

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
КЫРГЫЗСКО-РОССИЙСКИЙ СЛАВЯНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. первого Президента РФ Б.Н. Ельцина

МЕДИЦИНСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра микробиологии и вирусологии

ОСНОВЫ ОБЩЕЙ И ЧАСТНОЙ ВИРУСОЛОГИИ

Учебно-методическое пособие

Бишкек-2020

УДК 616. 993 (076)
ББК 52.64
О 75

Под редакцией

Г.К Садыбакасовой, д-ра мед. наук, профессора

Рецензенты:

*В.С. Тойгонбаева, д-р мед. наук, профессор КГМА им. И.К. Ахунбаева,
З.К. Джолбунова, д-р мед. наук, профессор КГМА им. И.К. Ахунбаева,
Е.А. Радченко, канд. мед. наук, доцент КРСУ*

Составители:

*Ф.С. Мустафина, М.А. Сабодаха, Г.Р. Бестужева, доценты,
Г.К. Садыбакасова, профессор*

Рекомендовано к изданию кафедрой микробиологии и вирусологии
и Ученым советом медицинского факультета КРСУ

О 75 **ОСНОВЫ ОБЩЕЙ И ЧАСТНОЙ ВИРУСОЛОГИИ:** учебно-метод. пособие / сост.: Ф.С. Мустафина, М.А. Сабодаха, Г.Р. Бестужева, Г.К. Садыбакасова; под ред. Г.К. Садыбакасовой. – Бишкек: Изд-во КРСУ, 2020. – 232 с.

ISBN 978-9967-19-774-9

В учебно-методическом пособии изложены основы общей и частной вирусологии. Обобщены данные о природе и происхождении вирусов человека и животных, их морфогенезе, химическом составе, механизме репродукции вирусов в клетке. Представлены сведения об отдельных вирусах и вызываемых ими заболеваниях. Особое внимание уделено возбудителям наиболее распространенных вирусных инфекционных заболеваний, лабораторной диагностике, методам индикации и идентификации вирусов.

Основное назначение пособия – методическая помощь студентам в самостоятельной работе при подготовке к занятиям и при выполнении практических заданий в процессе обучения.

Предназначено для студентов всех специальностей медицинского факультета.

УДК 616. 993 (076)
ББК 52.64

ISBN 978-9967-19-774-9

© ГОУВПО КРСУ, 2020

1. ОСНОВЫ ОБЩЕЙ ВИРУСОЛОГИИ

1.1. Открытие вирусов

Вирусы – мельчайшие возбудители инфекционных болезней. В переводе с латинского *virus* означает «яд, ядовитое начало». До конца XIX в. термин «вирус» использовался в медицине для обозначения любого инфекционного агента, вызывающего заболевание. Современное значение это слово приобрело после 1892 года, когда русский ботаник Д.И. Ивановский установил «фильтруемость» возбудителя мозаичной болезни листьев табака (табачной мозаики). Он показал, что клеточный сок из зараженных этой болезнью растений, пропущенный через специальные фильтры, задерживающие бактерии, сохраняет способность вызывать те же заболевания у здоровых растений. Пять лет спустя другой фильтрующийся агент – возбудитель ящура крупного рогатого скота – был обнаружен немецким бактериологом Ф. Лёффлером. В 1898 году голландский ботаник М. Бейеринк повторил в расширенном варианте эти опыты и подтвердил выводы Ивановского. Он назвал «фильтрующееся ядовитое начало», вызывающее табачную мозаику, «фильтрующимся вирусом». Этот термин использовался на протяжении многих лет и постепенно сократился до одного слова – «вирус».

В 1901 г. американский военный хирург У. Рид и его коллеги установили, что возбудитель желтой лихорадки также является фильтрующимся вирусом. Желтая лихорадка была первым заболеванием человека, опознанным как вирусное, однако потребовалось еще 26 лет, чтобы ее вирусное происхождение было окончательно доказано.

