei respective.

Variabilitate genetică

Variabilitatea genetică a virusurilor este un fenomen ce poate surveni în cursul replicării virale și este mult mai des întâlnit la virusurile ARN decât la cele ADN. De fapt, toate virusurile ARN se pare că ar exista sub formă de amestecuri de multiple variante genetice. Aceste amestecuri au un caracter dinamic la nivelul organismului gazdă, astfel încât la un moment dat una dintre variantele virale poate fi dominantă față de celelalte, urmând ca sub acțiunea unor factori endogeni (de exemplu sub presiunea exercitată de sistemul imun al gazdei) sau exogeni (de exemplu în urma unor tratamente antivirale, imunomodulatoare, etc.) să se selecteze alte variante genomice virale care să devină dominante numeric în populația virală care infectează respectiva gazdă.

Principalele procese ce reflectă variabilitatea genetică sunt: mutația, complementarea și recombinarea.

A. Mutația

Mutația constă în modificarea stabilă a uneia sau mai multor gene având drept rezultat absența sintezei unor proteine virale sau sinteza unor proteine virale modificate. Caracterul de stabilitate al acestor modificări presupune transmiterea acestora la descendenți (mutanți). Varianta genomică virală inițială, neafectată de mutație, este desemnată ca variantă "sălbatică" (virus « sălbatic »).

În funcție de mecanismul de producere, deosebim mutații prin:

- Substituție - înlocuirea unei baze azotate cu o alta
- Inserție - intercalarea unei secvențe nucleotidice suplimentare
- Deleție - pierderea uneia sau mai multor secvențe nucleotidice
- Inversie - schimbarea sensului unei secvențe nucleotidice

În funcție de modul în care survin:

- Mutații spontane - determinate de erori neremediate survenite în replicarea virală.
- Mutații induse - cauzate de agenți mutageni fizici (temperatură, radiații), chimici (analogi ai bazelor azotate, etc)

În funcție de dimensiuni:

- Mutații punctiforme - interesează o singură pereche de baze
- Mutații multisitus - interesează mai multe secvențe de baze.

B. Complementarea

Complementarea este procesul prin care două virusuri cu genom incomplet au capacitatea de a-și completa reciproc produsele genice defective.

C. Recombinarea

Recombinarea este procesul prin care două virusuri au capacitatea de a face schimb de segmente genomice.

Relația virus-organism gazdă.

Interacțiunile între virus și celula gazdă sunt de o deosebită importanță, în sensul că ele pot influența 3 aspecte esențiale:

- producerea infecției
- tipul de infecție
- efectul final (deznodământul) asupra gazdei.

A. Factorul viral - patogenitate, virulență

Termenul de patogenitate se referă la gradul de severitate al bolii cauzate de un microorganism în comparație cu cele cauzate de alte microorganisme (de exemplu, patogenitatea virusului rabic este mai mare decât cea a virusului rujeolic).

Termenul de virulență se referă la gradul de severitate al bolii cauzate de o tulpină în comparație cu alte tulpini ale aceluiași microorganism. Adesea virulența sau absența acesteia la un microorganism pot fi dependente de porțiuni extrem de reduse ale genomului. Altfel spus, o atenuare a virulenței se poate obține în unele cazuri printr-o mutație punctiformă. Aceste aspecte sunt de mare importanță pentru prepararea vaccinurilor specifice precum și din punct de vedere epidemiologic și terapeutic.

Un alt factor viral important îl constituie doza infectantă care uneori joacă un rol important, în sensul că o concentrație ridicată de virus poate determina o îmbolnăvire chiar atunci când virulența nu este ridicată.

Efectul citopatic

Multe virusuri distrug celula în care se replică generând uneori aspecte caracteristice atât *in vivo* cât și *in vitro*, desemnate ca **efect citopatic**.

Liza celulară. În unele cazuri, sub influența proteinelor virale precece (enzime) sinteza unor componente celulare poate fi afectată (oprită sau modificată). De asemenea, în cursul replicării active a unor virusuri, se pot produce acumulări intracelulare de proteine capsidale

care pot determina o inhibiție a biosintezei proteice virale și celulare. În consecință se produce moartea celulară urmată de liză cu eliberarea unui număr mare de virioni.

Fuziunea celulară. Proteinele de fuziune implicate în pătrunderea unor virusuri în celulă pot cauza și formarea de celule gigante multinucleate (sincitii). În aceste cazuri, virionii trec de la o celulă la alta fără a necesita liza celulară.

Corpuri de incluziune. Incluziunile pot fi localizate intranuclear și/sau intracitoplasmatic. Natura lor este diferită în funcție de agentul infectant:

- agregate de virioni maturi
- modificări degenerative, etc.

Modificarea antigenelor suprafeței celulare. Inducerea sintezei unor antigene celulare modificate este valabilă mai ales în cazul virusurilor eliberate prin înmugurire. La suprafața celulei infectate apar astfel antigene codificate de genomul viral care funcționează ca veritabili markeri și expun celulele respective atacului sistemului imun al gazdei.

B. Factori legați de gazdă

Celulele pot fi infectate cu condiția existenței receptorilor specifici membranari (vezi "Internalizarea").

În cazul pătrunderii virusului în celula "țintă", el trebuie să se replice activ pentru a produce infecția, fapt ce nu se poate realiza decât cu condiția ca mediul celular intern să fie propice inițierii primului ciclu replicativ. Elementele implicate la acest nivel nu sunt încă pe deplin elucidate dar se pare că temperatura și activitățile biochimice celulare sunt de importanță majoră. În condiții suboptimale, replicarea virală poate fi totuși inițiată rezultând însă particule virale incomplete cu capacitate scăzută de a infecta alte celule.

Alți factori legați de organismul gazdă sunt:

- Vârsta - poate influența atât susceptibilitatea la anumite infecții cât și evoluția acestora
- Statusul imun
- Anumite stări fiziologice particulare (ex. sarcina)
- Sexul
- Starea de nutriție
- Afecțiuni asociate

Cu alte cuvinte, pătrunderea virusului în organism nu presupune întotdeauna infecție, iar infecția virală nu presupune întotdeauna boală.

Căi de pătrundere a virusurilor în organism

Principalele căi de intrare a virusurilor în organism sunt:

A. Tractul respirator . Infecțiile virale cu poartă de intrare respiratorie sunt foarte frecvente și, în general, contagiozitatea acestora este extrem de ridicată datorită capacității de diseminare a particulelor virale infectante de la o gazdă la alta, pe cale aeriană. Aceste aspecte sunt favorizate de aglomerările umane și de anotimpurile reci.

B. Tractul gastro-intestinal. Virusurile cu această poartă de intrare sunt desemnate și ca virusuri cu transmitere fecal-orală, infecțiile respective fiind, de regulă, asociate cu condiții de igienă defectuoasă.

C. Tractul genito-urinar este calea de intrare a agenților cu transmitere sexuală.

D. Calea cutaneo-mucoasă. În general, tegumentul constituie o barieră eficientă în calea infecțiilor bacteriene și a unor infecții virale. Totuși, unele virusuri sunt capabile să traverseze acest obstacol producând fie infecții mai mult sau mai puțin localizate la acest nivel (v. papilloma, v. herpes simplex) fie infecții generalizate.

Poarta de intrare nu poate fi întotdeauna identificată cu localizarea și manifestările infecțiilor respective (ex. virusul hepatitei B, HIV).

Tipuri de infecții virale

În funcție de extindere deosebim:

A. Infecții localizate

B. Infecții generalizate

Această clasificare este desigur rigidă, motiv pentru care este necesară mențiunea că în multe cazuri infecția virală interesează cu precădere un anumit organ sau țesut (pentru care virusul respectiv posedă o afinitate crescută = tropism) afectând însă în paralel și alte organe și țesuturi ale aceluiași organism.

A. Infecții localizate.

În general este vorba de infecții ale suprafețelor epiteliale: tegument (poxvirusuri, papillomavirusuri), conjunctivă, membrane mucoase ale tractului respirator, gastrointestinal și genital. Deși replicarea virală este adesea restrânsă la aceste localizări, efectele pot fi de tip general (v. paragripale).

B. Infecții generalizate

Deși mecanismele patogenetice ale unor infecții virale generalizate nu sunt pe deplin elucidate, desfășurarea lor parcurge, de obicei următoarele etape:

- Pătrunderea virionilor în organism - se produce, de obicei printr-o suprafață epitelială; la acest nivel are loc o replicare virală limitată
- Migrarea virionilor către ganglionii limfatici regionali - la acest nivel, o parte dintre virioni sunt neutralizați de macrofage
- Pătrunderea virionilor restanți în sânge - se realizează astfel viremia primară care poate determina simptome clinice (febră, stare generală alterată)
- Pe cale sanguină virionii ajung la ficat, splină, măduva osoasă - la aceste nivele se reia replicarea virală, rezultând un mare număr de virioni care eliberați în sânge vor determina viremia secundară
- Pe cale sanguină virionii ajung la "organul țintă" (cel pentru care virusul prezintă tropism) - la acest nivel se vor produce principalele simptome ale bolii.

În alte cazuri, infecțiile generalizate se produc urmând o cale mai directă și mai rapidă până la organul țintă (de exemplu în cazul injectării directe în torentul sanguin).

În funcție de evoluție deosebim:

A. Infecții acute nepersistente (autolimitante)

B. Infecții persistente (latente)

C. Infecții insidioase cu evoluție letală

Categoriile B și C sunt infecții cronice.

Termenul de infecție cronică desemnează situația în care virusul este prezent continuu în organism (cu eventuale variații ale activității replicative), cu sau fără integrarea ADN-ului viral în genomul celulei gazdă.

A. Infecții acute nepersistente (autolimitante)

Multe dintre infecțiile virale acute din aceasta categorie evoluează spre vindecare și eliminarea virusului din organism (ex. hepatita A). Cu excepția cazurilor de interesare a sistemului nervos (ex. poliomielita), sechelele sunt rare. În unele situații, pot apărea complicații severe sau chiar decese. Patogeneza unora dintre aceste complicații nu este pe deplin elucidată dar reacțiile de tip autoimun ar putea juca un rol important.

B. Infecții persistente (latente)

În unele cazuri, virusul poate persista în organism datorită persistenței ADN-ului viral (virusuri ADN, retrovirusuri care formează ADN complementar în cursul replicării). ADN-ul viral poate fi integrat în genomul celulei gazdă sau poate fi prezent sub formă episomală (moleculă separată de ADN-ul gazdei). Evoluția ulterioară a acestui tip de infecție depinde în mare măsură de răspunsul imun al gazdei. Acest tip de infecții virale cronice pot avea următoarele posibilități evolutive:

- pot fi asimptomatice,
- pot să se reactiveze periodic generând episoade cu manifestări clinice de boală,
- virusul poate să nu fie decelabil în perioadele asimptomatice, fiind însă decelabil în cursul episoadelor de reactivare,
- unele dintre aceste infecții pot genera afecțiuni maligne.

C. Infecții insidioase cu evoluție letală

Acest tip de evoluție caracterizează agenți desemnați ca "slow" virusuri. În aceste cazuri este implicat mecanismul de "toleranță imună" care reprezintă incapacitatea sistemului imun de a recunoaște celulele infectate de virus ca fiind "non-self". Anticorpii care sunt produși în cantitate redusă sunt încorporați în complexe antigen-anticorp. Aceste complexe imune formează depozite renale care stau la baza evoluției letale tardive a acestor infecții.

Răspunsul imun în infecții virale

Răspunsul imun face parte dintre mecanismele de apărare a organismului față de agenții infectanți.

Tabel 18: Mecanisme de apărare antivirală

Tip de apărare	Mecanism	Exemple
Apărare nespecifică	Barieră fizică Bariere chimice Factori umorali Factori celulari	- tegument, mucoase; - acizi grași, pH acid, mucus - complement, lizozim, interferoni, proteine de fază acută (proteina C reactivă, β_2 -microglobulina) - flora asociată, celule NK
Apărare specifică (Răspuns imun)	Anticorpi Citotoxicitate mediată celular Activarea macrofagelor	

Răspunsul imun apare ca urmare a stimulării celulelor imunocompetente la contactul cu agenți străini de organism și care sunt recunoscuți ca atare ("non-self"). Agenții "non-self" sunt antigene și prezența lor în organism declanșează în mod normal un răspuns specific din partea celulelor imunocompetente.

Celulele imunocompetente sunt:

- limfocitele T (T-helper, T-suppressor, T-citotoxice) - implicate în răspunsul imun de tip celular
- limfocitele B (responsabile de sinteza anticorpilor) - implicate în răspunsul imun de tip umoral.

Aceste celule, pe lângă abilitatea de a face distincția între componentele proprii organismului (structuri "self") și antigene ("non-self"), posedă așa-numita **memorie imunologică**. Conform

acesteia, la un al doilea contact cu un antigen întâlnit anterior, se declanșează un răspuns imun eficient. Acest mecanism stă, de altfel, la baza imunizărilor specifice prin vaccinare.

A. Limfocitele B - Imunitatea specifică umorală

Limfocitele B sunt implicate în sinteza și secreția de anticorpi (imunoglobuline) care reacționează la contactul cu antigenele specifice. Acest contact este favorizat de prezența unor celule dendritice cantonate în ganglionii limfatici și în splină (APC - "antigen-presenting cells") care alături de macrofage și monocite realizează o prelucrare a antigenului. În urma "întâlnirii" limfocitele B proliferază generând o clonă de celule cu aceeași specificitate antigenică.

La acest proces participă și limfokinele secretate de limfocitele T-helper. Acestea sunt stimulate tot de antigenul "prelucrat", pe baza existenței antigenelor de histocompatibilitate clasa II situate pe suprafața APC.

Tipurile și structura imunoglobulinelor sunt cele cunoscute. O imunoglobulină specifică poate acționa în mai multe moduri la contactul cu un virus: neutralizarea, citotoxicitatea celulară anticorpo-dependentă, opsonizarea, activarea macrofagelo (a se vedea imunitatea antibacteriană dobandită).

B. Limfocitele T - imunitatea specifică mediată celular

Maturarea limfocitelor T se produce la nivelul timusului unde ele dobândesc receptorii cu specificitate de antigen. Principalele clase de limfocite T sunt cele cunoscute de la capitolul de imunitate antibacteriană dobandită.

Interferonii

Interferonii (IFN) sunt un grup de substanțe de natură glicoproteică ce prezintă proprietăți antivirale, antitumorale și imunomodulatoare.

Activitatea antivirală a acestui grup de substanțe se bazează pe inhibarea multiplicării virale prin blocarea translației ARNm viral și/sau prin degradarea preferențială a acestuia.

La om există 5 tipuri de IFN: alfa, beta, gamma, tau și omega.

Sinteza de IFN *in vivo* este stimulată, în principal, de virusuri, alături de substanțe polinucleotidice, antigene, etc. Producția de IFN-alfa și IFN-beta are loc în majoritatea celulelor organismului, în timp ce sinteza IFN-gamma a fost evidențiată, până în prezent doar în anumite tipuri de celule (limfocitele T CD8+, celulele NK).

Mecanismul de acțiune antivirală al IFN (alfa, beta, gamma) este similar și este legat de prezența unor receptori IFN-specifici situați la nivelul majorității membranelor celulare.

Efectul antiviral este dat prin intermediul sintezei proteice induse de formarea complexului receptor-IFN care migrează intracitoplasmatic (se internalizează). De altfel, majoritatea efectelor IFN, prin intermediul proteinelor și enzimelor a căror sinteză o induc, sunt efecte de tip antiproliferativ viral și celular. La acestea se adaugă și efectele antineoplazice realizate prin represarea unor oncogene.

Acțiunea antivirală a enzimelor IFN-induse se produce prin mecanisme variate:

- interferarea (blocarea) replicării virale prin clivarea ARNdc (dublu catenar),
- blocarea translației și, deci, implicit blocarea sintezei proteinelor virale,
- liza celulei gazdă cu blocarea posibilității de infectare a altor celule,
- scăderea rezervelor de triptofan celular cu inhibarea creșterii celulare,
- inhibarea revers-transcriptazei (acest efect a fost evidențiat în cazul IFN-tau care are capacitatea de a inhiba revers-transcriptaza HIV).

Aplicațiile IFN în terapia antivirală s-au extins începând cu anii '80. Rezultate bune s-au obținut în infecții cronice cu HTLV, papillomavirusuri, virusuri hepatitice etc.

Chimioterapia antivirală

Proprietatea majoră a virusurilor este de a se multiplica în celula vie, astfel încât, în aplicarea chimioterapiei antivirale trebuie avute în vedere două aspecte esențiale:

- acțiunea selectivă asupra virusului situat intracelular
- absența toxicității pentru celula gazdă.

Chimioterapicele antivirale utilizate în prezent acționează la unul sau mai multe nivele ale multiplicării virale:

1. inhibă inițierea infecției (prin prevenirea atașării la receptorul celulei gazdă) și decapsidarea
2. inhibă sinteza acizilor nucleici (ADN sau ARN), interferând biosinteza componentelor virale
3. inhibă ARNm, afectând sinteza proteinelor structurale și asamblarea corectă a virionului progen
4. inhibă polimerazele virale
5. inhibă reverstranscriptaza
6. inhibă proteaza
7. inhibă neuraminidaza

1. *Inhibitori ai sintezei acizilor nucleici (analogi nucleozidici)*

- ADENIN-ARABINOZID (VIDARABINA sau “ARA-A”) este un analog al adenozinei. Se administrează intravenos sau ca unguent.

Indicații: (acționează asupra herpesvirusurilor și poxvirusurilor)

- encefalita herpetică (scade mortalitatea)
- keratita herpetică
- indivizi cu imunodepresie la care atenuază formele severe de varicelă și herpes-zoster

Reacții adverse:

- grețuri, vărsături, tranzit digestiv accelerat
- tulburări nervoase (parestezii, convulsii)
- rar: trombocitopenie sau leucopenie.

Se evită administrarea în insuficiența renală.

- ACYCLOVIR (ACV) reprezintă un analog al guanosinei (ZOVIRAX sau ACICLOGUANOSINA). Efectul antiviral este limitat numai la virusul herpes simplex și virusul varicelo-zosterian.

Indicații:

- indivizi cu imunodeficiențe, infectați cu virusul herpes simplex tip 1 și 2 și virusul varicelo-zosterian
- la pacienții cu transplante de măduvă previne boala, atenuază simptomele, scurtează durata și reduce eliminarea de virus
- complicații oculare herpetice

Deși este un medicament activ în herpesul primar, nu are efect asupra herpesului recurent, fiind inactiv asupra virusului latent.

Reacții adverse:

- se administrează cu precauții la bolnavii cu afecțiuni renale
- la bolnavii de SIDA pot apărea mutante rezistente deficiente în timidinkinaze.

- Un derivat al acyclovirului, activ atât pe virusul herpes simplex cât și pe virusul citomegalic, este GANCYCLOVIR-ul (derivat al guanosinei).

Indicații:

- infecții cu virus citomegalic (retinită)
- la pacienți cu imunodepresie (SIDA)
- tratamentul herpesului rezistent la Acyclovir.

Reacții adverse: neutropenie reversibilă și leucopenie.

- FAMCYCLOVIR - analog al timidinei a dat rezultate bune în infecții cu virusul varicelo-zosterian, fiind mult mai activ decât Acyclovir-ul.

- RIBAVIRIN - derivat al guanosinei.

Are un spectru antiviral larg, acționând asupra unor virusuri ADN dar și ARN. Se administrează oral, intravenos, ca aerosoli.

Indicații:

- în febra de Lassa reduce mortalitatea și scade viremia
- tratamentul infecțiilor cu virusurile gripale tip A și B, virusul sincițial respirator (la copii), virusul rujeolic. În toate aceste cazuri, atenuază simptomatologia, scade eliminarea virusului.

Reacții adverse:

- anemie după administrare intravenoasă
- conjunctivită și rash după administrare ca aerosoli.
 - IDOXIURIDIN (IUDR) este un derivat halogenat al deoxiuridinei, ce acționează asupra virusurilor ADN.

Indicații:

- în keratita herpetică, sub formă de soluții oftalmice aplicate local.

Reacții adverse: toxicitate relativ crescută.

2. Inhibitori ai ARNm

- METISAZONA - activă mai ales asupra poxvirusurilor.

Indicații:

- profilaxia infecției variolice (ATENȚIE: - nu are acțiune terapeutică după debutul bolii). Se administrează oral.

3. Inhibitori ai polimerazelor virale

FOSCARNET(acidul fosfonoacetic) - analog al pirofosfatului (fosfat anorganic). Se administrează intravenos.

Indicații:

- infecții herpetice din SIDA, rezistente la Acyclovir
- retinite determinate de virusul citomegalic în SIDA. Eficacitatea față de HIV se exprimă prin scăderea antigenemiei și creșterea numărului limfocitelor T (CD4-pozitive), dar fenomenele sunt tranzitorii.

Reacții adverse:

- perturbări ale funcțiilor renale
- perturbări ale echilibrului electroliților (Ca, K, Mg)
- convulsii.

Se acumulează în organism și are efecte secundare toxice. Apariția mutantelor virale rezistente este relativ frecventă.

4. Inhibitori ai reverstranscriptazei (nucleozidici și non-nucleozidici)

a) inhibitori nucleozidici

ZIDOVUDINE (RETROVIR, AZIDOTIMIDINA = AZT- analog pirimidinic sintetic care inhibă retrovirusurile (inhibă replicarea HIV *in vitro* și ameliorează simptomatologia bolnavilor în stadiile precoce ale bolii). Se administrează oral.

Indicații:

- în infecții cu HIV
- la bolnavii cu SIDA determină o creștere a numărului limfocitelor T (CD4-pozitive), scăderea antigenemiei și creșterea ratei de supraviețuire.

Reacții adverse:

- febră, rash, granulocitopenie, anemie, tulburări nervoase.

Există riscul apariției mutantelor virale, mai ales în cazul utilizării dozelor mici de medicament.

DIDANOZINA - analog al deoxiadenozinei. Se administrează oral.

Indicații: infecția HIV.

Reacții adverse:

- nevralgii periferice, diaree.

Contraindicată la bolnavii cu risc de pancreatită.

- LAMIVUDINA – analog al citidinei

Indicații: infecția HIV, infecția HBV (în asociere cu IFN)

Reacții adverse: cefalee, grețuri, anorexie, diaree

b) inhibitori non-nucleozidici

- TIBO (tetrahidro-imidazol-benzodiazepin-tion) și
- HEPT 1 (hidroxietoximetil-feniltiatimină), inhibitori ai reverstranscriptazei HIV1
- Nevirapine (dipirido-diazepinonă) – interacționează cu reziduurile de tirozină ale reverstranscriptazei și este indicată în profilaxia post-expunere în infecția HIV

5. Inhibitori ai proteazei

Activi cu precădere pe retrovirusuri.

- SAQUINAVIR (peptid mimetic) – activ pe HIV 1 și HIV 2
- RITONAVIR (peptid mimetic) – scade încărcătura virală și determină creșterea numărului de limfocite T4 (CD4+)

6. Inhibitori ai neuraminidazei

Sunt derivați de acid sialic ce acționează în principal asupra virusurilor gripale A și B.

- ZANAMIVIR și OSELTAMIVIR – efect profilactic destul de bun împotriva infecției cu virusurile gripale A și B; efect terapeutic în aceste infecții (reducerea duratei bolii și a complicațiilor acesteia).

În prezent, chimioterapia antivirală, deși a înregistrat progrese considerabile în ultima decadă, este încă departe de a fi rezolvat multe aspecte esențiale. În general, una dintre problemele majore este legată de instalarea relativ rapidă a rezistenței multor virusuri la chimioterapie administrate în monoterapie. Din acest motiv, studiile privind asocierile de chimioterapie sunt deosebit de numeroase și unele rezultate favorabile au fost deja înregistrate în infecții precum cele cu HIV, HBV, HCV, virusuri gripale etc.

Virusuri defective, viroizi, prioni

Virusurile defective sunt virusuri care nu se pot replica autonom, necesitând prezența unui așa-numit virus "helper" pentru a putea infecta și a se putea replica în organismul infectat. Uneori infecția asociată virus "helper" - virus defectiv poate fi deosebit de severă, deoarece acțiunea virusului helper este amplificată de prezența virusului defectiv.

Recent s-au descoperit noi clase de agenți infecțioși: **viroizii și prionii**. Este vorba de cele mai mici particule cauzatoare de îmbolnăviri, cunoscute până în prezent. Viroizii afectează celulele vegetale și ei sunt compuși dintr-o moleculă neînvelită de ARN circular, monocatenar, covalent închis, cu lungimi reduse (200-300 nucleotide sau chiar mai puțin). Cu toate acestea virozii sunt capabili să se replice autonom.

Prionii diferă atât de virusuri cât și de viroizi prin faptul că nu conțin acizi nucleici. Se pare că proteinele prionice sunt codificate de gene celulare. Există aspecte care sugerează că prionii ar putea fi implicați în afecțiuni cum sunt maladia Creutzfeld-Jacob, Kuru, etc.

2. Familia Poxviridae

Clasificare

Familia include 4 genuri. Cea mai importantă semnificație în patologia umană o au:

- Genul *Orthopoxvirus*, care cuprinde:
 - virusul variolic
 - virusul vaccinal
 - virusul variolei maimuțelor (Monkey pox)
 - virusul variolei vacilor (Cow pox)
- Genul *Molluscipoxvirus* din care face parte virusul molluscum contagiosum

2.1 Genul *Orthopoxvirus*

Virusul variolic

Morfologie

Poxvirusurile sunt cele mai voluminoase virusuri. Virusul variolic măsoară aproximativ 300/170 nm. Virionii sunt de formă paralelipedică sau ovoidală.

Structură

Sunt virusuri ADN. Virionii sunt compuși dintr-o anvelopă și un nucleoid central.

Anvelopa are o structură complexă cu un strat dublu lipoproteic. **Nucleoidul central** conține acidul nucleic viral (ADN) ce este înconjurat de anvelopă. ADN-ul viral este bicatenar, circular, covalent închis și este flancat de doi corpi laterali care dau aspectul de "halteră".

Patogeneză

Actualmente, variola este considerată drept boală infecțioasă eradicată prin vaccinare (eradicare globală confirmată de OMS în 1980). De altfel, infecția variolică a fost prima boală în care s-a aplicat profilaxia specifică.

Calea de pătrundere a virusului în organism este cea respiratorie, cu multiplicare activă locală și la nivelul ganglionilor regionali. Este urmată de diseminarea pe cale limfatică și sanguină (viremia primară) la nivel visceral; viremia secundară determină diseminarea la nivelul tegumentelor și mucoaselor (conform dermatotropismului v. variolic). Deci, modelul patogenetic este cel al unei infecții acute generalizate.

După o incubatie de 10-12 zile, debutul este acut, febril, urmat de o erupție cutanată inițial maculară, cu evoluție ulterioară spre papule - vezicule - pustule - cruste. La supraviețuitori rămân cicatrici tegumentare persistente.

Clinic, există 2 forme clinice de variolă, cauzate de două tipuri virale cu diferențe minime între ele.

1. Variola major - cu mortalitate de peste 30%
2. Variola minor (alastrim) - formă atenuată (mortalitate sub 1%).

Virusul vaccinal

A fost folosit pentru prepararea vaccinului antivariolic, datorită cross-reactivității antigenice existente între cele două virusuri.

Virusul variolei bovine

Infecția la om se produce prin contactul cu vaci infectate. Leziunile eruptive localizate pe ugerul vacilor infectate constituie sursa de infecție pentru om (mulgători) care dezvoltă leziuni similare pe mâini și brațe (fără tendință de generalizare).

2.2 Genul *Molluscipoxvirus*

Virusul *Molluscum contagiosum*

Afectează doar omul. Produce leziuni proliferative tegumentare, cu aspect nodular, localizate cu precădere la nivelul trunchiului. Leziunile devin ombilicate și conțin un material cazeos în care se pot decela "corpusculi molluscum". Aceștia sunt structuri ovoide, de aproximativ 30 micrometri diametru, conținând un mare număr de virioni.

Contaminarea se realizează la nivelul unor soluții de continuitate tegumentare, prin contact direct cu leziunile cutanate sau pe cale sexuală.

3. Familia Adenoviridae

Clasificare

Familia Adenoviridae cuprinde agenți implicați în afecțiuni ale tractului respirator, gastrointestinal și afecțiuni oculare, grupați în următoarele genuri: *Atadenovirus*, *Aviadenovirus*, *Ichtadenovirus*, *Mastadenovirus*, *Siadenovirus*.

Pentru patologia umană prezintă importanță genul Mastadenovirus, incluzând 6 grupe delimitate în funcție de tropism (tabel 19).

Tabel 19: Clasificarea adenovirusurilor implicate în patologia umană

rupa	Virusuri principale (tipuri)	Tropism principal
A	12, 18, 31	tract gastrointestinal
B	3, 7, 11, 16, 21, 34, 35	tract respirator tract genito-urinar conjunctiva oculară
C	1, 2, 5, 6	faringe
D	8, 9, 19, 22, 23, 30, 44, 47	tract respirator glob ocular tract uro-genital
E	4	tract respirator superior conjunctiva oculară
F	40, 41	tract gastrointestinal

Caractere comune

Morfologie, structură

Virionii au dimensiuni cuprinse între 70-90 nm și sunt lipsiți de anvelopă.

Genomul viral - ADN dublu catenar, liniar.

Capsida - simetrie icosaedrică

Variabilitate genetică

Genomul adenovirusurilor prezintă un grad ridicat de variabilitate fapt ce explică marea diversitate a manifestărilor clinice și epidemiologice ale diferitor serotipuri. De asemenea, există similitudini și omologii între diferite grupuri de serotipuri (numite *grupuri genomice* – « *genomic clusters* ») care duc la recombinări genice între tulpini.

În cazul subiecților cu status imun deficitar (SIDA) infecțiile adenovirale pot avea o gravitate ridicată ce s-ar explica prin variabilitatea genetică generatoare de tulpini recombinante.

Patogeneză

Adenovirusurile prezintă tropism epitelial. Infecțiile se realizează pe cale digestivă sau aeriană. În cazul infecțiilor oculare transmiterea se poate face prin apă (piscine) sau mâini murdare.

După replicarea la nivelul porții de intrare, se produce diseminarea prin contiguitate, apoi pe cale limfatică și sanguină (viremia) urmate de determinări în diferite viscere. Aceste diseminări viscerale sunt mai probabile în cazul pacienților imunodeprimați.

Există posibilitatea unor infecții latente ale țesuturilor limfoide adenoidiene, amigdaliene. Aceste infecții latente se pot reactiva prin factori imunosupresori sau infecții supraadăugate (cu alți agenți).

Sindroame clinice

1. Febra faringo-conjunctivală (serotipurile 3, 7, 14) - asociere de faringită și conjunctivită pe fond general febril. Se manifestă cel mai frecvent sub formă de epidemii în colectivități de copii. De asemenea, frecvent este rezultatul transmiterii prin apa piscinelor («conjunctivita de piscină») sau prin sistemele de canalizare, ducând la focare epidemice.

2. Afecțiuni respiratorii acute (serotipurile 4 și 7 sunt cel mai frecvent implicate) - febră, tuse, faringită, adenopatii cervicale cu manifestare epidemică;

- pneumonii virale – evoluție severă la copiii mici (decese);

- laringite, bronșiolite, sindroame "pertusis-like".

3. Conjunctivite. (serotipurile 8, 19 – fără asociere cu faringită) - inflamație conjunctivală, palpebrală și bulbară, uneori cu aspect nodular

* Keratoconjunctivita epidemică (serotipurile 8, 19 și 37 sau variante intermediare ale acestora rezultate prin recombinații genice) - favorizată de factori iritativi locali (corpi străini intraoculari)

4. Gastroenterite. - cauzate de serotipurile din grupa F (serotipuri 40, 41), A (serotip 31), C (serotip 2) - episoade de diaree severă la copii; aceste serotipuri adenovirale ocupă locul al doilea în etiologia gastroenteritelor în patologia pediatrică (locul 1 este ocupat de rotavirusuri).

5. Afecțiuni uro-genitale: Cistite hemoragice (serotipurile 11, 21) cu evoluție benignă, autolimitantă și uretrite (la bărbați) și cervicite (la femei) cu evoluție cronică și posibile afectări renale (subtipurile 14, 15).

6. Afecțiuni ale sistemului nervos: Meningoencefalite (serotipurile 3, 5, 6, 7, 12, 32).

5. Infecții generalizate - la pacienții imunocompromiși - pneumonii, hepatite și alte determinări viscerale, ce pot evolua fulminant cu exitus.

Răspuns imun

Imunitatea umorală este reprezentată de:

- anticorpi anti-antigen comun de grup care apar la aproximativ 1 săptămână de la debut și persistă până la 1 an

- anticorpi anti-antigen specific de tip a căror persistență este mai îndelungată (ani de zile).

Răspunsul imun mediat celular este foarte intens.

Diagnostic de laborator

Diagnosticul serologic. Diagnosticul se bazează pe decelarea anticorpilor specifici prin:

- Reactia de fixare a complementului (RFC)
- Seroneutralizare
- Hemaglutinoinhibare (cu anti-seruri specifice de grup și de tip - vezi Tabel X).
- ELISA

Profilaxie

Profilaxia specifică prin vaccinare nu este de uz curent. În SUA s-a practicat administrarea de vaccinuri vii atenuate, cu administrare orală, ce conțin adenovirusurile tip 4 și 7 sau 3, 4 și 7, care sunt utilizate eficient în colectivități militare (recruți).

De asemenea, sunt în derulare studii pentru realizarea de vaccinuri « subunitare » cu un grad de specificitate crescut. Igiena riguroasă și în special spălarea corectă a mâinilor reprezintă cele mai eficiente metode de prevenire a infectării cu adenovirusuri.

4. Familia Herpesviridae

Clasificare

Familia Herpesviridae cuprinde un mare număr de virusuri ce pot infecta omul și unele animale (peste 100 de virusuri). Dintre acestea, agenții cu semnificație pentru patologia umană sunt grupați în 3 subfamilii:

- Subfamilia Alphaherpesvirinae:
 - Virusul Herpes simplex tip 1
 - Virusul Herpes simplex tip 2
 - Virusul varicelo-zosterian
- Subfamilia Betaherpesvirinae:
 - Virusul cytomegalic (Cytomegalovirus)
 - Virusul herpetic uman tip 6
 - Virusul herpetic uman tip 7
- Subfamilia Gammaherpesvirinae:
 - Virusul Epstein-Barr
 - Virusul herpetic uman tip 8 (v. sarcomului Kaposi)

Caractere comune

Morfologie și structură

Virionii sunt de formă sferică având dimensiuni între 180-200nm. Ei sunt constituiți dintr-un genom ADN liniar, dublu catenar. Genomul este inclus într-o capsidă cu simetrie icosaedrică, în jurul căreia se găsește o anvelopă cu o compoziție complexă, în două straturi. Stratul situat în proximitatea capsidei este de natură proteică, având o structură granular-amorfă. Acesta este acoperit de un înveliș extern lipidic pe care proemină spiculi constituiți din glicoproteine (Fig. 25).

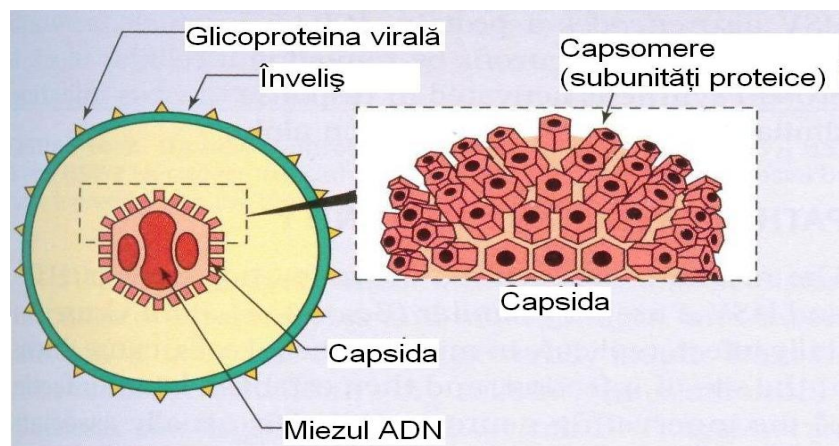


Fig.25: Structura schematică a herpes virusurilor (după Muray P., 2005)

4.1 Subfamilia *Alphaherpesvirinae*

Cuprinde virusurile Herpes simplex tip 1 (HSV-1) și 2 (HSV-2) și virusul varicelo-zosterian (VZV). În privința HSV-1 și HSV-2 nu se poate face o demarcație clară a sindroamelor pe care le determină dar, în general se admite că HSV-1 produce simptome localizate în jumătatea superioară a corpului iar HSV-2 este de obicei implicat în infecțiile genitale.

Ca tip de infecție, virusurile aparținând acestei subfamilii se încadrează în categoria "infecții persistente cu debut acut", la care cronicizarea este dată de latența rezultată din persistența ADN-ului viral în celula gazdă. Ca urmare, în cazul infecțiilor cu HSV se operează cu noțiunile de infecție primară, infecție inițială, celulă infectată latent, reactivare și recurență (recrudescență).

- a. Infecția primară - primul contact infectant cu HSV-1 sau HSV-2
- b. Infecție inițială - primul contact infectant cu HSV-2 la o persoană infectată primar cu HSV-1 sau invers.
- c. Celulă infectată latent - celulă în care virusul infectant persistă
- d. Reactivare - producția de virus (replicarea activă) în celula infectată latent.
- e. Recurență (recrudescență) - reactivare manifestă clinic prin simptome caracteristice.

Virusul Herpes simplex tip 1

Determină infecții cu poartă de intrare tegumentară sau mucoasă. De obicei pătrunderea sa în organism se face la nivelul unei soluții de continuitate la nivelul tegumentului sau mucoasei bucale sau la nivelul conjunctivei oculare.

Datorită replicării virale active la nivelul porții de intrare se produc simptome locale caracteristice:

- gingivo-stomatita acută - erupție veziculo-ulcerativă
- keratoconjunctivita.

Replicarea are loc și la nivelul ganglionilor limfatici regionali. După depășirea acestora se produce viremia inițială cu localizarea consecutivă a virusului la nivelul unor viscere. În cazurile de insuficiență a sistemului imun al gazdei se pot produce forme severe de boală cu diseminare viscerală masivă:

- herpesul generalizat
- meningita, meningo-encefalita herpetică.