1.2. Свойства и происхождение вирусов

Наиболее просто устроенные вирусы состоят из нуклеиновой кислоты, являющейся генетическим материалом (геномом) вируса, и покрывающего нуклеиновую кислоту белкового чехла.

В состав некоторых вирусов входят также углеводы и жиры (липиды). Таким образом, *вирусы можно рассматривать просто как мобильные наборы генетической информации*. Они лишены некоторых ферментов, необходимых для репродукции, и могут размножаться только внутри живой клетки, метаболизм которой после заражения перестраивается на воспроизводство вирусных, а не клеточных компонентов. Это свойство вирусов позволяет отнести их к облигатным (обязательным) клеточным паразитам. После синтеза отдельных компонентов формируются новые вирусные частицы. Симптомы вирусного заболевания развиваются как следствие повреждения вирусами отдельных клеток.

Принято считать, что вирусы произошли в результате обособления (автономизации) отдельных генетических элементов клетки, получивших, кроме того, способность передаваться от организма к организму. В нормальной клетке происходят перемещения нескольких типов генетических структур, например, матричной или информационной РНК (мРНК), транспозонов, Is-последовательностей, плазмид. Такие мобильные элементы, возможно, были предшественниками, или прародителями, вирусов.

Являются ли вирусы живыми организмами? В 1935 году американский биохимик У. Стэнли выделил в кристаллической форме вирус табачной мозаики, доказав тем самым его молекулярную природу. Полученные результаты вызвали бурные дискуссии о природе вирусов: являются ли они живыми организмами или просто активированными молекулами? Действительно, внутри зараженной клетки вирусы проявляют себя как интегральные компоненты более сложных живых систем, но вне клетки представляют собой метаболически инертные нуклеопротеины. Вирусы содержат генетическую информацию, но не могут самостоятельно реализовать ее, не обладая собственным механизмом синтеза белка. Когда особенности строения и репродукции вирусов оказались выясненными, вопрос о том, являются ли они живыми, постепенно утратил свое значение.

Вирусы – это универсальные микроорганизмы, составляющие треть царства живой природы – царство *Vira*. В отличие от всех других организмов они:

1. Не имеют клеточную структуру.
2. Содержат только одну из двух нуклеиновых кислот ДНК или РНК, выполняющих функцию генома.
3. Не имеют собственных белоксинтезирующих и генерирующих энергию систем.
4. Являются абсолютными внутриклеточными паразитами на генетическом уровне, полностью зависящими от клетки хозяина. Генетический уровень паразитизма проявляется тем, что вирусы вводят в клетку лишь свою генетическую информацию и репродуцируются в чувствительной клетке, согласно генетической программе, заложенной в нуклеиновой кислоте вируса, при этом вирусы репрессируют (подавляют) функцию клеточного генома, а её метаболические системы используются для синтеза собственных структурных компонентов. Более того, генетический аппарат вируса может встраиваться в клеточный геном и в дальнейшем функционировать и воспроизводиться как его часть.
5. Отличаются особым – разобщенным (дизъюнктивным) – способом репродукции, при котором синтез основных структурных компонентов вирусов (нуклеиновой кислоты и белков) происходит в разных участках пораженной клетки и в разное время с последующей сборкой и формированием новых вирусов.

Различают две формы существования вируса – *внеклеточную* и *внутриклеточную*. Внеклеточный вирус называется *вирионом*. Это покоящаяся (зрелая) форма вируса, не проявляющая жизнедеятельности. Функции вириона: сохранение вируса во внешней среде и перенос его из одного организма в другой и из одной клетки в другую.

Внутриклеточный вирус, представленный ДНК или РНК, репродуцируется в инфицированной клетке или же обуславливает иные типы взаимодействия вируса с клеткой.

1.3. Морфология вирусов (вирионов)

Морфологию и структуру вирусов изучают с помощью электронного микроскопа, так как их размеры малы и находятся в пределах около 20–350 нм. Форма вирионов может быть различной: сферической, овоидной, икосаэдрической (многогран-

ной), палочковидной, пулевидной, нитевидной. По своим размерам вирусы в тысячу раз меньше бактерий, что обуславливает их проходимость через бактериальные фильтры. Размеры вирусов определяют с помощью электронной микроскопии или методом ультрафильтрации через фильтры с известным диаметром пор или методом ультрацентрифугирования. Одним из самых мелких является вирус полиомиелита – 20 нм, наиболее крупным – натуральной оспы, 350 нм.

Для вирусов характерна единая схема организации. В центре вириона располагается молекула нуклеиновой кислоты ДНК или РНК, окружённая белковой оболочкой – капсидом (от лат. *capsa* – футляр), состоящим из повторяющихся морфологических субъединиц – капсомеров, количество которых может быть различным, но строго определённым для каждого вида вирусов (например, у вирусов полиомиелита капсид построен из 32 капсомеров, у вируса гепатита В – из 180 капсомеров). Белки капсидной оболочки просты и способны к самосборке. Их взаиморасположение определяет тип симметрии нуклеокапсида: спиральный, кубический, смешанный. Спиральный тип симметрии обусловлен винтообразной структурой нуклеокапсида, кубический – образованием полого тела из капсида, содержащего внутри нуклеиновую кислоту. От типа симметрии зависит форма вируса.

Различают простоустроенные и сложноустроенные вирусы.

Простые вирусы состоят из нуклеиновой кислоты, связанной с внутренними белками и капсидом, и представляют собой нуклеокапсид.

У *сложных* вирусов нуклеокапсид является сердцевиной вириона, поверх которой расположен суперкапсид – наружная вирусная оболочка клеточного происхождения, в которую вирион «одевается» при выходе из клетки путём почкования. В суперкапсид встроены вирусоспецифические поверхностные белки – гликопротеины, выступающие наружу в виде шипиков и обладающие разными свойствами у разных вирусов, – гемагглютинины, например, являются рецепторами распознавания, вызывают агглютинацию эритроцитов; нейраминидаза разрушает нейраминную кислоту, входящую в состав клеточных стенок, т. е. эти

структуры ответственны за адгезию (адсорбцию) – прикрепление вириона к рецепторам клетки и инвазивность – проникновение в клетку. Капсид и суперкапсид защищают вирионы от влияния окружающей среды, обуславливают избирательное взаимодействие с клетками, определяют антигенные и иммуногенные свойства вирионов.

Вирусы имеют уникальный геном, они содержат либо ДНК, либо РНК. Функции вирусных нуклеиновых кислот, независимо от типа, заключаются в хранении и передаче генетической информации. Вирусные ДНК могут быть двунитевыми, редко однонитевыми. Двунитевые ДНК бывают линейные с незамкнутыми кольцами или линейные с замкнутыми кольцами, кольцевидные. Вирусные РНК, как правило, однонитевые, но имеются и двунитевые с фрагментированным геномом, линейные или кольцевые. Они могут быть представлены плюс- или минус-нитями. Плюс-нити функционально тождественны информационной РНК (и-РНК), т. е. способны транслировать закодированную в них генетическую информацию на рибосомы клетки хозяина. Минус-нити не могут функционировать, как и-РНК, и для трансляции содержащейся в них генетической информации необходим синтез комплементарной плюс-нити.

Важнейшей особенностью вирусных нуклеиновых кислот является инфекционность – способность вызывать в клетке-хозяине продуктивную инфекцию без участия других компонентов вируса.

1.4. Систематика вирусов

По типу нуклеиновой кислоты представители царства *Vira* делятся на два подцарства: *рибовирусы* и *дезоксиривовирусы*. В подцарствах выделяют семейства, роды и виды. Принадлежность к тому или иному семейству определяется строением и структурой нуклеиновой кислоты, типом симметрии нуклеокапсида, наличием суперкапсидной оболочки и другими свойствами.