Infecția primară (inițială) devine persistentă datorită faptului că virusul ajunge pe calea nervilor senzitivi în ganglionii medulari senzitivi, unde replicarea sa continuă fără ca virusul să fie eliminat. Persistența genomului viral la acest nivel se face sub formă episomală (non-integrativă).

Infecția primară este adesea achiziționată în copilărie prin contactul intim cu persoane infectate. După remiterea simptomelor locale, infecția persistentă poate evolua cu perioade asimptomatice alternând cu episoade de reactivare a căror intensitate și frecvență tinde să descrească cu vârsta. În cazul episoadelor recurente de keratoconjunctivită herpetică există pericolul afectărilor oculare severe ireversibile (cicatrici corneene, orbire) (Fig. 25).

Virusul Herpes simplex tip 2

Infecția se produce prin contact sexual, pătrunderea virusului în organism făcându-se la nivelul unor soluții de continuitate ale mucoasei genitale. De asemenea, HSV-2 poate fi transmis vertical (de la mama infectată la nou-născut).

Deoarece, de obicei, infecția cu HSV-1 se produce la vârste tinere (copilărie), infecția cu HSV-2 este cel mai frecvent dobândită sub formă de infecție inițială (mai rar ca infecție primară).

Manifestările clinice locale sunt:

- la bărbat - mănunchi de vezicule situate la nivelul penisului, interesând uneori meatul urinar cu disurie consecutivă

- la femeie - grupuri de vezicule la nivel labial, vulvar, perineal cu posibilitatea de extindere până la nivelul regiunii interne a coapsei sau la nivelul colului uterin (cervicita herpetică).

La ambele sexe leziunile veziculare sunt însoțite de adenopatii inghinale.

Episodul inițial este urmat de recurențe cu frecvență variabilă.

La nou-născut HSV-2 se transmite de la mama infectată, în cursul nașterii (prin traversarea canalului cervico-vaginal infectat). Simptomatologia apare la câteva zile de la naștere și ea variază de la apariția câtorva vezicule tegumentare până la erupții veziculo-ulcerative generalizate însoțite de visceralizare (afectare hepatică, cerebrală) cu posibilă evoluție letală (Fig. 26).

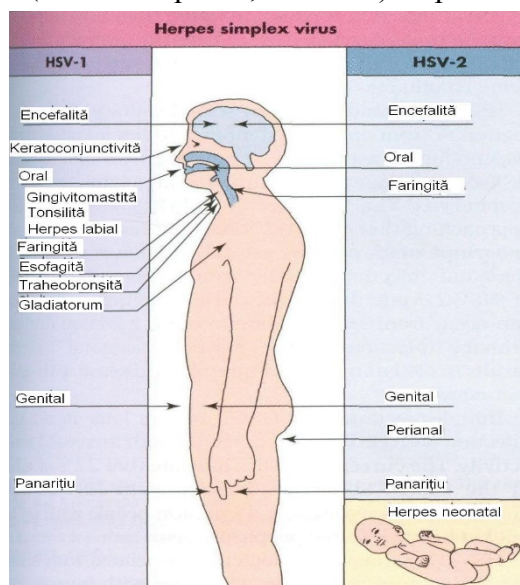


Fig. 26: Infecții produse de HSV- 1 și HSV- 2 (după Murray P., 2005)

Virusul varicelo-zosterian (VZV)

Denumirea indică cele două afecțiuni pe care virusul le poate produce: varicela în cazul infecției primare, zona zoster prin reactivare.

Infecția primară se produce în urma pătrunderii virusului prin mucoasa nazofaringiană. La acest nivel se produce replicarea virală urmată de diseminarea prin contiguitate, pe cale limfatică și sanguină. După pătrunderea și replicarea activă a virusului în sânge se produce invazia ectodermului. Aceasta se traduce clinic prin apariția de leziuni caracteristice:

- la nivel tegumentar - exantem - erupție generalizată cu leziuni ce prezintă o evoluție tipică: macule - papule - vezicule - cruste

- la nivelul mucoaselor (respiratorie, digestivă, genitală) - enantem

Diseminarea sanguină se realizează în valuri succesive ce urmează viremiei inițiale, motiv pentru care erupțiile au un caracter polimorf (elemente eruptive în stadii diferite - de la maculă la crustă) prezente simultan.

Complicații:

- Infecția bacteriană a veziculelor, cu formarea de pustule după vindecarea cărora pot rămâne cicatrici tegumentare persistente
- Encefalita post-varicelă - mai frecventă la pacienți imunodeficienți
- Pneumonia variceloasă - idem.
- Alte visceralizări.

Reactivarea infecției se produce datorită faptului că în cursul infecției primare virusul migrează pe calea: nerv senzitiv - ganglion senzitiv, cantonându-se sub formă latentă la acest nivel. Sub influența unor factori imunosupresori, se produce reactivarea urmată de recrudescență: replicare activă virală în celulele ganglionului senzitiv, urmată de eliberarea virionilor care pe calea nervilor senzitivi ajung la nivelul terminațiilor nervoase senzitive tegumentare. Rezultatul este o erupție veziculoasă strict localizată (în mod caracteristic) la teritoriul cutanat al nervului respectiv. Erupția este precedată și acompaniată de hiperestezia dureroasă a zonei respective. Veziculele vor parcurge aceleași etape evolutive descrise la infecția primară.

Complicații:

- Durerea persistentă la nivelul zonei interesate (poate persista luni-ani de zile)
- Zona zoster oftalmic - se produce prin interesarea ramurii oftalmice a nervului trigemen
- Zona zoster generalizat - clinic se aseamănă cu tabloul eruptiv din varicelă, cu deosebirea că la nivelul dermatomului afectat erupția este mai pronunțată
- Encefalita zosteriană - complicație rară.

Profilaxie

Vaccinuri conținând virus viu atenuat.

4.2 Subfamilia *Betaherpesvirinae*

Virusul cytomegalic (Cytomegalovirus - CMV)

Infecțiile cu CMV sunt deosebit de frecvente dar ele sunt în general asimptomatice la adult. În schimb, infecțiile survenite la nou-născut și sugar evoluează foarte sever putând determina decesul.

Calea de pătrundere a virusului în organism diferă în funcție de vârstă și de circumstanțele în care survine infecția (tabel 20).

Tabel 20: Mecanismele infectării cu CMV

Pacient	Mecanism de infectare
Făt (mama cu infecție CMV)	-infecție transplacentară
Nou-născut (mamă cu infecție CMV)	-infecție intra-partum -infecție prin alăptare
Copil	-infecție interpersonală (contact cu salivă, urină infectată)
Adolescent, adult	-contact sexual -transfuzie de sânge sau preparate de sânge -transplant de organe, țesuturi

La nou-născut infecția primară (congenitală sau neo-natală) evoluează sub forma așa numitei **boli a incluziilor cytomegalice**. Numele este dat de prezența unor incluziuni celulare intranucleare patognomonice și cu vacuolizarea citoplasmei. Aceste leziuni celulare sunt generalizate la nivelul organelor hematopoetice și sistemului nervos și ele duc la exitus.

La copil și adolescent infecția primară poate evolua simptomatic benign, mimând o mononucleoză infecțioasă (vezi Virusul Epstein-Barr): febră, limfadenopatii, hepatosplenomegalie și modificări ale tabloului sanguin.

La adult infecția este în general asimptomatică, excepție făcând cazurile de imunosupresie, cum sunt receptorii de transfuzii multiple sau transplant, pacienții cu SIDA. De altfel, în aceste cazuri se poate produce fie o infecție primară (sânge transfuzat sau organ transplantat infectat) fie o reactivare a unei infecții latente. Reactivarea infecției CMV în cazul receptorilor de transplant este favorizată de tratamentul imunosupresor asociat intervenției chirurgicale. Cazurile cu depresie imunitară pot evolua letal în urma visceralizării infecției CMV (pneumonii interstițiale, hepatite, etc.), mai ales atunci când infecția este primară. În general infecțiile reactivate au o evoluție benignă.

Mecanismul prin care se realizează persistența infecției CMV nu este pe deplin elucidat: fie infecție latentă cu persistența ADN viral sub formă episomală, fie integrare ADN viral în genomul leucocitelor.

Pe lângă reactivarea posibilă a infecției CMV în condițiile descrise, există și situații în care poate surveni o **reinfectie** cu o tulpină virală diferită.

Diagnostic de laborator

Diagnosticul serologic. Metodele imunoenzimatică (**ELISA**) și testele radioimune (**RIA**) sunt utile pentru decelarea anticorpilor specifici de tip IgM.

Ele se efectuează pentru diagnosticul infecției verticale cu CMV, când în sângele din cordonul ombilical se decelează IgM-CMV și pentru diagnosticul infecției acute sau recente cu CMV.

Decelarea anticorpilor de tip IgG-CMV (prin RFC, ELISA, RIA) denotă infecția CMV în antecedente. Aceste teste sunt utile pentru triajul donatorilor de sânge sau organe, precum și pentru supraveghere epidemiologică.

4.3 Subfamilia *Gammaherpesvirinae*

Virusul Epstein-Barr (EBV)

Determină **mononucleoza infecțioasă**, fiind totodată un **virus cu potențial oncogen** (limfomul Burkitt, carcinomul nazo-faringian). Se caracterizează prin tropism limfocitar și epitelial.

Există două tipuri: **EBV-A și EBV-B**, având caracteristici biologice diferite. Tipul B pare a fi întâlnit cu precădere în Africa și, de asemenea la pacienți imunosupresați. Cele două tipuri pot coexista într-o gazdă infectată.

EBV pătrunde în organism pe cale oro-faringiană, migrând apoi la nivelul glandelor salivare (parotidă, glande salivare submandibulare, sublinguale) datorită tropismului epitelial. La acest nivel virusul se replică activ și este eliberat în salivă, penetrând însă totodată în limfocite datorită tropismului limfocitar. În acest fel, EBV va fi vehiculat de limfocitele infectate, pe cale sanguină, cantonându-se în toate țesuturile limfoide.

EBV are efect transformant asupra unei părți a limfocitelor infectate care virează spre forme blastice conținând genom viral. Procesul este denumit "imortalizare" și este cu mare probabilitate implicat în oncogeneza determinată de EBV. În acest fel, infecția EBV persistă.

O altă parte a limfocitelor B infectate sunt gazde ale unei replicări virale active cu eliberare de virioni maturi prin liză celulară.

Limfocitele B infectate cu EBV exprimă antigene virale:

- EBNA ("Epstein-Barr nuclear antigen") - la nivelul nucleilor limfocitelor infectate
- LYDMA ("lymphocyte-detected membrane antigen) - la nivelul membranei celulare; constituie ținta pentru limfocitele T citotoxice
- EA ("early antigen") - antigen precoce
- VCA ("viral capsid antigen") - antigen capsidal viral
- MA ("membrane antigen") - antigen membranar.

După apariția antigenelor virale precoce ("early") infecția poate evolua fie acut, cu apariția antigenelor tardive, fie persistent.

a. Mononucleoza infecțioasă. Se transmite interpersonal, prin contact cu saliva infectată. Se manifestă prin febră, faringită, limfadenopatie (inițial cervicală, apoi generalizată), hepatosplenomegalie.

Antigene virale: EBNA, LYDMA, EA, VCA.

Tablou sanguin periferic patognomonic: limfocite anormale (15-90%), bazofile, cu vacuole citoplasmice, fragmentare nucleară, pe fond inițial de leucopenie (circa 1 săptămână) urmat de hiperleucocitoză persistentă (circa 5 săptămâni).

b. Limfomul Burkitt. Este o formă de neoplazie cu malignitate extrem de ridicată. Se întâlnește mai ales în Africa, Papua Noua Guinee și constă din tumori localizate cel mai frecvent la nivel maxilar (mai rar orbital). Antigene virale: LYDMA, EBNA (inconstant - EA).

c. Carcinomul nazofarnagian. Este o formă de neoplasm nediferențiat la nivel nazofaringian, extrem de invaziv, mai ales la nivelul ganglionilor limfatici cervicali. Se întâlnește cu precădere în Extremul Orient.

Antigene virale: la fel ca în limfomul Burkitt.

Diagnostic de laborator

Tablou sanguin periferic. Hiperleucocitoză (până la 20 milioane) cu limfocitoză marcată (până la 50% din formula leucocitară), cu limfocite atipice (nuclei neregulați).

Serologie: Testul IFA (indirect immunofluorescent antibody) – metoda clasică ("gold standard"), reacția de fixare a complementului (RFC) – mai puțin specifică, ELISA, tehnici de immunoblotting (Western blot) – specificitate înaltă, testul Paul-Bunnell – se bazează pe detectarea de anticorpi heterofili produși de limfocitele B infectate (specificitate și sensibilitate mai reduse)

Tehnici de biologie moleculară: PCR (Polymerase Chain Reaction) efectuată din ser și/sau LCR – utilă pentru determinarea încărcăturii virale și pentru diagnosticarea reactivărilor; metoda de elecție pentru diagnosticul meningoencefalitei EBV.

Izolarea virusului în linii celulare limfoblastoide din limfocite umane infectate (nu este de uz diagnostic curent; se efectuează doar în laboratoare speciale)

5. Familia Papillomaviridae

Anterior inclusă în familia Papovaviridae, ca genul *Papillomavirus*, a fost ulterior clasificată ca familie separată (2000).

Clasificare

Familia include în prezent un singur gen: *Papillomavirus*. Agenții acestui gen infectează atât omul cât și animale domestice (bovine, cai, câini) și sălbatice (cerbi, șoareci, papagali) însă există o foarte ridicată specificitate de specie.

Caractere comune

Morfologie, Structură

Virionii sunt de dimensiuni mici (45-55 nm.), cu aspect sferic, lipsiți de anvelopă.

Capsida este icosaedrică, iar genomul de tip ADN circular dublu catenar, circular, superspiralat, codifică proteine ce stimulează creșterea celulară, ceea ce poate avea ca efect fie liza celulară (în celule permissive), fie transformarea neoplazică în cazul celulelor non-permissive.

Patogeneză

Papillomavirusurile prezintă tropism pentru țesutul epitelial scuamos tegumentar și al membranelor mucoase. La acest nivel virusul se replică și induce proliferarea tisulară, generând formațiuni tumorale.

Infectarea se realizează prin contact direct (inclusiv contact sexual), la nivelul unor soluții de continuitate chiar minime, precum și prin transmitere verticală (de la mama la nou-născut) în cursul nasterii.

Replicarea virală și expresia genică sunt dependente de gradul de diferențiere al celulei epiteliale infectate, generând infecții persistente în stratul bazal și infecții active în keratinocite.

Infecția are, de obicei, un caracter localizat și o evoluție spontan regresivă. În cazul anumitor papillomavirusuri, genomul viral poate persista intracelular (prin integrarea ADN-ului viral în genomul gazdă), cauzând recurențe.

Anumite tipuri produc displazii cu potențial de malignizare (în asocieră cu cofactori carcinogeni) fiind implicate în etiologia cancerului de col uterin, a cancerului anal, vulvar, penian și a unor forme de cancer oral și laringian.

Schematic, evoluția unei infecții cu Papillomavirus (HPV) poate fi redată astfel:

1. Infectarea celulei epiteliale (tegument, membrană mucoasă)
2. Multiplicarea locală
3. Formațiune tumorală (tegument palmar, plantar, mucoasă faringo-laringiană)
4. a. Regresia formațiunii tumorale (cu persistența virusului - infecție latentă) sau
4. b. Transformare malignă.

Sindroame clinice

1. **Veruca tegumentară** Leziuni produse prin infectarea suprafețelor keratinizate la nivel palmar și plantar.

2. Tumori benigne ale capului și gâtului.

- Papiloamele bucale sunt tumori epiteliale unice, pediculate situate la nivelul cavității bucale.
- Papiloamele laringiene sunt cele mai frecvente tumori benigne cu această localizare. Rar, pot genera complicații, prin extinderea traheală cu obstrucție aeriană consecutivă (mai ales la copii).

3. Nodulii genitali (condilomatoza genitală)

Sunt produși prin infectarea epiteliului scuamos de la nivelul organelor genitale externe și regiunii perianale. Degenerescența malignă este extrem de rară la indivizii imunocompetenți.

4. Leziuni genitale displazice, neoplazice.

Sunt produse prin infecția tractului genital feminin cu anumite tipuri virale (16, 18, 31, 33, etc.). Leziunile displazice (preneoplazice) pot regresa spontan sau pot evolua spre leziuni neoplazice (carcinomul de col uterin).

5. Neoplazia cervicală intraepitelială – leziune precanceroasă. Cofactori carcinogeni sunt: fumatul, alte infecții genitale asociate (*Chlamydia*, *Neisseria*, virusuri herpetice).

6. Boala Bowen – afecțiune precanceroasă a tegumentelor ce poate evolua spre epitelioame spinocelulare, bazocelulare sau mixte.

7. Carcinomul cervical invaziv – în peste 90% dintre cazurile de carcinom cervical s-a demonstrat originea papillomavirală.

Diagnostic de laborator

Diagnostic serologic

Decelarea anticorpilor specifici antivirali nu este de uz diagnostic curent.

Tehnici de biologie moleculară.

Metodele se bazează pe amplificarea ADN-HPV prin PCR urmată de hibridizare.

Profilaxie

Măsuri generale: igienă riguroasă, evitarea contactului cu leziunile tegumentare, contact sexual protejat.

Profilaxia activă: În prezent sunt disponibile vaccinuri care protejează împotriva unor tipuri de HPV implicate în cancerul de col uterin, precum și vaccinuri active împotriva tipurilor HPV implicate în etiologia verucilor genitale și a cancerelor anale, vaginale și vulvare. Vaccinarea anti-HPV oferă cea mai bună protecție în cazul administrării în perioada anterioară începerii activității sexuale (11-12 ani) dar este utilă și pentru tineri adolescenți și adulți până la 26 de ani, care nu au fost imunizați în perioada prepubertară. Vaccinul se recomandă și bărbaților homosexuali sau bisexuali, precum și persoanelor imunocompromise (SIDA) de ambele sexe.

6. Familia Polyomaviridae

Anterior (până în anul 2000), polyomavirusurile erau încadrate alături de papillomavirusuri în familia Papovaviridae. Denumirea provenea din prescurtarea numelor principalelor virusuri incluse în această familie:

- Papillomavirus
- Polyomavirus
- Virusuri vacuolizante

Acești agenți produc afecțiuni proliferative (sufixul "-oma") benigne sau maligne. Actualmente, s-a decis separarea în două familii distincte, respectiv *Papillomaviridae* (vezi capitoul anterior) și *Polyomaviridae*.

Clasificarea Polyomavirusurilor este în evoluție datorită numărului mare de virusuri nou descoperite. Reclasificarea recentă recomandată de Comitetul Internațional de Taxonomie Virală (ICVT) recomandă împărțirea familiei Polyomaviridae în 3 genuri (Orthopolyomavirus, Wukipolyomavirus, Avipolyomavirus). Multe alte virusuri din această familie nu au fost încă clasificate complet.

Morfologie, structură, replicare

Virionii sunt de dimensiuni mici (45-55 nm.), cu aspect sferic, lipsiți de anvelopă.

Genom - ADN-dublu catenar, circular, superspiralat.

Capsida - simetrie icosaedrică.

Genomul codifică proteine ce stimulează creșterea celulară, ceea ce poate avea ca efect fie liza celulară (în celule permissive), fie transformarea neoplazică în cazul celulelor non-permissive.