Согласно современной классификации, вирусы, патогенные для человека, входят в 22 семейства, из них 8 семейств составляют

ДНК-геномные вирусы и 14 семейств – РНК-геномные. Еще недавно насчитывалось 19 семейств. В последние годы созданы новые семейства: *Astroviridae*, *Filoviridae*, *Circinoviridae*. Семейство *Papovaviridae* разделено на два: *Papillomaviridae* и *Poliomaviridae*. Есть изменения и в других таксономических категориях, потому как классификация вирусов продолжает дополняться и совершенствоваться (таблица 1).

Таблица 1 – Классификация вирусов

Семейство	Вызываемые заболевания
ДНК-геномные вирусы	
Poxviridae	Натуральная оспа, оспа обезьян, оспа коров, контагиозная эктима, контагиозный моллюск, оспа Тана
Herpesviridae	Герпес лабиальный и генитальный, ветряная оспа и опоясывающий герпес (лишай), цитомегалия, инфекционный мононуклеоз
Adenoviridae	ОРВИ, гастроэнтериты
Papillomaviridae	Бородавки, рак шейки матки и др.
Polyomaviridae	Лейкоэнцефалопатия многоочаговая прогрессирующая
Parvoviridae	Инфекционная эритема, полиартрит
Circinoviridae	Гепатит ТТ
Hepadnaviridae	Гепатит В
РНК-геномные вирусы	
Reoviridae	ОРВИ, гастроэнтериты
Picornaviridae	Полиомиелит, гастроэнтериты, гепатит А, энтеровирусные, риновирусная инфекция, ящур
Caliciviridae	Гастроэнтериты, гепатит Е
Coronaviridae	ОРВИ, гастроэнтериты
Flaviviridae	Желтая лихорадка, лихорадка денге, омская геморрагическая лихорадка, японский энцефалит, клещевой энцефалит, гепатит С, гепатит G
Paramyxoviridae	Корь, ПСПЭ, эпидемический паротит, парагрипп
Togaviridae	Краснуха, карельская лихорадка
Orthomyxoviridae	Грипп А, В, С
Rhabdoviridae	Бешенство, везикулярный стоматит
Bunyaviridae	Геморрагическая лихорадка Крым-Конго, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом
Arenaviridae	Лимфоцитарный хориоменингит
Filoviridae	Африканские геморрагические лихорадки Эбола, Марбург
Retroviridae	ВИЧ-инфекция, Т-клеточный лейкоз

1.5. Взаимодействие вируса с клеткой

Продуктивный тип взаимодействия (репродукция вирусов). Репродукция вирусов (от англ. *reproduce* – воспроизводить) – единый процесс, который условно подразделяют на несколько этапов:

1. Адсорбция вируса на клетке.
2. Проникновение вируса в клетку.
3. Депротейнизация вириона («раздевание», разрушение белковой оболочки).
4. Экспрессия вирусного генома и синтез компонентов вириона (транскрипция, трансляция, репликация).
5. Формирование вирионов (морфогенез).
6. Выход из клетки нового поколения вирионов.

Адсорбция вирусов на клетке осуществляется при соответствии рецепторов мембраны клетки человека и вирусов. У простых вирусов рецепторы – это прикрепительные белки на поверхности капсида, у сложных – гликопротеины, образующие шипики на поверхности суперкапсида. *Рецепторы*, расположенные на *клеточной мембране*, могут иметь различную природу – протеины, липо- или гликопротеины, липиды. Со способностью вирусов избирательно прикрепляться к соответствующим клеточным рецепторам связан тропизм вирусов. Например, вирус гриппа – пневмотропный, ВИЧ – иммунотропный, вирус оспы – дермотропный, вирус бешенства – нейротропный и т. д.

Проникновение вирионов в клетку происходит путем рецепторного эндоцитоза (виропексиса) или путем слияния мембран суперкапсида вируса и клетки. При виропексисе после адсорбции вирусов происходят инвагинация (впячивание) участка клеточной мембраны и образование внутриклеточной вакуоли, которая содержит вирион. Вакуоль с вирионом может транспортироваться в любом направлении в разные участки цитоплазмы или в ядро клетки.