Regiunea precoce a unui din lanțurile ADN codifică proteine non-structurale T (transformante), iar regiunea tardivă a celuilalt lanț ADN codifică 3 proteine capsidale: VP1, VP2, VP3.

Patogeneză

Poarta de intrare este probabil tractul respirator. Virusurile prezintă tropism limfocitar, cu posibilitatea de infecții latente viscerale (rinichi, plămân, sistem reticuloendotelial) la persoanele imunodeficiente. Reactivarea acestor infecții latente determină replicarea virală activă cu eliminarea de virioni în urină (infecții severe ale tractului urinar) sau cu viremie și infectarea consecutivă a sistemului nervos central (prin traversarea barierei hematoencefalice).

Sindroame clinice

Infecția primară este asimptomatică sau, eventual, însoțită de simptome respiratorii ușoare sau fenomene de cistită.

Reactivarea unor infecții latente la persoane cu imunodeficiențe se poate traduce prin:

- Cistite hemoragice
- Stenoze ureterale

-Leucoencefalopatia progresivă multifocală - are la bază leziuni transformante, demielinizante, manifestate prin tulburări de vorbire, de vedere și de motilitate a membrilor cu paralizii consecutive și deces.

De asemenea, implicarea unor polyomavirusuri în oncogeneză a fost recent ilustrată de detectarea și caracterizarea MCV (Merkel Cell polyomavirus) în cazuri de cancer tegumentar.

Diagnostic de laborator

Citologia urinară: evidențiază celule epiteliale mari, cu incluziuni dense bazofile intranucleare (asemănătoare celor din infecția cu CMV)

Biologie moleculară: se realizează prin analiza cu sonde ADN și PCR.

7. Familia Orthomyxoviridae

Include virusurile care determină gripa, infecție virală cu manifestări endemo-epidemice.

Clasificare

Familia include 4 genuri:

- Genul Influenzavirus A – include virusul gripal tip A
- Genul Influenzavirus B – include virusul gripal tip B
- Genul Influenzavirus C – include virusul gripal C
- Genul Thogotovirus – include virusurile Thogoto, Dhori și Batken.

7.1 Virusurile gripale A, B și C

Clasificarea are la bază structura antigenică a virusurilor gripale care include antigene specifice de tip și de subtip (tabel 21).

Tabel 21: Clasificarea virusurilor gripale în genuri și tipuri

Specificitate	Antigen	Caracteristici
De gen	NP (nucleoproteina)	- 3 genuri: A, B, C
	M (matrix)	- 3 genuri: A, B, C
De tip	H (Hemaglutinina)	- 16 tipuri H (cel mai frecvent implicate în patologia umană: H1, H2, H3, H5, H7)
	N (neuraminidaza)	- 9 tipuri (mai frecvente în patologia umană: N1, N2)

Morfologie și structură

Virionii sunt de formă sferică sau alungită, cu diametrul de 100-200 nm, prevăzuți cu anvelopă. Acești agenți sunt caracterizați prin pleiomorfism, astfel încât uneori se pot observa virioni cu formă filamentoasă și cu lungimi până la 1000 nm. În structura virionului intră:

- **Anvelopa** - strat dublu lipoproteic ce derivă din membrana celulei infectate. Stratul extern este prevăzut cu spiculi care conțin hemaglutinină (HA) și neuraminidază (N). Stratul intern conține proteina M (matrix) cu rol în menținerea formei virionului.

Hemaglutinina se găsește sub forma inactivă (poliproteină) care este activată prin scindare sub acțiunea proteazelor celulei gazdă. În urma scindării rezultă două tipuri de segmente: H1 și H2. Rolul HA este deosebit de important atât pentru atașarea virionului la celulă (la nivelul receptorilor celulari specifici), cât și pentru eliberarea intracitoplasmatică a ARN viral.

Neuraminidaza (prezentă doar la virusurile gripale A și B) mediază pătrunderea virionului în stratul de mucus al căilor respiratorii.

- **Capsida** - simetrie helicoidală

- **Genomul** - ARN monocatenar cu polaritate negativă.

La acest nivel, există componente suplimentare asociate genomului:

- nucleoproteina (NP) - proteină internă asociată ARN, cu rol în protejarea acestuia.
- polimeraze: PB1, PB2, PA.
- proteine nestructurale NS1, NS2 și BM2 .

Variabilitate antigenică

Virusurile ARN tind să aibă o rată crescută a mutațiilor (de aproximativ 10.000 de ori mai mare decât a virusurilor ADN), aspect ce se confirmă și în cazul virusurilor gripale.

Modificările posibile se clasifică în 2 categorii: minore și majore.

1. Modificări minore ("antigenic drift") - mutații punctiforme cu apariția de mutante H sau N. Aceste mutații, produse sub presiunea sistemului imun al gazdei, sunt cauzate de multiplele pasaje ale v. gripal de la o gazdă la alta în cursul epidemiilor. Aceste mutații sunt lent-progresive și cumulative.

2. Modificări majore ("antigenic shift") - sunt rezultatul recombinării genice între diferite subtipuri virale. Aceste modificări sunt constatate în cazul virusului gripal A, au apariție bruscă, și sunt favorizate de faptul că virusul circulă atât la om cât și la păsări și animale (numărul și plaja de pasaje sunt mult mai largi în cazul virusului gripal A spre deosebire de virusurile gripale B și C care circulă doar în populația umană). Mai precis, datorită genomului fragmentat și circulației umane și aviare & animale sunt favorizate recombinații prin reasortarea subtipurilor virale umane și animale.

Astfel, într-o celulă infectată simultan cu 2 virusuri diferite, virionii progeneri (rezultați în urma replicării) pot conține mixturi ale genelor parentale. În acest fel, prin infecții duble cu virusuri de origine umană și animală, la intervale de timp impredictibile, se formează noi tulpini virale cu compoziție genetică diferită de cea a tulpinilor aflate în circulație. Aceste rearanjări genice pot avea loc și între tulpini de origine umană.

Dacă aceste modificări implică și genele ce codifică H, N sau ambele, noile tulpini vor beneficia de un avantaj, deoarece imunitatea colectivă a populației receptoare va fi inefficientă. Aceasta deoarece imunitatea antigripală este mediată de anticorpi față de H și N.

Patogeneza

Infecția este transmisă pe cale respiratorie, interesând, de obicei, tractul respirator superior. Virusul se replică la nivelul epiteliului respirator, determinând distrugerea cililor (element important în apărarea locală). Urmează apoi o etapă de viremie tranzitorie.

Infecția virală a tractului respirator inferior (pneumonia gripală) se produce uneori, manifestându-se cu semne majore de toxemie și cu letalitate ridicată.

Mai frecvent, însă, pneumonia este rezultatul suprainfecției bacteriene secundare (*S. aureus*, *H. influenzae*, streptococi hemolitici).

Răspuns imun

Cel mai important tip de anticorpi protectori specifici (neutralizanți) sunt cei anti-hemaglutinina, aceștia împiedicând atașarea virionului la celulă. Anticorpul anti-neuraminidaza împiedică, probabil, eliberarea virionilor din celulă.

După producerea infecției, sistemul imun reacționează prin:

- anticorpi IgG serici
- limfocitele T citotoxice și macrofagele alveolare.

Manifestări clinice – Gripa

În mod obișnuit boala la om se manifestă, după o incubatie de 2-5 zile, prin febră înaltă (peste 39-40°C), cefalee, mialgii, artralгии, astenie marcată, simptome respiratorii (tuse uscată, rinoree). După o perioadă de stare de aproximativ o săptămână, febra scade, tusea devine productivă, iar evoluția este autolimitantă cu vindecare lentă (1-2 săptămâni). Aspectele sunt valabile mai ales în cazul infecțiilor cu virus gripal A și B. Infecția cu virus gripal C se manifestă prin simptome mult mai discrete.

Grupele populaționale la risc pentru infecția gripală sunt copiii mici, bătrânii, persoanele cu afecțiuni cronice debilitante, imunosupresiații. La aceste grupe de subiecți boala poate îmbrăca forme grave, “maligne”, soldate uneori cu deces.

Diagnostic de laborator

Serologia

Decelarea anticorpilor specifici de tip (anti-NP) și de subtip (anti-H) prin:

- hemaglutinoinhibare
- seroneutralizare
- fixarea complementului
- ELISA

Diagnostic molecular: detectia ARN viral prin RT-PCR conventional si/sau "real time". A se vedea Indreptarul LP.

Profilaxie

Măsuri generale: Pe plan european și mondial există programe de supraveghere și control menite să prevină și/sau să limiteze extinderea epidemiilor de gripă (există 120 de Centre Naționale de Referință pentru gripă în 83 de țări, printre care și România).

Profilaxia specifică activă se realizează prin administrarea de vaccinuri.

Vaccinurile inactivate se prepară din tulpini virale selectate anual de OMS pe baza datelor obținute de programele de supraveghere sus-amintite. În acest fel se asigură anual vaccinuri care să conțină cu maximă probabilitate tulpinile circulante în sezonul respectiv sau variante strâns înrudite. Componenta vaccinurilor antigripale (tulpinile virale incluse în vaccin) trebuie să respecte în fiecare an recomandările OMS, indiferent de firma producătoare.

- **Vaccinurile vii atenuate** se află încă în faza de studiu. Ele se prepară prin reasortare genomică cu includerea de mutante de origine aviară.
- **Vaccinurile recombinante** – se studiază elaborarea de vaccinuri pe bază de sisteme recombinante de clone de ADNc al ARN gripal cu obținerea de vaccinuri cu antigene virale purificate sau peptide înalt imunogene.
- **Vaccinuri cu virus inactivat**
- **Vaccinuri trivalente cu fragmente antigenice** (de ex. vaccinul Inluvac, Fluarix) ce conțin antigene de suprafață.

Modul de administrare:

-2 doze de 0,5 ml im sau sc profund la interval de 30 zile, pentru copii sub 8 ani, nevaccinați anterior

-o singură doză de 0,5 ml, peste această vârstă

Locul de inoculare: în deltoid sau regiunea antero-laterală a coapsei (pentru copii sub 2 ani).

Grupe cu risc epidemic: se poate vaccina orice persoană peste vârsta de 6 luni, dar profilaxia activă se adresează prioritar următoarelor grupe:

-vârstnici peste 65 ani

-copii instituționalizați

-copii și adulți cu boli cronice cardio-pulmonare, metabolice

-personal medical, personal didactic, funcționari publici, etc.

8. Familia Paramyxoviridae

Include virusuri care afectează omul și animalele.

Clasificare

Familia Paramyxoviridae include 2 subfamilii:

- Subfamilia Paramyxovirinae care cuprinde 3 genuri:
 - Genul *Respirovirus*:
 - virusurile paragripale umane tip 1 și 3
 - virusuri paragripale murine și simiene
 - Genul *Rubulavirus*
 - virusurile paragripale umane tip 2 și 4
 - virusul urlian
 - virusuri aviare (v. Newcastle) și simiene
 - Genul *Morbillivirus*
 - virusul rujeolic
 - virusuri animale
- Subfamilia Pneumovirinae care cuprinde 2 genuri:
 - Genul *Pneumovirus*
 - virusul sincițial respirator (RSV) (uman)
 - virusuri sincițiale respiratorii animale
 - Genul *Metapneumovirus*
 - virusuri aviare

Caractere comune

Morfologie și structură

Virionii sunt anvelopați, având forme variate (filamentoși sau sferici), cu dimensiuni între 150-300 nm (Fig. 27).

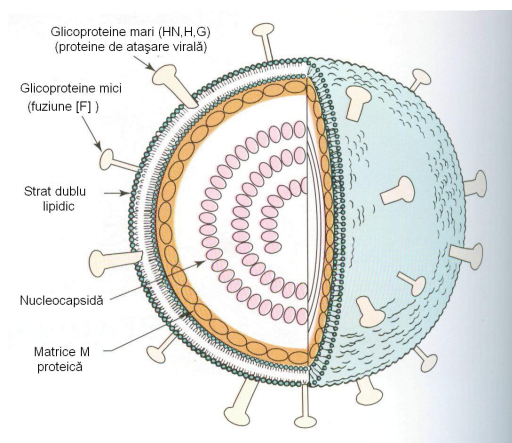


Fig.27: Model de paramyxovirus (modificată după Muray P., 2005)

Legendă: HN- Hemaglutnin-neuraminidaza, H- Hemaglutinina, G- Proteina G

Structura este asemănătoare, una dintre deosebirile esențiale între genuri fiind legată de prezența sau absența neuraminidazei.

- Anvelopa este de natură lipoproteică, prezentând spiculi glicoproteici, implicați în atașarea virionului la celula țintă. Natura și funcțiile acestor glicoproteine diferă în funcție de gen.

Anvelopa conține două glicoproteine: proteina F de fuziune și o proteină virală de atașare (proteina HN, H sau G).

- Genomul este ARN monocatenar, cu polaritate negativă.

8.1 Virusurile paragripale 1, 2, 3, 4

Patogeneză

Determină infecții ale tractului respirator, cu evoluție endemo-epidemică.

Virusul pătrunde în organism pe cale respiratorie și se replică la nivelul tractului respirator superior. În cazul adultului imunocompetent, infecțiile pot evolua asimptomatic sau cu manifestări respiratorii minore.

La sugari și copii mici se pot produce bronșite și pneumonii prin extinderea infecției la nivelul arborelui respirator inferior.

Imunitatea după infecție este de scurtă durată (maximum 12 luni), ceea ce explică frecvența crescută a reinfecțiilor.

Diagnostic de laborator

Serologie: Diagnosticul se realizează prin testarea în dinamică a anticorpilor specifici prin:

- hemaglutinoinhibare
- fixarea complementului
- ELISA
- RIA

8.2 Virusul urlian

Patogeneză

Virusul pătrunde în organism pe cale respiratorie. Infecția se răspândește prin salivă și secreția tractului respirator. Perioada de incubație este de 2-3 săptămâni.

După multiplicarea activă la nivelul porții de intrare și la nivelul ganglionilor regionali, urmează faza de viremie, cu visceralizări ulterioare la nivelul **organelor țintă: glandele salivare, testiculele, pancreasul, ovarele**. Infecțiozitatea maximă a persoanelor infectate este în perioada apariției primelor simptome, când virusul este eliminat atât prin salivă și secrețiile tractului respirator cât și prin urină și fecale.

Dintre organele țintă, cel mai frecvent afectate sunt **glanda parotidă** (parotidita urliană) și **testicolul** (orhita urliană). Replicarea virală determină modificări degenerative, edem interstițial și infiltrate limfoplasmocitare care determină inflamația și creșterea în volum a parotidei, respectiv testicolului.

În aproximativ 50% din cazuri infecția interesează sistemul nervos central (meningita urliană) ca urmare a infectării mononuclearelor.

Infecția testicolului sau ovarului poate duce la sterilitate.

Diagnostic de laborator

Serologia: Diagnosticul se bazează pe decelarea anticorpilor IgM specifici:

- fixarea complementului
- ELISA
- RIA

Profilaxie

Măsurile generale de izolare a bolnavilor nu sunt eficiente datorită numărului mare de infecții inaparente.

Profilaxia activă cu administrarea de vaccinuri vii atenuate și-a dovedit eficiența pe plan mondial. Există preparate monovalente, bivalente (anti-urlian + anti-rujeolic) sau trivalente (anti-urlian + anti-rujeolic + anti-rubeolic).

Schema de vaccinare folosită în România cuprinde:

- O primovaccinare cu 0,5 ml preparat trivalent antirujeolic-antirubeolic-antiurlian, inoculat im./sc. la vârsta de 12 luni
- Un rapel tot cu 0,5 ml preparat trivalent, inoculat im./sc. la 5 ani

8.3 Virusul rujeolic

Patogeneză

Calea de pătrundere a virusului în organism este cea respiratorie. După replicare activă la nivelul epitelului căilor respiratorii superioare (tropism epitelial), virusul este transportat de macrofage și ajunge în ganglionii regionali. Prin limfocitele infectate (tropism limfocitar) ajunge în sânge, producându-se o viremie primară, cu infectarea consecutivă a unor viscere (plămân, splină).

Caracteristic în această etapă de viremie primară este apariția de celule gigante reticulo-endoteliale multinucleate (până la 100 de nuclei) în țesuturile limfatice din amigdale, ganglioni, splină, apendice.

Urmează o viremie secundară cu diseminarea infecției în toate țesuturile limfoide și epiteliale. În această etapă, aspectul histologic caracteristic sunt celulele gigante epiteliale ce se observă la nivelul epiteliiilor tegumentare, mucoase, conjunctivale, respiratorii, digestive.

Hemograma arată o leucopenie importantă, datorată distrucției leucocitelor infectate.

Simptomatologia clinică

În perioada prodromală: febră, catar oculo-nazal, tuse.

În perioada de stare: erupție maculo-papuloasă inițial facială, cu extindere ulterioară pe trunchi și membre.

Erupția nu este cauzată prin efect citopatic viral direct ci prin reacția limfocitelor T citotoxice împotriva celulelor epiteliale tegumentare infectate. În plus, se formează complexe antigen-anticorp la nivelul endoteliului capilarelor. Astfel, erupția este de fapt dovada unui răspuns imun adecvat, în timp ce formele aneruptive denotă o deficiență a sistemului imun și au un prognostic rezervat.

Complicații

1. Imediate: - Encefalomielite acută (probabil autoimună)
 - Encefalita acută infecțioasă
 - Pneumonia cu celule gigante
2. Tardive: - Panencefalita sclerozantă subacută - la 2-10 ani de la infecția acută.

Diagnostic de laborator

Examen direct:

- evidențierea celulelor gigante multinucleate în amprente de mucoasă nazală
- Imunofluorescența - evidențierea antigenelor virale

Serologie:

Diagnosticul presupune testarea în dinamică a anticorpilor specifici (diagnostic pozitiv = creșterea de 4x a titrului) prin:

- hemaglutino-inhibare
- fixarea complementului
- ELISA
- RIA

Profilaxie

Se realizează cu vaccin trivalent antirujeolic-antirubeolic-antiurlian după schema descrisă la virusul urlian.

8.4 Virusul sincițial respirator

Patogeneză

Determină infecții respiratorii epidemice la sugari și copii mici.

Virusul pătrunde în organism pe cale respiratorie. Replicarea virală la nivelul epitelului căilor respiratorii superioare determină necroze. Infecția diseminează prin contiguitate, afectând celulele epiteliale ale căilor aeriene inferioare, cu producerea de bronșiolite necrozante. Ca urmare se produce blocarea parțială a bronșiolelor cu colapsul consecutiv al zonelor de parenchim pulmonar respective. Infiltratul inflamator peribronșic se poate extinde ducând la pneumonii interstițiale. Există și posibilitatea infecției inaparente. De asemenea, la pacienți imunocompromiși există posibilitatea infecției persistente.

Imunitatea post-infecțioasă nu este durabilă, astfel încât reinfecțiile nu sunt rare. Acestea s-ar putea explica și prin variațiile antigenice între diferite tulpini.

9. Familia Picornaviridae

Clasificare

Cuprinde virusuri cu tropism digestiv, respirator sau nervos care infectează omul și animalele. Virusurile implicate în patologia umană sunt grupate în 3 genuri:

- Enterovirus (virusuri implicate în patologia tractului digestiv, respirator și a sistemului nervos),
 - v. Poliomielitei
 - v. Coxsackie - grup A, grup B
 - v. ECHO
 - Enterovirusuri
- Rhinovirus (determină infecții ale tractului respirator), conține 115 serotipuri
- Hepatovirus
 - virusul hepatitic A (tratat la capitolul dedicat virusurilor hepatitice).

9.1 Genul *Enterovirus*

9.1.1 Virusul poliomieltic

Include 3 serotipuri:

- serotip 1 Brunhilde
- serotip 2 Lansing
- serotip 3 Leon.

Morfologie, structură, replicare

Virionii sunt de formă sferică, cu diametrul între 27-30 nm, lipsiți de anvelopă.

Capsida - cu simetrie icosaedrică. În componența capsidei intră 4 proteine structurale virale (VP1-VP4).

Genom - ARN monocatenar cu polaritate pozitivă.

Patogeneză

Infecția se transmite, în principal, pe cale fecal-orală, fiind însă posibilă și infectarea pe cale respiratorie.

Replicarea virală inițială are loc în țesutul limfoid faringian și intestinal (inclusiv la nivelul plăcilor Peyer). Urmează eliberarea virionilor în circulație (viremia), după care se produce invazia sistemului nervos central (virionii migrează de-a lungul axonilor).

Virusul are un **tropism extrem de pronunțat pentru țesutul nervos**. Are loc o infecție neuronală litică ce determină paralizii (secundare degenerescentei axonilor). Pe lângă aceste efecte celulare litice, se produce și un bogat infiltrat inflamator: infiltrate perivasculare limfocitare, proliferări microgliale, edem.

Porțiunea cea mai frecvent afectată sunt celulele din coarnele anterioare ale măduvei, ceea ce explică paralizii de tip neuron motor periferic la nivelul membrilor. Virusul nu se replică la nivel muscular.

În cazuri severe, centrii nervoși bulbari sau cerebrali pot fi afectați, cu producerea de paralizii respiratorii și deces. De asemenea, acest tip de simptome pot fi produse și prin infiltratul inflamator la nivelul sistemului nervos central, cu deosebirea că în aceste cazuri simptomele pot avea un caracter tranzitoriu.

Simptomatologia clinică

Perioada de incubație este de 1-2 săptămâni. Evoluția este variabilă:

- infecție inaparentă
- simptome minore (de tip pseudo-gripal)
- simptome majore (fază meningitică urmată de paralizii).

Cu excepția simptomelor majore, celelalte tipuri evolutive se pot vindeca fără sechele.

Simptomatologia minoră este dată de viremie, iar atunci când ea este urmată de simptome majore, între cele două etape poate exista o fereastră asimptomatică de câteva zile.

Simptomatologia majoră este uneori precedată de simptomele minore, alteleori debutul fiind de tip major (cefalee, febră, vărsături, redoare de ceafă). Faza meningitică se rezolvă adesea în 7 zile. În unele cazuri, ea este urmată de instalarea paralizii. Extinderea acestora variază de la o porțiune musculară până la afectarea generalizată a musculaturii scheletice (inclusiv mușchii respiratori). Paraliza este flască, de tip neuron motor periferic. În poliomielite bulbară se pot produce leziuni date de afectarea nervilor cranieni.

Imunitate

Răspuns umoral: Imunitatea naturală (dobândită prin trecerea prin infecție și/sau boală) este de durată și are specificitate de tip. Între v. poliomielitice tip 1 și 2 există imunitate încrucișată. Anticorpii neutralizanți sunt anti-VP1, - VP2 și - VP3.

Răspuns celular: Imunitatea celulară (limfocite T) este specifică și, împreună cu producerea locală de IgA, previne reinfectarea intestinului.

Profilaxie

Măsuri generale:

- spitalizarea bolnavilor pe toată durata bolii cu reintrarea în colectivitate a convalescenților după cel puțin 3 luni de la îmbolnăvire
- contacții sunt carantinați timp de 21 de zile, vaccinați și ținuți sub monitorizare zilnică
- dezinfecția și igienizarea riguroasă a domiciliului și conectivităților cazurilor de boală

Vaccinarea se realizează cu:

- vaccin inactivat (tip Salk) cu administrare parenterală (VPI)
- vaccin viu atenuat (tip Sabin) cu administrare orală (VPOT) – conține toate cele 3 tipuri de virus.

Programele naționale de vaccinare antipoliomielitice au contribuit hotărâtor la reducerea drastică a poliomielitei sau chiar dispariția ei din anumite zone geografice. În România vaccinarea se face în prezent cu vaccin antipoliomielitice trivalent viu atenuat (VPOT), după următoarea schemă:

- Administrarea a 3 doze de VPI, pe cale im., la 2, 4, 11 luni, ca și componentă în cadrul preparatului hexavalent – 0,5 ml;
- Revaccinarea se practică la vârsta de 6 ani, cu 1 doză de VPI+DTPa (preparat tetravalent).

Eradicarea poliomielitei:

Definiție: întreruperea circulației/transmiterii virusurilor poliomielitice sălbatice.

Pentru realizarea acestui deziderat (obiectiv) pe plan mondial, strategia OMS preconizează parcurgerea a câtorva faze:

Faza de precertificare a eradicării: inventarierea tuturor laboratoarelor care lucrează cu tulpini virale sălbatice și cu materiale potențial infecțioase (laboratoare cu nivel de biosecuritate 2).

Faza de sistare a transmiterii interumane – la 1 an de la ultima izolare de virus sălbatic; toate materialele potențial infecțioase sunt fie distruse în condiții de securitate biologică fie transferate în laboratoare speciale desemnate de către OMS.

Stoparea vaccinării cu VPO – ca urmare se va produce o creștere a masei de populație susceptibilă; materialele potențial infecțioase sunt manipulate strict în laboratoare cu nivel maxim de izolare (nivel de biosecuritate 4).

9.1.2 Virusurile Coxsackie

Sunt clasificate în două grupe:

- A - cuprinde 23 de serotipuri notate de la 1-22 și 24
- B - cuprinde 6 serotipuri (1-6)

Din punct de vedere morfo-structural și al replicării, virionii prezintă aceleași particularități cu cele descrise pentru v. poliomielitice.

Patogeneza

Infecția se transmite pe cale respiratorie sau digestivă. După o etapă de replicare virală activă la nivelul porții de intrare, are loc diseminarea pe cale hematogenă cu localizări secundare la nivel visceral. Simptomatologia este determinată de sediul acestor determinări viscerale și, ca urmare, poate fi deosebit de variată.

1. Herpangina - simptomatologia debutează brusc cu febră, disfagie. La nivelul mușchilor pilieri, amigdalelor și palatului apar leziuni veziculare. Evoluția este benignă, cu vindecare în curs de 1 săptămână.

2. Boala "gurii, mâinilor și picioarelor" - simptomatologia este similară cu cea din herpangină, la care se adaugă prezența de leziuni veziculare la nivelul mâinilor și picioarelor. Vindecarea survine în aproximativ 2 săptămâni.

3. Pleurodinia (boala Bornholm) - în cazul localizării infecției la nivelul diafragmului, apar dureri retrosternale, mialgii, febră, date de afectarea pleurală, la care se adaugă uneori și afectarea pericardică.

4. Miocardita - poate cauza decesul atunci când survine la nou-născut.

5. Alte localizări/manifestări: meningite, paralizii, hepatite, pancreatite, nefrite, infecții respiratorii, boli febrile cu/fără exantem, diarei estivale, „gripa estivală”/”boala minoră de vară”, conjunctivite, etc.

9.1.3 Virusurile ECHO (Enteric Cythopathic Human Orphans)

Reprezentanți ai acestui grup de virusuri au fost inițial izolați în materii fecale de la copii cu manifestări paralizice sau neparalizice (de aici componenta de citopatogeni enterici a denumirii). Desemnarea ca „orfani” se datorează faptului că încadrarea pe grupe de afecțiuni a fost mult timp dificilă. De altfel, și în prezent există un mare număr de serotipuri la care nu s-au putut identifica încă toate sindroamele clinice pe care le produc.

Virusurile ECHO determină infecții cu manifestări sporadice, epidemice sau endemice, manifestate prin:

- meningită asociată cu pareze (tipurile 4, 6, 11)
- miocardite (tipurile 9, 22)
- infecții respiratorii (tipurile 8, 11, 18, 19, 20)
- enterite de vară (tipurile 11, 14, 19, 20, 22)
- conjunctivite (tipul 7)
- paralizii faciale (tipul 9)
- pleurodinie (tipurile 6, 19).

Caracterele morfo-structurale și replicative sunt similare celor descrise pentru v. poliomieltic.

9.1.4 Alte Enterovirusuri

Sunt reprezentate de tipurile 68-71.

Enterovirusul 70 determină o conjunctivită hemoragică acută, asociată uneori cu fenomene respiratorii și simptome date de afectarea nervilor cranieni sau motori inferiori. Enterovirusul 71 poate determina o formă a „boliilor mâinilor-picioarelor-gurii”. De asemenea, enterovirusurile 70 și 71 au fost identificate și în cazuri de meningoencefalite.

Diagnostic de laborator – Genul *Enterovirus*

Serologie

Diagnosticul se bazează pe testarea în dinamică (seruri perechi) a prezenței anticorpilor specifici de tip, prin:

- reacția de seroneutralizare
- reacția de fixare a complementului

ELISA – permite diferențierea pe clase de Ig (A/M/G) dar nu suplinește seroneutralizarea.

O creștere de 4 ori a titrului de anticorpi constatată între cele două determinări este sugestivă pentru un diagnostic pozitiv, corelația cu aspectele clinice și epidemiologice fiind însă indispensabilă.

Biologie moleculară – detectarea antigenelor virale prin teste de hibridizare sau de amplificare genomică (PCR).

9.2 Genul Rhinovirus

Include virusuri care determină afecțiuni cu manifestări circumscrise în sfera căilor respiratorii superioare, de tip guturai („common cold”).

Au fost identificate până în prezent 115 serotipuri subampărțite în 3 grupe în funcție de receptorii celulari specifici.

10. Familia Rhabdoviridae

Clasificare

Familia Rhabdoviridae include două genuri cu importanță pentru patologia umană:

- Genul *Lyssavirus*
 - virusul rabic
- Genul *Vesiculovirus*
 - virusul stomatitei veziculare

10.1 Genul *Lyssavirus* -virusul rabic

Este agentul etiologic al rabiei (turbării). Boala se transmite prin mușcătura animalelor infectate. Sursa de virus este reprezentată atât de animale sălbatice (lupi, vulpi, lilieci, șobolani, etc) cât și de animale domestice (câini, pisici).

Morfologie și structură

Virionul are o formă alungită, caracteristică de "glonț" sau "obuz", cu diametrul de 70-80 nm și lungimea de 120-240 nm. El se compune din anvelopă, capsidă și genom.

- **Anvelopa** este alcătuită dintr-un strat dublu lipidic. La suprafața stratului proemină formațiuni glicoproteice - spiculi (glicoproteina G), iar în interior se găsește proteina M-proteina structurală majoră

Glicoproteina G este implicată în atașarea virionului la celula țintă, având și activitate hemaglutinantă.

- **Capsida** are simetrie helicoidală.

- **Genomul** este ARN monocatenar cu polaritate negativă.

Patogeneză

Virusul se transmite prin mușcătura animalelor infectate (excreție salivară intensă de virus). Într-o primă etapă el se multiplică la nivelul porții de intrare (în mușchi și țesutul conjunctiv). Incubația este variabilă (între 10 zile și 1 an) în funcție de localizarea și gravitatea plăgii mușcate infectante.

Datorită tropismului viral îngust pentru receptorii acetil-colinici ai joncțiunii neuro-musculare, genomul viral trece în axoplasma nervilor periferici din vecinătatea porții de intrare. După multiplicarea la acest nivel, infecția diseminează centripet (spre sistemul nervos central), pe traiectul nervilor periferici, invadând creierul (encefalita rabică).

După replicarea la acest nivel, virusul diseminează centrifug, de-a lungul nervilor periferici, ajungând să invadeze alte țesuturi, inclusiv glandele salivare.

Datorită leziunilor nervoase centrale și periferice se produc simptome specifice: hiperexcitabilitate, anxietate, spasm faringian, convulsii, paralizii. Evoluția este întotdeauna letală (Fig. 28).

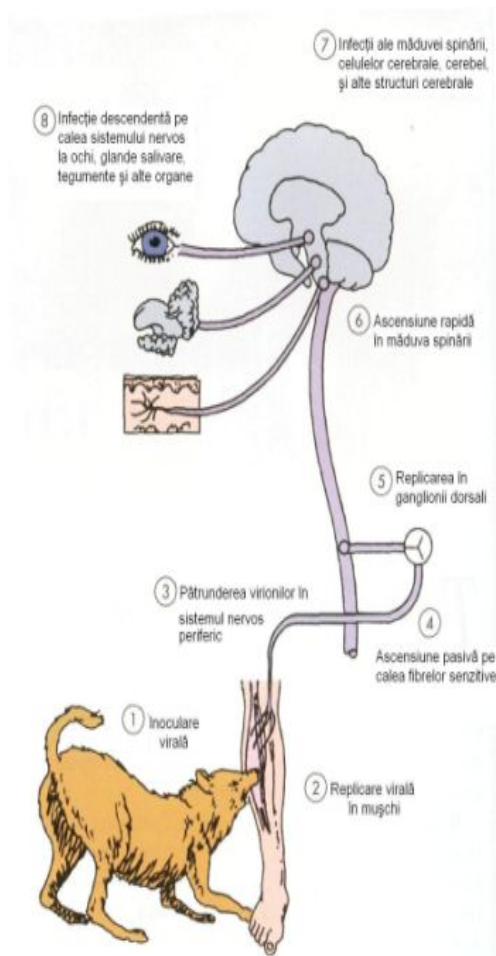


Fig. 28: Patogenia infecției cu virus rabic (după Muray P., 2005)

Diagnostic de laborator

Produsele patologice sunt reprezentate de salivă, lichid cefalo-rahidian, sânge. Post-mortem diagnosticul se poate pune prin prelucrarea prelevatelor de glandă salivară, creier.

Examen direct

Evidențiază antigene virale în preparatele mai sus amintite prin:

- Imunofluorescență
- ELISA.

În amprentele de țesut cerebral (cornul lui Ammon din hipotalamus) se pot observa aspecte patognomonice: corpusculii Babeș-Negri în citoplasma neuronilor infectați.

Serologia – decelarea de Ac rabici specifici în ser și în lichidul cefalo-rahidian prin:

- teste de seroneutralizare (decelează Ac anti-glicoproteina G)
- ELISA

Profilaxie

Imunizarea se realizează cu vaccin viral inactivat. În urma mușcăturii potențial infectante, profilaxia rabiei se realizează cu imunoglobulină umană specifică.

11. Familia Coronaviridae

Denumirea este sugestivă pentru spiculi dispuși sub forma de "coroana" la suprafața virionilor. Există 3 grupuri principale: alfa, beta și gamma-coronavirusuri care determină afecțiuni ușoare până la medii, la care se adaugă agentul cauzal al Sindromului Respirator Acut Sever: SARS-coronavirus (SARS-CoV) și Middle East Respirator Syndrome Coronavirus (MERS-CoV). Coronavirusul poate infecta atât omul cât și unele animale (maimuțe, câini, pisici, rozatoare). În luna decembrie 2019 în orașul Wuhan din China au fost înregistrate câteva cazuri de pneumonie acută de etiologie aparent virală. În ianuarie 2020 este identificată etiologia acestor pneumonii virale: un nou coronavirus de origine animală, denumit SARS-CoV-2, iar denumirea bolii este de Covid-19.

Morfologie, structură, replicare

Virionii au formă sferică sau ovoidală, cu dimensiuni între 75-160 nm.

Structura virionului include:

- **Anvelopa** - dublu strat lipidic la suprafața căruia proemină spiculi dispuși radiar (sub formă de "coroană"). Spiculi conțin glicoproteinele E1 (cu rol de matrice) și E2 (implicată în adeziunea virionului la celula țintă și în fuziunea membranelor celulare).
- **Capsida** are simetrie helicoidală și conține o proteină nucleocapsidică (N).
- **Genomul** este ARN monocatenar, cu polaritate pozitivă.

Replicarea se realizează după modelul replicării moleculelor ARN cu polaritate pozitivă.

Patogeneză

Infecția determină probabil distrucții la nivelul epiteliului respirator ciliat sau ale epiteliului gastro-intestinal, producând simptome de intensitate medie. Uneori, la copiii mici, infecția poate determina enterocolite necrozante.

Epidemiologie/simptomatologie clinica

Epidemia de SARS-CoV a debutat în China în anul 2002 și până la stingerea epidemiei în anul 2004 a determinat peste 8000 de îmbolnăvirii cu 774 decese (mortalitate 9,5%). Epidemia de MERS-CoV a debutat în anul 2012 în Arabia Saudită și a produs până în prezent 2521 îmbolnăviri cu 919 decese (mortalitate 35%).

Transmiterea noului coronavirus SARS-CoV-2 se face direct pe cale respiratorie. Este posibilă și transmiterea indirectă prin atingerea cu mână a unui obiect sau suprafețe contaminate și apoi atingerea gurii, nasului sau ochilor. Virusul a fost identificat și în scaun, dar transmiterea pe cale digestivă nu a fost probată până în prezent. Nu a fost dovedită transmiterea in utero, de la mamă la făt. Persoanele simptomatice sunt cele mai contagioase, dar contagiozitatea este prezentă și în perioada de incubație a bolii. Perioada de incubație este considerată, până în prezent, ca fiind de 2-14 zile. Clinic infecția cu SARS-CoV-2 se manifestă în principal cu febră și tuse, eventual dispnee. Formele de boală pot fi ușoare, până la forme severe cu pneumonie și insuficiență respiratorie acută. Rata mortalității este de 4%. Există numeroase infecții asimptomatice. Dată fiind prevalența ridicată, recenta lor distribuție în tot mai multe state europene și peste tot în lume, marea lor diversitate genetică, precum și recombinarea frecventă a genomului lor, aceste virusuri reprezintă în momentul de față o reală amenințare pentru sănătatea umană. Boala virală COVID-19 a făcut ravagii în cel puțin

114 țări și a ucis mai mult de 4.000 de persoane, iar în martie 2020 Organizația Mondială a Sănătății a declarat oficial pandemia.

Răspuns imun

Durata imunității naturale (dobândite prin infecție) este redusă (aproximativ 1 an), dat fiind că frecvența reinfecțiilor este ridicată. De asemenea, imunitatea are specificitate de tulpină. Un rol important se pare că l-ar juca imunoglobulinele de tip A (IgA) de la nivelul mucoaselor (protecție locală).

Tratament

Tratamentul este simptomatic și de susținere a funcțiilor vitale (în cazurile severe). Există mai multe medicamente cu acțiune antivirală experimentate în prezent (ex. remdesivir) și de curând imunoglobulinele specifice obținute de la foștii bolnavi. În prezent nu există un vaccin. Cercetări intense pentru obținerea acestuia se fac în mai multe țări.

Diagnostic de laborator

Serologia - Decelarea anticorpilor specifici este posibilă prin RFC, ELISA.

Diagnostic molecular: Diagnosticul infecției Covid - 19 se face prin detecția ARN viral în exudatul nazo faringian și spută prin RT- PCR.