Депротейнизация вирусов – освобождение от окружающих оболочек нуклеиновой кислоты. Освобожденная геномная нуклеиновая кислота вируса приобретает способность индуцировать

репродукцию вируса. Она дезорганизует работу клеточных систем, подавляет собственный клеточный метаболизм, «заставляет» клетку синтезировать новые вирусные белки и нуклеиновые кислоты, идущие на построение вирусного потомства.

Транскрипция (от лат. *transcription* – считывание, переписывание) сопровождается синтезом информационных РНК, комплементарных матричному – ДНК или РНК вирусов.

Во время *трансляции* (от лат. *translation* – передача) происходит синтез белков на рибосомах клетки с участием и-РНК.

Репликация (от лат. *Replication* – повторение) сопровождается синтезом молекул нуклеиновой кислоты, гомологичных геному.

Транскрипция и трансляция имеют свои особенности в зависимости от типа и строения вирусных нуклеиновых кислот и происходят по следующей схеме:

У ДНК содержащих вирусов: геномная ДНК -> транскрипция и-РНК-> трансляция -> белок.

У плюс-РНК вирусов геномная РНК одновременно является информационной РНК, поэтому стадия транскрипции отсутствует, и схема укорочена: геномная плюс-РНК-> трансляция -> белок.

У минус-РНК вирусов (с однонитевой и двунитевой РНК): геномная минус-РНК -> транскрипция и-РНК -> трансляция -> белок.

Сборка-формирование вирионов из отдельных компонентов вируса. Синтезированные вирусные нуклеиновые кислоты и белки обладают способностью специфически «узнавать» друг друга и при достаточной концентрации самопроизвольно соединяются в результате гидрофобных, водородных связей.

Выход нового поколения вирионов из клетки происходит у разных вирусов разными механизмами: или при разрушении клетки, или путем почкования. Первый тип – взрывной – характеризуется одновременным выходом всех синтезированных вирусов. При этом клетка быстро погибает. Такой способ выхода характерен для простых вирусов. Второй тип наблюдается у сложных вирусов, которые почкуются («просачиваются») через поры мембраны клетки, одновременно приобретая суперкапсид-

ную оболочку клеточного происхождения со встроенными вирусными белками – гликопротеинами. При этом клетка погибает не сразу, продолжая поддерживать репродукцию и выделяя новые поколения вирионов.

Таким образом, синтез вирусных нуклеиновых кислот и белков, а также сборка и формирование новых вирионов происходят в определенной последовательности, разобщен во времени и в пространстве, т. е. протекает в разных структурах ядра и цитоплазме клетки. Этот уникальный способ размножения вирусов называется *дизъюнктивным* (от лат. *disjunctus* – разобщенный).

Время, необходимое для осуществления полного цикла репродукции вирусов, варьируется от пяти–шести часов (вирус гриппа, вирус натуральной оспы и др.) до нескольких суток (вирус Коксаки, аденовирусы и др.). Образовавшиеся вирусы способны инфицировать новые клетки и проходить такой же цикл репродукции.

Интегративный тип взаимодействия (вирогения) характеризуется встраиванием (интеграцией) вирусной нуклеиновой кислоты в геном клетки. При этом вирусный геном реплицируется и функционирует как составная часть клеточного генома. Геном вируса, находящийся в составе генома клетки, называется *провирусом*, а такое состояние клетки обозначается как *вирогения*. При делении клетки провирус переходит в геном дочерних клеток, т. е. состояние вирогении наследуется. Провирус несет дополнительную генетическую информацию, в результате чего клетки приобретают ряд новых свойств. Так, интеграция может являться причиной возникновения ряда аутоиммунных и хронических заболеваний, разнообразных опухолей. Под воздействием ряда физических и химических факторов провирус может исключаться из клеточного генома и переходить в автономное состояние с последующей репродукцией вируса и развитием продуктивной инфекции. С этим связано хроническое течение некоторых вирусных инфекций, при которых бессимптомные периоды чередуются с обострениями – рецидивами.