12. Familia Reoviridae

Cuprinde virusuri ce produc infecții ale tractului respirator și digestiv sau infecții sistemice, dintre care 4 genuri cuprind agenți cu semnificație în patologia umană (restul de 5 genuri afectând pești, insecte și plante). Virusurile patogene pentru om sunt grupate astfel:

- Genul *Reovirus* (Orthoreovirus)
- Genul *Rotavirus*
- Genul *Orbivirus*
- Genul *Coltivirus*.

Caractere comune

Morfologie și structură

Din punct de vedere morfo-structural, virusurile aparținând familiei Reoviridae sunt similare, dar, din punct de vedere antigenic, ele sunt distincte.

Virionii sunt de formă sferică, neanvelopați, cu diametrul între 60-80 nm.

Capsida este constituită din două straturi și are simetrie icosaedrică. La Genul *Reovirus*, porțiuni ale stratului capsidal intern proemină la suprafața capsidei. La Genul *Rotavirus*, capsida exterioară este netedă, iar stratul intern are un aspect caracteristic zimțat.

Genomul este ARN bicatenar segmentat ce codifică 8-10 proteine virale.

12.1 Genul *Rotavirus*

Cuprinde 7 grupuri (A-G) implicate în afecțiuni gastro-intestinale acute la copii mici.

Patogeneză

Infecția se realizează pe cale digestivă. Localizarea și replicarea virală are loc la nivelul enterocitelor din vilozitățile intestinale.

Simptomatologia este reprezentată de febră, diaree și vărsături, ce pot determina deshidratarea.

Diagnostic de laborator

Serologia

Se bazează pe decelarea anticorpilor specifici prin fixarea complementului, ELISA, RIA.

Profilaxie

Cea mai eficientă intervenție este vaccinarea. Există în prezent vaccinuri sigure și eficiente împotriva infecției cu *Rotavirus A* cu administrare orală, preparate din virus viu atenuat. În 2009, OMS a recomandat includerea vaccinării anti-rotavirale în toate programele naționale de imunizare. În țările care au implementat această recomandare s-a constatat o scădere semnificativă a incidenței și severității acestor infecții.

13. Familia Togaviridae

Include virusuri ce infectează în mod obișnuit animale și artropode. Atunci când survin la om aceste infecții pot fi extrem de grave. Pentru patologia umană prezintă interes:

- Genul *Alphavirus*
- Genul *Rubivirus*.

Caractere comune

Morfologie și structură

Virionii sunt de formă sferică, anvelopați, cu dimensiuni de 40-70 nm.

Structura este reprezentată de:

- **Anvelopă** - de natură lipoproteică; cuprinde două glicoproteine (E1 și E2) care proemină în exteriorul virionului fiind totodată atașate la capsidă. Glicoproteina E1 are activitate hemaglutinantă.

- **Capsida** - are simetrie icosaedrică și conține o singură proteină structurală (C) și 3 proteine non-structurale (NS1, NS2, NS3).

- **Genomul** - ARN monocatenar, cu polaritate pozitivă.

Eliberarea virionilor din celulă se realizează prin înmugurire.

13.1 Genul *Rubivirus*

Include un singur reprezentant: **virusul rubeolic**.

Patogeneză

Pătrunderea virusului în organism se realizează pe cale respiratorie. La nivelul mucoasei rino-faringiene are loc o primă etapă de replicare virală activă. Urmează apoi migrarea la nivelul ganglionilor limfatici regionali și pătrunderea în sânge (viremie) (Fig. 29).

Sursa de virus este reprezentată de omul infectat care în perioada prodromală elimină virioni infecțioși prin secreția nazo-faringiană, precum și prin urină, fecale.

Boala devine manifestă după 2-3 săptămâni de la contaminare. Primul simptom este, de obicei, o erupție cutanată maculo-papuloasă cu localizare inițial facială și care se extinde ulterior. Simptomul caracteristic este însă adenopatia la nivel preauricular, occipital și latero-cervical.

Infecția congenitală constituie o formă extrem de gravă a infecției cu v. rubeolic. Dacă, de obicei, rubeola are o evoluție benignă, în cazul în care infecția survine la femeia însărcinată, urmările asupra produsului de concepție sunt extrem de severe:

- decesul fătului în uter
- malformații congenitale cardiace, oculare (cataracta congenitală, retinopatii, glaucom), ale sistemului nervos (microcefalie), viscerale (hepatosplenomegalie, diabet).

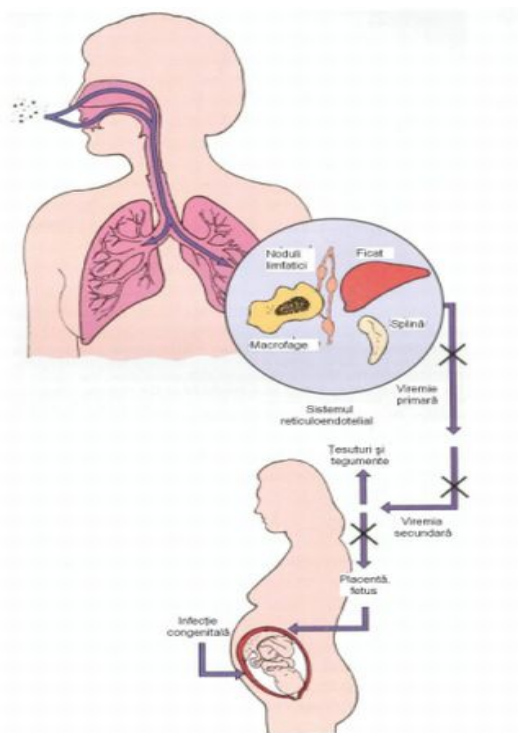


Fig. 29: Răspândirea virusului rubeolei în organismul gazdă (modificată după Muray P., 2005)

Profilaxie

Se realizează cu vaccin trivalent anti-rubeolic-anti-rubeolic-anti-urlian după schema descrisă la virusul urlian.

Diagnostic de laborator

Serologie

- Hemaglutino-inhibare
- Latex-aglutinare
- ELISA
- RIA
- Imunofluorescență indirectă

14. Virusurile hepatitice

Sub această denumire sunt grupate virusuri care deși aparțin unor familii distincte, cu caracteristici diferite (genom, replicare, evoluție a infecției, căi de transmitere), au în comun tropismul principal pentru hepatocite. Ca urmare, toate aceste virusuri determină hepatite cu manifestări clinice variabile:

- infecții asimptomatice
- simptome clinice acute: fatigabilitate, grețuri, vărsături, febră, icter
- forme clinice anicterice cu simptomatologie atipică (pseudo-gripală, pseudo-reumatismală, manifestări cutanate eruptive)
- hepatopatii cronice (simptomatice sau asimptomatice).

După simptomatologia clinică, diferitele tipuri de agenți infectanți nu pot fi diferențiați. Până în prezent au fost identificate 9 virusuri hepatitice, însă se pare că lista agenților încadrabili în acest grup generic rămâne deschisă (tabel 25).

14.1 Virusul hepatitic A (HAV)

Aparține genului *Hepatovirus* din familia Picornaviridae. Anterior HAV a fost clasificat ca aparținând genului *Enterovirus* (desemnat ca enterovirus 72) însă deosebiri constatate între HAV și enterovirusuri privind rezistența în mediul extern, la agenți fizici și chimici, au determinat actuala încadrare.

Morfologie și structură

Virionul are formă sferică, având diametrul de 27-32 nm. Nu prezintă envelopă.

Capsida are simetrie icosaedrică iar genomul este ARN monocatenar, cu polaritate pozitivă. În compoziția capsidei intră 4 proteine virale structurale (VP1-VP4) și 7 proteine nestructurale asociate cu mecanismele de replicare.

Proteinele structurale ce formează subunitățile nucleocapsidei sunt situate la capătul NH₂-terminal, iar replicaza virală specifică se găsește la capătul COOH-terminal al proteinei precursoare (Fig. 30).

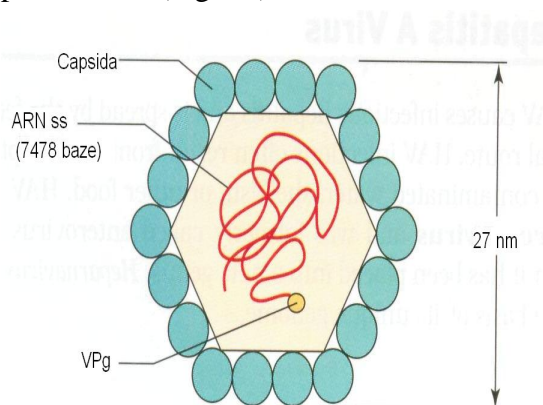


Fig. 30: Structura HAV (după Muray P., 2005)

Legendă: ARNss- ARN simplu spiralat,
VPg – Proteină virală genomică

Patogeneză

Calea de pătrundere a HAV în organism este cea fecal-orală. Infecția este favorizată de faptul că HAV are capacitatea de a rezista perioade îndelungate în mediu umed. Sursa de infecție este omul bolnav care, mai ales în perioada preicterică, este un intens excretor de virus.

Contaminarea fecală a surselor de apă, în zone cu standard igienico-sanitar scăzut, constituie modalitatea principală de infectare.

Datorită dificultăților în izolarea HAV și imposibilității de creștere în culturi celulare, etapele mecanismului patogenic nu sunt complet elucidate.

În orice caz, sediul inițial de replicare al HAV este intestinul. Urmează apoi o perioadă scurtă de viremie după care virusul ajunge la nivelul ficatului. Replicarea virală în hepatocite determină necroza acestora, însoțită de reacția inflamatorie locală. HAV nu produce efect citopatic direct. Modificările hepatocitare (liza, necroza) sunt conștința răspunsului imun al gazdei.

Aspecte clinice

Perioada de incubație este de 20-50 zile. Frecvența infecțiilor asimptomatice este crescută, mai ales la copii.

Formele clinic manifeste debutează de obicei cu fenomene digestive (grețuri, vărsături) urmate de icter la nivelul tegumentelor și mucoaselor. Faza icterică se remite în decurs de o lună.

Vindecarea este regula (complicațiile sunt extrem de rare, mortalitatea scăzută - vezi tabel 22) și este urmată de o imunitate durabilă (anticorpi protectori).

Virus	Familie Genom	Transmitere	Debut	Incubație	Severitate în infecția acută	Mortalitate în faza acută	Cronicizare
A	Picornaviridae ARN	fecal-orală	acut	20-50 zile	medie	sub 0,5%	NU
B	Hepadnaviridae ADN	-parenterală -sexuală - verticală - intrafamilială	acut sau insidios	45-160 zile	uneori ridicată	1-2%	DA
C	Flaviviridae ARN	-parenterală -sexuală -verticală	variabil	14-180 zile	de obicei forme subclinice	05-1%	DA
D	viroid-like ARN	-parenterală -sexuală	variabil	15-60 zile	variabilă	ridicată	DA
E	Hepeviridae ARN	fecal-orală	acut	15-50 zile	medie sau severă	1-2% Gravide: 20%	NU
F	Virus "ipotetic" ADN	Non-parenterala	Acut?	?	?	?	?
G (GB)	Flaviviridae ARN	parenterală	?	?	?	?	posibilă ?
TT	Circinoviridae	parenterală (transfuzii)	?	?	variabilă	?	DA
PM	Circoviridae (prop.)	?	?	?	?	?	

Tabel 22:
Virusuri
hepatitice
identificate până
în prezent

Diagnostic de laborator

A. Diagnostic direct - este dificil de realizat deoarece perioada de excreție fecală a virionilor este scurtă.

B. Serologia - Diagnosticul unei hepatite virale A se bazează pe evidențierea **anticorpilor serici specifici IgM anti-HAV** prin tehnica imunoenzimatică (**ELISA**) sau prin test radioimun (**RIA**). A se vedea îndreptarul LP.

Profilaxie

Profilaxia nespecifică se referă la măsuri cu caracter igienico-sanitar, caracteristice pentru prevenirea infecțiilor cu transmitere fecal-orală.

Profilaxia specifică constă în imunizarea pasivă cu gama-globuline polivalente este eficace mai ales înaintea expunerii sau cel mult în decurs de 15 zile de la aceasta. Durata protecției este de 4-6 luni.

Imunizarea activă (vaccinarea) se realizează cu vaccin viral inactivat, cu administrare intramusculară, a cărei eficiență a fost dovedită.

14.2 Virusul hepatitic B (HBV)

HBV aparține familiei *Hepadnaviridae* (virusuri ADN care infectează ficatul), fiind încadrat în genul *Orthohepadnavirus*. Alături de HBV, implicat în patologia umană, familia mai include virusuri similare care infectează unele animale (marmota, rața, veverița).

Morfologie și structură

Virionul complet (particula Dane) are diametrul de 42 nm. Alături de virioni compleți, în sângele pacienților infectați se mai observă formațiuni sferice sau tubulare cu diametrul de 22 nm care reprezintă de fapt antigen de suprafață (AgHBs) produs în exces.

Structura unui virion complet include: anvelopa, capsida și genomul.

HBV (Fig. 31) este un virus ADN circular, parțial dublu catenar. Virionul este constituit dintr-un "miez" ("core") și un înveliș exterior lipoproteic conținând antigenul de suprafață al HBV (AgHBs).

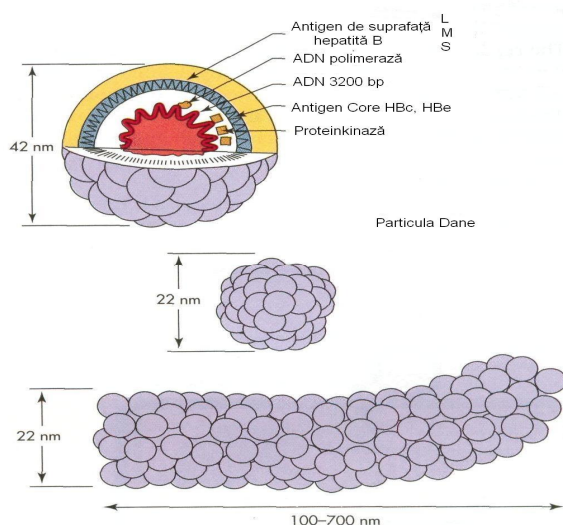


Fig. 31: Virusul hepatitei B (particula Dane) (după Muray P., 2005)

Legendă: L,M,S- forme L,M,S ale antigenului HBs; bp – baze perechi

Antigenul HBs include trei glicoproteine (L,M,S) codate de aceeași genă.

Cu ajutorul microscopiei electronice s-au depistat 3 feluri de particule cu înveliș în serul pacienților infectați cu HBV.

Așa-numitele **particule Dane** reprezintă virionul intact, infecțios.

Particulele sferice și filamentoase (tubulare), fără miez, sunt constituite din **AgHBs** și din lipide provenite de la celula gazdă. Acestea nu sunt infecțioase și sunt produse în timpul infecției în cantitate foarte mare. Ele reprezintă primul marker serologic al infecției HBV. Numărul lor este de 100-1000 de ori mai mare decât al particulelor Dane.

ADN-ul viral este strâns legat de ADN-polimerază, enzima necesară replicării virale. Ambele sunt înconjurată de un înveliș intern constituit din proteine care reprezintă antigenul "core" al HBV (AgHBc). **AgHBc** este prezent în hepatocite la pacienții infectați. Este puternic imunogen și aproape toți pacienții infectați dezvoltă anticorpi anti-HBc (AcHBc). Probabil se produce și o reacție în limfocite T. Reacția imună împotriva AgHBc joacă probabil un rol hotărâtor în eliminarea virusului. AgHBc nu apare în sânge.

O parte componentă solubilă a AgHBc este însă secretată și apare în ser: antigenul "e" (**AgHBe**). AgHBe în ser denotă o replicare activă a virusului. Anticorpii anti-HBe (AcHBe) se dezvoltă în cazul infecției acute la săptămâni sau chiar luni după apariția AcHBc și marchează de regulă sfârșitul replicării virale.

Genomul HBV. ADN-HBV are o structură deosebită, caracteristică. Este cel mai mic genom ADN viral cunoscut dintre cele care infectează omul și animalele. Structura sa este asimetrică și constă dintr-un lanț lung circular, cu polaritate negativă (L) care este legat de un lanț scurt, cu polaritate pozitivă și cu lungime variabilă (S). Această asimetrie este hotărâtoare pentru replicarea virală.

Genomul HBV conține 4 cadre libere de citire sau "open reading frames" (ORF) la nivelul lanțului lung (L-). Genele (ORF) core (pre-C și C) codifică pentru genele P (Pol) și S (Surface). În afară de acestea, există o genă (ORF) X, denumită astfel deoarece la momentul evidențierii acestei gene produsul său și funcția acestuia erau necunoscute. De altfel, și în prezent funcțiile genei X sunt neclare. AgHBx poate fi decelat în ficatul multor pacienți infectați cu HBV. Se pare că AgHBx amplifică replicarea virală prin activarea transcripției și, în unele condiții, participă la hepatocarcinogenază.

Despre ADN-polimerază se cunosc puține aspecte dar este demonstrat că ea este sintetizată independent de produsele genice core (ale miezului).

Variabilitate genetică

Genomul HBV este relativ stabil. Variațiile virale se produc în special în cazul infecțiilor cronice cu evoluție îndelungată.

S-a descris de asemenea existența de mutante virale defective de AgHBe sau mutante care scapă detectării prin AcHBs („escape mutants”).

Antigene și anticorpi (markeri serologici)

Trei sisteme majore antigen-anticorp sunt operante în cursul infecției HBV (acute sau cronice). Acestea sunt:

- antigenul de suprafață (AgHBs) și anticorpii față de acesta (AcHBs)
- antigenul miezului ("core") (AgHBc) și anticorpii față de acesta (AcHBc de tip IgM și IgG)
- antigenul "e" (AgHBe) și anticorpii față de acesta (AcHBe).

AgHBs se găsește atât în ser cât și intrahepatocitar, sub formă liberă (sfere, tubuli) sau încorporată în particulele Dane.

AgHBc se găsește doar în nucleul hepatocitelor infectate (nu apare în ser), însă o porțiune solubilă a sa este eliberată prin proteoliză la nivelul membranei hepatocitare ajungând astfel în sânge sub forma **AgHBe**. Cu alte cuvinte, prezența AgHBe în ser denotă prezența AgHBc în hepatocit și replicarea virală activă (tabel 23).

Tabel 23: Markerii serologici în infecția HBV

Marker	Semnificație	Pozitiv în:
ANTIGENE		
AgHBs	antigen de suprafață (neinfecțios per se)	infecții acute și cronice
AgHBe	- componentă a miezului viral - prezența serică denotă infecțivitate	infecții acute și cronice
ADN- polimeraza	Idem	idem
ANTICORPI		
AcHBs	- infecție vindecată - imunitate persistentă	- convalescență - după vaccinare
AcHBe	- replicare virală diminuată - infecțivitate scăzută sau absentă	- convalescență - infecții cronice cu replicare virală redusă - infecții cronice cu mutante virale
AcHBc	IgM - infecție recentă	primul anticorp care se pozitivează în infecția acută * se poate pozitiva în pusee de reactivare ale unor infecții cronice
	IgG - infecție în antecedente	- markerul cu persistența cea mai înelungată

Patogeneză

Hepatocitele nu sunt singurele celule ce pot fi infectate de HBV. Astfel, celulele epiteliale ale căilor biliare, celulele endoteliale hepatice, pancreatice, renale, tegumentare, leucocitele pot fi de asemenea infectate și ele joacă probabil un rol în transmiterea virusului sau în persistența sa în organism. Infecția cu HBV se realizează total diferit de cea cu HAV.

HBV se transmite prin: expunere perinatală, contact sexual, contact cu sânge și produse de sânge, transplant de organe și țesuturi, manopere percutane cu instrumente contaminate.

În urma replicării active a HBV intrahepatocitar, un mare număr de virioni compleți (particule Dane) precum și particule incomplete sferice și tubulare (AgHBs) sunt eliberați în sânge. Viremia HBV este extrem de ridicată ceea ce explică contagiozitatea extrem de mare a subiecților infectați.

În timpul infecției acute, modificările hepatice sunt similare cu cele din infecția cu HAV, cu deosebirea că o parte din hepatocite prezintă aglomerări extrem de importante de AgHBs produs în exces. În cazurile de infecții cronice HBV, aspectele histologice hepatice variază de la modificări minimale până la noduli cirofici ce constituie, la o parte din cazuri, stadii precoce ale dezvoltării carcinomului hepatocelular primar.

Sindroame clinice

Tipurile de infecție HBV sunt mult mai variate decât în cazul HAV, evoluțiile fiind influențate de o serie de factori legați de organismul infectat (vârsta la care survine infecția, sex, starea sistemului imun).

1. Hepatita acută - inaparentă
 - simptomatică (tipică sau atipică)
2. Hepatopatii cronice - status de purtător asimptomatic
 - hepatite cronice
 - ciroza hepatică
 - carcinom hepatocelular primar

1. Hepatita acută

a) Forma inaparentă sau asimptomatică poate fi decelată doar accidental prin teste biochimice denotând citoliză hepatică moderată. Se apreciază că aproximativ o treime din infecțiile acute HBV sunt asimptomatice.

b) Forma simptomatică poate evolua tipic, cu fenomene digestive, fatigabilitate și icter sau atipic (anicteric, cu fenomene pseudo-reumatismale, pseudo-dermatologice, etc). Se pare că doar o treime dintre infecțiile acute HBV evoluează simptomatic tipic.

2. Hepatopatii cronice

a) Statusul de purtător asimptomatic - prezența în sânge a AgHBs asociată sau nu cu AcHBc de tip IgG (restul markerilor - negativi). La nivel hepatic nu se constată modificări.

b) Hepatitele cronice și ciroza hepatică

- serologic: AgHBs asociat sau nu cu markeri de replicare virală
- histologia hepatică denotă grade diferite de afectare (de la modificări minimale la fragmentarea parenchimului în noduli cirofici)

c) Carcinomul hepatocelular primar - apare prin malignizarea unei ciroze induse de HBV sau poate surveni fără ciroză premergătoare. Se pare că în carcinogeneza indusă de HBV un rol important îl are integrarea ADN-HBV în genomul hepatocitar.

La adult, în aproximativ 90% din cazuri, infecțiile HBV evoluează favorabil, cu eliminarea virusului din organism, vindecarea leziunilor hepatice și imunitate durabilă (AcHBs persistă în general toată viața). Doar 10% dintre adulți nu pot elimina virusul (cauzele nu sunt pe deplin elucidate) devenind astfel purtători cronici HBV.

În cazul copiilor, infecția HBV are un prognostic mult mai rezervat, în sensul că rata cronicizării este cu mult mai mare. De fapt probabilitatea de cronicizare a unei infecții HBV crește invers proporțional cu vârsta subiectului infectat. Astfel, la nou-născuții din mame infectate (transmitere perinatală) rata cronicizării poate ajunge la 90%.

Diagnostic de laborator

A. Teste specifice

1. Metodele imunoenzimatică Prin ELISA se decelează prezența markerilor serologici ai HBV care sunt reprezentați de cele 3 sisteme majore antigen-anticorp care operează în cursul infecției, și anume: antigenul de suprafață al HBV (AgHBs) și anticorpul față de acesta (AcHBs), antigenul miezului ("core") (AgHBc) și anticorpul față de acesta (AcHBc) și antigenul "e" (AgHBe) și anticorpul corespunzător (AcHBe).

Tabel 24: Principalele asocieri de markeri în hepatita B

Antigene		Anticorpi anti-			Comentarii
HBs	HBe	HBc	HBe	HBs	
+					-fază acută foarte precoce -bolnav foarte infectios
+	+				-fază acută precoce -bolnav foarte infectios
+	+	+			-fază acută peste 14 zile după instalarea viremiei -bolnav foarte infectios -acelasi profil în hepatita virală B cronică
+		+	+		-fază acută (la finele evoluției) -bolnav infectios,prognostic bun -purător cronic în general asimptomatic
		+	+		-faza de convalescență -bolnavul poate fi încă infecțios (ADN HBV detectabil uneori în seruri AgHBe negative) -purător cronic sau subiect imunizat (AgHBs sau AcHBs nedecelabili serologic)
		+	+	+	-vindecare -bolnav neinfecțios,subiect imunizat
		+		+	-vindecare, antecedente îndepărtate de hepatită virală B
		+			-contaminare veche
				+	-subiect vaccinat cu vaccin anti-HBV -seroprotecție prin IgG-HBs

2. Microscopia electronică nu este de uz curent.

3. Tehnici de biologie moleculară

A se vedea Indreptarul de LP.

B. Teste nespecifice

Sunt utile pentru a stabili gradul de afectare hepatică, fără a putea da o orientare etiologică. Astfel, în infecția acută și în puseele de reactivare ale infecțiilor cronice se constată:

- creșterea alanin-aminotransferazei și a altor enzime hepatice
- scăderea protrombinemiei
- creșterea bilirubinemiei.

Profilaxie

Măsurile nespecifice. Acestea se referă la măsurile generale de protecție împotriva infecțiilor cu transmitere parenterală (testarea corectă a sângelui transfuzat, sterilizarea corectă a instrumentarului utilizat în manoperele parenterale, etc.) și sexuală (contact sexual protejat).

Măsuri specifice

-Profilaxia pasivă. Eficacitatea imunoglobulinelor specifice anti-HBs în prevenirea infecțiilor HBV a fost demonstrată. Imunizarea pasivă a fost utilizată fie ca protecție după expunerea la riscul de infectare, ca de exemplu în cazul unei înțepături accidentale, fie ca tratament preventiv administrat regulat personalului din unități de hemodializă cronică, înainte de era vaccinurilor anti-HBV.

-Profilaxia activă. Vaccinurile utilizate inițial au fost derivate din plasma purtătorilor HBV. Ulterior, au apărut vaccinuri produse prin inginerie genetică (vaccinuri recombinante). Aceste vaccinuri recombinante se caracterizează prin faptul că nu conțin virus integral ci doar AgHBs, fiind deci intens imunogene.

Strategia de vaccinare aplicată în România combină:

1. **Vaccinarea nou-născuților:** Prima doză de 0,5 ml se administrează im. în primele 24 h după naștere iar următoarele 3 doze la 2, 4 și 11 luni în cadrul vaccinării hexavalente.
2. **Vaccinarea profilactică preexpunere:** Se adresează eventual studenților din învățământul medical, anterior nevaccinați (colegii medicale, facultăți de Medicină, Medicină Dentară, etc.). Vaccinarea se aplică și adulților cu risc, nevaccinați anterior. Se inoculează intramuscular 3 doze de 0,5 ml (la copiii de până și inclusiv 15 ani) sau 1 ml (peste această vârstă) la 0, 1 lună și 6 luni de la începutul vaccinării.
3. **Vaccinarea profilactică postexpunere** se adresează personalului medical cu risc profesional major sau contactilor sexuali ai persoanelor cu hepatită acută sau cronică de tip B.

14.3 Virusul hepatitic D (HDV, agentul delta)

Agentul cunoscut ca HDV (virus hepatitic D) a fost decelat sub forma unui nou antigen nuclear care apărea în hepatocitele unor pacienți infectați cu HBV. Acesta a fost denumit antigen delta (AgHD) și este frecvent asociat cu forme mai severe de hepatită. S-a demonstrat ulterior că AgHD intră în compoziția unor particule virale defective de 35-37 nm. care apar în titru ridicat comparativ cu cel al particulelor HBV "helper".

Morfologie și structură

Particulele HDV sunt constituite dintr-o anvelopă externă lipidică ce conține AgHBs, care încapsidează AgHD și o moleculă mică de ARN monocatenar, circular, covalent închis. Aceste proprietăți neobișnuite se aseamănă cu cele ale ARN-urilor unor particule viroid-like, sateliți ai unor virusuri ai plantelor care influențează dramatic evoluția bolii inițiate de virusul helper.

HDV este un viroid de 35 nm, cu dublă anvelopă. Sinteza anvelopei externe, constituită din AgHBs, depinde de HBV, deoarece HDV este un virus defectiv. În schimb, sinteza anvelopei interne, formată de antigenul delta (AgHD), depinde de genomul HDV. Deși există un număr de cadre libere de decodare (ORF), s-a demonstrat că doar un singur ORF codifică proteina virală.

Replicare

După pătrunderea într-o celulă, ARN-HDV se replică eficient fără a necesita nici o intervenție a HBV, sugerând că funcția "helper" HBV (poate singura) este de a asigura intrarea în celulă prin interacțiunea suprafeței celulare cu anvelopa virală conținând AgHBs.

Patogeneză

Infecția HDV nu se poate produce în absența HBV, deci transmiterea HDV se produce de obicei pe cale parenterală, în mod similar cu transmiterea HBV. De menționat că transmiterea pe cale sexuală este mai puțin eficace decât în cazul HBV.

Principalele **grupe de risc** pentru infecția HDV sunt toxicomanii care folosesc droguri cu administrare intravenoasă (prin folosirea în comun a acelor și seringilor), pacienții cu tratamente injectabile multiple cu fracțiuni plasmatiche, imigranții din zonele delta-endemice și purtătorii HBV supuși riscului infecției cu HDV.

Incubația hepatitei delta este cuprinsă între 21-60 de zile, debutul este de obicei acut, iar prezența icterului este foarte variabilă.

Portajul cronic face parte din evoluție și stă la originea a peste 30% din decesele raportate în formele cronice. Există două forme de infecție acută: co-infecția și suprainfecția.

În cazul co-infecției, subiectul este simultan infectat cu HBV și HDV. Evoluția spre cronicizare este rară (5% din cazuri). Detectarea ARN-HDV în ser și a AgHD în ficat sunt posibile în cursul incubației, ulterior apariției AgHBs în ser. Creșterea valorilor transaminazelor, adesea difazică, acompaniază icterul și simptomele subiective, rapid urmate de apariția anticorpilor anti-HDV. După dispariția AgHBs, replicarea HDV și boala diminuează. De semnalat că doar serologia permite supoziția de co-infecție HBV-HDV.

În cazul suprainfecției cu HDV a unui purtător cronic de HBV, evoluția spre cronicizare se produce în peste 80% din cazuri, cu persistența AgHD în ficat. Mortalitatea formelor acute este de 2-20% și este determinată de evoluțiile fulminante. Deci, formele cronice rezultă cel mai des prin suprainfecția unui purtător cronic HBV. Această formă se caracterizează prin creșterea nivelurilor transaminazelor cu caracter persistent, însoțită de apariția anticorpilor anti-HDV care sunt prezenți în titruri mari, durabile. ARN-HDV persistă în ser și 70-80% din formele cronice evoluează spre ciroză. Această evoluție se produce adesea în mai puțin de 2 ani (15% din cazuri).

Diagnostic de laborator

A. Serologia

Serodiagnosticul infecției HDV se bazează în principal pe teste pentru evidențierea AcHD, având în vedere că AgHD are o perioadă foarte scurtă de prezență în ser. Există teste disponibile atât pentru IgM-HD cât și pentru IgG-HD (tabel 25).

Tabel 25: Diagnosticul serologic al infecției cu HDV

Markeri	Coinfecție acută	Suprainfecție acută	Hepatită D cronică
AgHBs	+	+	+
IgM-HBc	+		
Ac-HD	+, titruri slabe, tranzitorii 1	+, titruri în creștere, durabile 2	+, titruri ridicate, durabile 3
HDV în ficat	+	+	++

1, 2 și 3: se efectuează minimum 2 testări succesive (în faza acută și în convalescență), deoarece Ac-HD pot fi tranzitorii, în titruri scăzute și cu apariție tardivă în timpul fazei acute.

B. Tehnici de biologie moleculară

- Decelarea ARN-HDV prin PCR

14.4 Virusul hepatitic C

Este principalul agent al hepatitelor desemnate anterior drept "non-A-non-B". În prezent HCV este încadrat în familia Flaviviridae, care a fost recent subdivizată în 3 genuri:

- **genul Flavivirus** - include foste arbovirisuri (v. febrei galbene, v. febrei Denga, vezi „Familia Flaviviridae”)
- **genul Pestivirus** - virusuri implicate în patologia animală
- **genul Hepacivirus** - nume propus pentru diferitele variante de HCV

Morfologie și structură

Virionii de formă sferică au diametrul cuprins între 55-65nm. Structura virionului include:

- anelopa - de natură lipo-proteică (strat lipidic în care sunt inserate 2 proteine organizate în complexe dimerice: E1 și E2)
- capsida - cu simetrie icosaedrică
- genomul - ARN monocatenar cu polaritate pozitivă.

Genomul HCV codifică o poliproteină ce este ulterior clivată rezultând proteinele virale funcționale structurale și nestructurale.

Replicare

Virusul se replică în principal în hepatocite unde se estimează că zilnic, fiecare celulă infectată produce în jur de 50 virioni cu un total estimat de un trilion de noi particule virale generate. De asemenea, replicarea virală are loc și în mononuclearele din sângele periferic ceea ce ar putea explica tulburările imunologice care survin la pacienții cu infecții cronice.

Variabilitate genetică.

Este importantă, de ordinul 10³ mutații/nucleotid/an fapt care determină existența de multiple secvențe în tulpini variate izolate pe plan mondial. Ca urmare a hipervariabilității genetice constatate în cazul HCV s-a ajuns la identificarea de **tipuri și subtipuri de molecule ARN-HCV**: 11 genotipuri (notate 1, 2, 3, ...etc.), mai multe subtipuri (notate a, b, c, ...etc.) și peste 100 de tulpini diferite (notate 1, 2, 3, ...etc.), între care, până în prezent nu s-a putut demonstra recombinația.

Patogeneză

Infecția HCV se poate transmite prin mai multe căi, conturându-se astfel grupe de populație cu risc crescut de infectare: receptorii de transfuzii de sânge, toxicomanii (folosirea în comun a seringilor), partenerii sexuali ai persoanelor infectate, nou-născuții mamelor infectate.

a) Manifestări hepatice

Indiferent de calea de infectare, după o incubatie de până la 180 de zile, survine un episod de hepatită acută simptomatică sau asimptomatică. Formele icterice sunt extrem de rare. De cele mai multe ori, simptomatologia hepatică poate trece neobservată, ea fiind acompaniată de simptome atipice (90% din cazuri). Testele de hepatocitoliză sunt elevate în cursul fazei acute. Formele fulminante sunt o excepție.

În 60-80% din cazuri, virusul nu poate fi eliminat și infecția se cronicizează. Hipervariabilitatea genetică a HCV joacă un rol important în cronicizare (mutante care scapă recunoașterii de către sistemul imun al gazdei). De asemenea, mecanisme reglatoare

complexe permit ca nivelul replicării HCV să fie scăzut, compatibil cu "supraviețuirea" hepatocitului. În unele cazuri se discută implicarea mecanismelor autoimune.

Infecția cronică HCV este de asemenea pauci- sau asimptomatică, cu hepatocitoliză moderată sau chiar absentă (fluctuații ale valorilor transaminazelor). Histologia hepatică este oarecum caracteristică (evocatoare) pentru infecția HCV: aspecte de inflamație portală și lobulară asociate cu necroză periportală, la care se adaugă leziuni de steatoză hepatică.

Riscul de dezvoltare a unei ciroze hepatice și / sau a carcinomului hepatocelular primar există și este augmentat în cazul asocierii altor factori de agresiune hepatică (alcool, infecție HBV cronică).

b) Manifestări extrahepatice

Sunt urmarea faptului că HCV nu posedă numai tropism hepatocitar. Patologia extra-hepatică indusă de HCV cuprinde o serie de afecțiuni cu mecanisme patogenetice mai mult sau mai puțin elucidate:

1 - Anomalii imunologice

Mecanisme:

- formare de complexe imune circulante (crioglobulinemiile mixte anterior considerate "esențiale")

- mecanisme autoimune

Manifestări clinice: cutanate (purpură), articulare (artrite), nervoase (neuropatii senzitive periferice), renale (glomerulonefrita membrano-proliferativă), tiroidiene (tiroidite autoimune)

2 - Porfirie cutanată tardivă (forma sporadică) - deficiența enzimei hepatice uroporfirinogen-decarboxilaza

Mecanism: incomplet elucidat (probabil HCV joacă rol de declanșare a maladiei pe un fond genetic predispus)

3 - Lichenul plan - legătură incomplet elucidată cu infecția HCV

4 - Sindromul Gougerot-Sjogren - (sialadenita limfocitară) - idem

Diagnostic de laborator

A. Metode indirecte - Serologia

Clonarea genomului HCV a permis producerea în cantități mari de proteine recombinante și peptide de sinteză codate de genele structurale și nestructurale ale virusului. Aceste antigene virale sunt utilizate în testele serologice, permițând detectarea specifică a anticorpilor anti-HCV. Diagnosticul presupune utilizarea a două tipuri de teste: 1. de depistare și 2. de validare (de confirmare). A se vedea îndreptarul de LP.

1. Teste de depistare - ELISA - proteinele recombinante (antigenele) virale sunt fixate pe suportul solid (polistiren, nitroceluloză), iar detectarea anticorpilor specifici se realizează prin imunocaptură.

2. Teste de validare - utilizează tehnici de imuno-blotting - RIBA (Radio-immunoblot-assay)

B. Metode directe - Tehnici de biologie moleculară

- PCR (Polymerase Chain Reaction)

- NASBA (Nucleic Acid Sequence Base Amplification)

Profilaxie

Măsurile profilactice nespecifice sunt similare cu cele împotriva infecției HBV. Profilaxia specifică activă (vaccinarea) este încă în studiu. Datorită extrem de ridicatei variabilități genetice, prepararea unui vaccin anti-HCV care să genereze niveluri protectoare de anticorpi specifici nu a putut fi încă realizată.

În prezent se încearcă o nouă abordare care, spre deosebire de vaccinurile "clasice", nu se adresează imunității umorale (anticorpi) ci ținteste imunitatea celulară. Se experimentează folosirea de vectori virali (adenovirusuri în care se inseră părți mari din genomul HCV pentru a induce un răspuns al limfocitelor T împotriva HCV).

14.5 Virusul hepatitic E

Pe baza organizării genomice și a altor caracteristici, virusul hepatitic E (HVE) anterior propus pentru încadrare în familia Caliciviridae sau în familia Togaviridae, este actualmente unicul membru al familiei *Hepeviridae*, genul *Hepevirus*.

Morfologie, structură, replicare

Virionul este lipsit de anvelopă, având formă sferică și diametrul cuprins între 27-34 nm.

Genomul este ARN monocatenar cu polaritate pozitivă, cuprinzând 3 ORF:

- ORF1- codifică proteinele nestructurale
- ORF2 și ORF3 - codifică proteine structurale.

Replicarea se produce în hepatocit, dar mecanismul este momentan neelucidat.

Patogeneză

Infecția HEV are multe puncte comune cu infecția HAV (calea de transmitere fecal-orală, replicarea intrahepatocitară). Și în cazul infecției HEV se parcurg etape similare: sediul inițial de replicare este intestinul (excreție intensă de virioni), urmează apoi o viremie de scurtă durată și infectarea hepatocitului cu hepatocitoliză și inflamație locală (nu prin efect citopatic direct, ci prin răspunsul imun al gazdei).

În majoritatea situațiilor, sursa de infecție o constituie apa contaminată și multe cazuri sunt asociate călătoriilor în zone cu sanitație deficitară. Totuși, apariția infecțiilor și în afara acestor condiții ridică problema unor surse suplimentare de infecție. În acest sens se discută potențialul antropo-zoonotic al infecției HEV. Anticorpi IgG anti-HEV au fost depistați la animale domestice: porci, păsări, pisici, câini, precum și la unele animale salbatice (rozătoare, câprioare, etc.).

Nu se cunosc date care să ateste evoluția cronică.

Anticorpii de tip IgM apar concomitent cu creșterea transaminazelor și apoi titrul lor scade treptat (în decurs de 3 luni) fiind înlocuiți cu IgG-HEV. Persistența în ser a anticorpilor de tip IgG este mai redusă decât în infecția cu HAV. IgG-HEV se negativează în câțiva ani.

În peste jumătate din cazuri infecția HEV este asimptomatică, formele manifeste clinic fiind mai frecvente la adolescenți și adulți tineri. Evoluția infecției este benignă, cu excepția situațiilor când ea survine la gravide. Infectarea gravidelor evoluează sever, cu forme fulminante urmate de deces în până la 20% din cazuri.

Diagnostic de laborator

A. Diagnostic direct

Evidențierea HEV în scaun prin microscopie electronică este relativ dificilă, din aceleași motive ca în infecția HAV. HEV poate fi detectat prin imunomicroscopie electronică, iar genomul viral poate fi pus în evidență prin tehnici de biologie moleculară (PCR).

B. Diagnostic indirect

Constă în decelarea anticorpilor anti-HEV în ser. Se utilizează tehnici ELISA și Western blot pentru decelarea anticorilor specifici IgM și IgG anti-HEV.

14.6 Virusul hepatitic F

Virus "ipotetic" legat de cazuri de hepatite cu transmitere non-parentală non-A non-E (și non-B, non-C, non-D), semnalate în mai multe țări. Este un virus ADN dublu catenar, cu dimensiuni cuprinse între 27-37 nm.

Hepatotropismul său a fost demonstrat prin inducerea hepatitei acute experimentale la maimuțe.

15. Familia Retroviridae

Clasificare

Familia Retroviridae cuprinde 3 subfamilii:

- Subfamilia Oncovirinae (HTLV I și II)
- Subfamilia Lentivirinae (HIV 1 și 2)
- Subfamilia Spumavirinae.

Conform ultimelor clasificări (2000) aceste subfamilii au fost reorganizate în 7 genuri:

1. Genul Alpharetrovirus (prototip – v. leucozei aviare) – morfologie tip A
2. Genul Betaretrovirus (prototip – v. tumorii mamare murine) – morfologie tip B
3. Genul Gammaretrovirus (prototip – v. leucemiei murine) – morfologie tip C
4. Genul Deltaretrovirus (prototip – v. leucemiei bovine) – morfologie tip C
5. Genul Epsilonretrovirus (prototip – v. sarcomului dermic Walleye) – morfologie tip C
6. Genul Lentivirus (prototip – HIV) – morfologie caracteristică.
7. Genul Spumavirus (prototip – v. „spumos” al cimpanzeului) – morfologie caracteristică.

Din rațiuni didactice însă, în cele ce urmează, am păstrat clasificarea în cele 3 subfamilii.

Morfologie și structură

Virionul are formă sferică, cu diametrul de 100 nm, acoperit de o anvelopă prevăzută cu spiculi.

Tipurile de morfologie a virionilor sunt dependente de relația cu celula gazdă:

A – structuri virale sferice imature, cu localizare strict intracelulară (particule virale defective, endogene)

B – particule virale sferice mature, extracelulare

C – particule sferice cu proiecții vizibile în exteriorul anvelopei.

- **Anvelopa** - este de natură lipidică, iar la suprafața sa proemină spiculi glicoproteici (glicoproteina **gp120** are rol în de atașare, iar **gp41** rol de proteină de fuziune).

- **Capsida** - are simetrie icosaedrică

- **Genomul** - ARN monocatenar, cu polaritate pozitivă, alcătuit din două molecule identice (diploid). Este compus din **3 gene** ("**gag**", "**pol**" și "**env**"). Gena "gag" codifică proteinele capsidale, gena "pol" codifică enzimele virale (revers-transcriptaza, endonucleaze, proteaze, integraze), iar gena "env" codifică proteinele anvelopei.

Prezența antigenului viral **p24** are rol de marker în diagnosticul în stadiu precoce sau tardiv al infecțiilor. Revers-transcriptaza este o enzimă caracteristică Retrovirusurilor (Fig. 32).

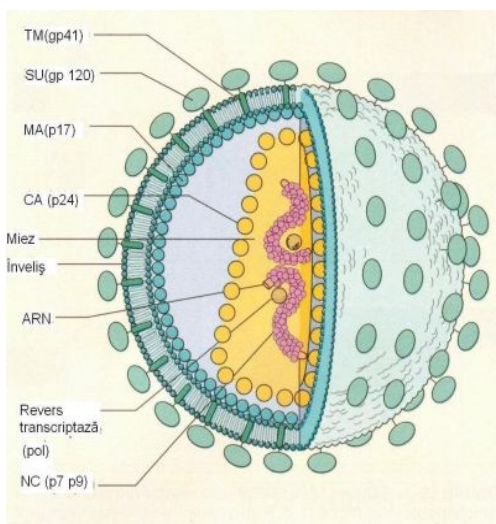


Fig. 32: Virusul HIV - secțiune transversală (după Muray P., 2005)

Replicare

Se realizează în mai multe etape:

1. Inițierea infecției - presupune atașarea proteinelor virale de suprafață (spiculi) la receptorii celulari specifici (în cazul HIV, receptorul este CD4 al limfocitelor T-helper).

Pătrunderea virionului în celulă se face prin endocitoză și fuziunea anvelopei cu membrana celulară.

2. Transcriptia ARN viral în ADN viral - se realizează sub acțiunea revers-transcriptazei virale, rezultând ADN-ul proviral

3. Integrarea ADN viral în ADN-ul celulei gazdă - ADN-ul viral este circularizat și se integrează în genomul gazdă (sub acțiunea integrazei), unde poate persista fără să se exprime și poate fi transmis celulelor fiice.

Expresia ADN viral se realizează prin transcripția într-un ARN precursor care va constitui matricea pentru sinteza ARN genomic și ARNm, cu participarea polimerazelor celulare. ARN genomic și ARNm sunt transportate în citoplasmă.

4. Sinteza proteinelor virale - se sintetizează mai întâi sub formă de poliproteine care sunt apoi clivate de proteazele virale.

5. Asamblarea și eliberarea virionilor din celulă - Asamblarea se realizează concomitent cu eliberarea virionului prin înmugurire.

Retrovirusurile se caracterizează printr-o extrem de mare variabilitate genetică, dată de frecvența mare a mutațiilor și recombinărilor. În plus, retrovirusurile au capacitatea de a copia ("captura") secvențe genomice străine și de a le integra în genomul propriu. Această caracteristică este dată de caracterul diploid al ARN retroviral, precum și de incapacitatea revers-transcriptazei de a corecta erorile transcripționale.

De asemenea, există și posibilitatea mixajului fenotipic (în coinfecții).

Patogenie

1. HTLV I și HTLV II

HTLV 1 se transmite pe cale parenterală (transfuzii, abuz de droguri i.v.), contact sexual.

Infecția parcurge următoarele stadii:

- Asimptomatic - de multe ori este predominant
- Preleucemic - limfocitoză persistentă
- Leucemic - Forma leucemică acută are o evoluție rapidă, caracteristic fiind pleiomorfismul limfocitar. Forma cronică are o evoluție lentă.

2. HIV 1 și HIV 2

HIV 1 pătrunde în organism pe cale sexuală, parenterală (transfuzii de sânge, abuz de droguri i.v.) sau pe cale verticală, transplacentară. Virusul infectează limfocitele CD4-pozitive, macrofagele și celulele dendritice. Efectul citopatic este extrem de puternic: fuziunea intercelulară cu formarea de sinciții gigante și moarte celulară. Glicoproteina virală prezentă pe suprafața unei celule infectate poate interacționa cu receptorii CD4 de pe multe limfocite adiacente, neinfectate, realizând astfel o multiplicare a efectului.

Replicarea genomului HIV este amplificată în celulele T stimulate antigenic și se presupune că persoanele cu infecții concomitente care stimulează replicarea celulelor T au o probabilitate mai mare de a dezvolta SIDA (Sindromul Imunodeficienței Dobândite). Macrofagele sunt și ele infectate cu HIV. Ele pot constitui un rezervor de virus. Pe măsură ce infecția progresează, vor fi afectate și funcțiile limfocitelor B al căror reglaj se realizează cu participarea limfocitelor T helper (CD4-pozitive). Distrugerea subpopulației de limfocite T helper (CD4+) stă, deci, la baza dereglării întregului sistem imun. Disfuncția sa duce la apariția infecțiilor desemnate ca "oportuniste" (microorganisme care în condiții normale sunt controlate de limfocitele T). HIV 1 se mai poate replica și la nivel cerebral, producând distrugerii celulare cu efecte neurologice variate.

Variabilitate genetică

Variabilitatea genetică este o caracteristică majoră a HIV și ea se manifestă în interiorul fiecărui subtip și la fiecare pacient; în organismul infectat, coexistența mai multor tulpini dă naștere la cvasispecii.

Variabilitatea genetică este determinată de:

- rata crescută de erori de transcriere (revers-transcriptaza nu are capacitatea de a corecta aceste erori) materializate în mutații punctiforme, deleții, duplicări, recombinări
- selecția de mutante în funcție de tropismul celular, proprietățile antigenice și capacitatea de replicare
- recombinarea între două tulpini virale ce coinfectează același organism
- presiunea sistemului imun al gazdei cu adaptarea permanentă a virusului care astfel reușește să scape detecției prin celule imunocompetente și apariția de mutante rezistente

Manifestări clinice

Infecția HIV determină un **sindrom imunosupresiv epidemic** care predispune la infecții grave (cu potențial letal) cu microorganisme "oportuniste" cum sunt: *Pneumocystis carinii*, CMV, *Toxoplasma gondii*, Candida, HSV, Cryptosporidium.

O altă caracteristică a SIDA este **sarcomul Kaposi**, afecțiune malignă agresivă, cu multiple leziuni cutanate și viscerale, determinat de infecția cu virusul herpetic uman tip 8 (v. sarcomului Kaposi) (vezi Familia Herpesviridae).

Infecția HIV se încadrează în categoria infecțiilor persistente cu evoluție lentă, îndelungată. Privitor la evoluția stadială a infecției, există în prezent mai multe clasificări. În orice caz, în infecția HIV se pot delimita două etape principale:

1. stadiul de "seropozitiv" (infecție dovedită serologic, fără alte semne clinice sau paraclinice de boală) și
2. stadiul SIDA (boala manifestă).

Diagnostic de laborator

1. HTLV I și HTLV II

Produsele patologice sunt: sânge, măduvă osoasă, țesut tumoral.

Serologia - decelarea anticorpilor specifici prin:

- Imunofluorescență
- ELISA
- RIA
- Western blot.

2. HIV 1 și HIV 2

A. Cultivarea

Se realizează în linii celulare limfocitare T sau B. Efectul citopatic apare tardiv (în decurs de 4 săptămâni) și poate fi de liză celulară limitată sau infecție cronică.

Identificarea se face prin detectarea antigenelor virale (ELISA, RIA) și prin decelarea ARN viral (tehnici de hibridizare, tehnici de amplificare genomică - PCR).

B. Serologia

Diagnosticul se realizează în 2 etape:

- a) Triere ("Screening") - ELISA
- b) Confirmare - Western blot, RIA, RIPA (radioimunoprecipitarea)

C. Examen direct (identificarea ARN viral sau proviral)

- PCR, RT-PCR, b-ADN (testul cu sonde ADN ramificate, marcate), NASBA

Epidemiologie

În principal, retrovirusurile se transmit parenteral. Vom insista în cele ce urmează asupra transmiterii HIV, principalele căi de transmitere sugerând principalele grupe cu risc crescut și, implicit, factorii de risc.

- I. Transmiterea sexuală
- II. Transmiterea percutană (toxicomani i.v.)
- III. Transmiterea prin transfuzii de sânge
- IV. Transmiterea prin transplanturi de organe și țesuturi
- V. Transmiterea verticală.

Se poate observa că modalitățile de transmitere sunt similare cu cele ale altor agenți cu transmitere prin sânge și fluide biologice (de exemplu virusul hepatitic B). De menționat că,

spre deosebire de HBV, în cazul HIV transmiterea este mai puțin eficientă datorită în principal rezistenței scăzute a HIV în mediul extern și de asemenea, datorită infectivității mai scăzute a HIV față de HBV.

Profilaxie

Măsurile generale: contact sexual protejat, evitarea promiscuității sexuale, educație pentru sănătate în grupuri cu risc crescut (de exemplu toxicomani), testarea riguroasă a sângelui transfuzat și a donatorilor de organe și țesuturi, utilizarea măsurilor de protecție individuală a personalului medical (mănuși, ochelari de protecție) și alte măsuri de prevenire a accidentelor profesionale prin expunere la sânge.

Profilaxia activă (vaccinarea) constituie un obiectiv de importanță majoră pe plan mondial, însă până în prezent nu s-a reușit prepararea unui vaccin eficient anti-HIV (principalele impedimente sunt desigur legate de variabilitatea genetică extremă a acestui virus).

Bibliografie

1. BENNETT J.B., DOLIN R., BLASER M. J. - Principles and Practice of Infectious Diseases, vol 2, Ninth edition, Churchill livingstone Elsevier, 2019
2. BUIUC D, NEGUȚ M.- Tratat de microbiologie clinică, Editura Medicală București 2008
3. CEDRIC A.- Medical Microbiology, Mims, , Publisher: Mosby, 2012
4. CAROLL K.C., PFALLER M.A., LANDRY M.L., McADAM A.J., PATEL R. RICHTER S.S., WAENOCK D.W - Manual of Clinical Microbiology, 2 volume, (ASM Books), 12th edition, 2019
5. CORNELISSEN C. N. HOBBS M. M. – Microbiology, fourth edition, Lippincott Illustrated reviews, 2020
6. FISCHBACH F - A manual of laboratory & diagnostic tests, 6edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2000
7. GADD G.M., SARIASLANI S. - Advances in Applied Microbiology, Elsevier, 2015
8. GOERING R.V, DOCKRELL H.M., ZUCKERMAN M., PETER L. CHIODINI – MIMS' Medical Microbiology and Immunology, sixth Edition, Elsevier, 2019
9. HARVEY RA, CHAMPE PC, FISHEY RA – Lippincott's Illustrated Reviews Microbiology, 2nd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007
10. JANEWAY CA, TRAVERS P, WALPORT M, SHLOMCHIK MJ - Imuno-Biology- The immune system in health and disease, Garland Science Publishing, New York and London 2005
11. KHARDORI N – Infectious Disease Clinics of North America, United States of America, 2006
12. LICKER M., MOLDOVAN R, DRAGOMIRESCU L., CIOFLEC D. B. - Curs de microbiologie specială. Vol.2 Micologie, virologie, Ed. Eurostampa, Timișoara, 2013
13. LICKER M, HOGEA E, CRĂCIUNESCU M, HORHAT F., BERCEANU-VĂDUVA D., DUGĂEȘESCU D., STÂNGĂ L, POPA M, MUNTEANU D., RĂDULESCU M., PILUȚ C., BAGIU I., RUS M. – Microbiologie specială -Indreptar de lucrări practice, Editura „Victor Babeș”, Timișoara, 2019
14. LICKER M, HOGEA E, CRĂCIUNESCU M, HORHAT F., BERCEANU-VĂDUVA D., DUGĂEȘESCU D., STÂNGĂ L, POPA M, MUNTEANU D., RĂDULESCU M., PILUȚ C., BAGIU I., RUS M., Cioflec D. B. – Microbiologie generală -Indreptar de lucrări practice, Editura „Victor Babeș”, Timișoara, 2019
15. LINDHOLM PF, KASHANCHI F, BRADY JN - Transcriptional Regulation in the human retrovirus HTLV-1, Seminars in Virology, vol. 4, 1993, p. 53-60
16. MANDELL GL, DOUGLAS GR, BENNETT JE - Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th Ed., Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Melbourne, 2010
17. MAYHALL CG – Hospital Epidemiology and Infection Control, 3rd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2004
18. GOERING VG, DOCKRELL HM, ZUCKERMAN M, CHIODINI PL – Mims Medical Microbiology and Immunology, Elsevier, sixth edition, 2019
19. MURRAY P.R., ROSENTHAL K.S. - Rewiew of Medical Microbiology, Elsevier Mosby, 2005
20. MURRAY PR, ROSENTHAL KS, PFALLER MA - Medical microbiology, 5th edition, Elsevier Mosby, 2005

21. MURRAY PR, BARON EJO, PFALLER MA, TENOVER FC, YOLKEN RH - Manual of Clinical Microbiology, 7 edition, American Society for Microbiology, Washington 2005
22. NATH SK – Problem-Based Microbiology, Saunders Elsevier, Philadelphia, 2006
23. POPOVICI E.D., BĂDIȚOIU L.M., LAITIN S.M.D. - EPIDEMIOLOGIE PRACTICA pentru studenti si rezidenti Editia a IV-a revizuita si adaugita, Editura „Victor Babeș”, Timișoara, 2019
24. POPOVICI E.D., LAITIN S.M.D., BĂDIȚOIU L.M.- Noțiuni de imunoprofilaxie, Lito UMFT, 2004
25. RYAN K., RAY CG., AHMAD N, DERW WL, LAUGNOFF M., POTTINGER P, RELLER L B, STERLING C R. - Sherris Medical Microbiology, Sixth Edition, McGraw-Hill Education / Medical, 2014
26. SCHAECHTER M, MEDOFF G, EISENSTEIN BI - Mechanisms of Microbial Diseases, the Fourth Edition, Williams & Wilkins 2007
27. SNYDER L, CHAMPNESS W – Molecular genetics of bacteria, 3rd Edition, ASM Press, Washington 2007
28. TILLE P. - Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, Fourteenth Edition, Elsevier, 2017
29. *** COMPENDIU DE SPECIALITĂȚI MEDICO-CHIRURGICALE, Util pentru intrare în rezidențiat, Vol. I, Ediția revizuită 2019, coordonatori Victor Stoica, Viorel Scripcaru, Editura Medicală, București., 2019
30. *** COMPENDIU DE SPECIALITĂȚI MEDICO-CHIRURGICALE, Util pentru intrare în rezidențiat, Vol. II, Ediția revizuită 2019, coordonatori Victor Stoica, Viorel Scripcaru, Editura Medicală, București., 2019