Абортивный тип взаимодействия вируса и клетки развивается до подавления клеточного генома. В этом случае генети-

ческая информация вируса реализована не будет, а клетка восстановит свои функции.Abortивный тип взаимодействия вирусов с клеткой может возникать при заражении чувствительных клеток дефектными вирусами.

Различают дефектные вирусы и дефектные вирионы. Дефектные вирусы существуют как самостоятельные виды, которые репродуцируются лишь при наличии вируса-помощника (например, вирус гепатита D репродуцируется только в присутствии вируса гепатита В). Дефектные вирионы лишены части генетического материала и могут накапливаться в популяции многих вирусов.

1.6. Методы культивирования, индикации и идентификации вирусов

Культивирование вирусов осуществляется с целью микробиологической диагностики инфекции, а также для получения диагностических, лечебных и вакцинных препаратов. Выращенные вирусы определяют с помощью методов индикации и идентификации. *Индикация вирусов* – обнаружение факта их репродукции – основана на выявлении характерных биологических свойств вирусов и особенностей их взаимодействия с чувствительными клетками. *Идентификация* – определение вида и типа вирусов – осуществляется в основном с помощью иммунологических реакций, основанных на взаимодействии антигенов вирусов и соответствующих антител, содержащихся в иммунных диагностических сыворотках.

Вирусы культивируют:

- в организме чувствительных экспериментальных животных;
- в оболочках и структурах развивающегося куриного эмбриона;
- в культуре клеток.

Выделение и культивирование вирусов в организме экспериментальных животных был первым и долгое время единственным методом, с помощью которого удалось обнаружить целый ряд вирусов. Экспериментальных животных (взрослых или

новорожденных белых мышей, хомяков, кроликов, обезьян и др.) заражают вирусосодержащим материалом различными способами: подкожно, внутримышечно, интраназально, интрацеребрально и т. д. в зависимости от тропности вирусов.

О репродукции вирусов в организме животных судят по развитию у них видимых клинических проявлений заболевания, патоморфологическим изменениям органов и тканей, а также на основании реакции гемагглютинации (РГА) с суспензией органов, содержащих вирусы. РГА основана на способности многих вирусов вызывать склеивание (агглютинацию) эритроцитов (человека, животных, птиц) в результате взаимодействия вирусных белков с рецепторами эритроцитов.

Использование животных для культивирования вирусов в диагностических целях ограничено из-за видовой невосприимчивости животных ко многим вирусам человека, контаминации животных посторонними микробами, а также по экономическим и этическим соображениям.

Культивирование вирусов в развивающихся куриных эмбрионах

Куриный эмбрион – удобная модель для культивирования вирусов. Наличие плотной скорлупной оболочки защищает эмбрион от попадания микроорганизмов из внешней среды, и, таким образом, вирусы размножаются в стерильных условиях.

Строение куриного эмбриона. Куриный эмбрион покрыт известковой оболочкой – скорлупой, к которой изнутри примыкает скорлупная оболочка, в тупом конце яйца она раздваивается и образует воздушное пространство. Под скорлупной оболочкой находится хорион-аллантаисная оболочка, богатая кровеносными сосудами, она служит эмбриону органом дыхания. Изнутри формируется аллантаисная полость, которая является органом выделения и защищает эмбрион от травм и высыхания. Аллантаисная полость окружает амниотическую, наполненную околоплодной жидкостью, внутри которой располагается эмбрион. Через желточный канатик эмбрион соединен с желточным мешком – основным источником питательных веществ. На поздних этапах развития эмбрион получает питательные вещества из белочного мешка, расположенного в остром конце яйца.

С целью культивирования вирусов куриные эмбрионы заражают патологическим материалом на хорион-аллантаисную оболочку, аллантаисную и амниотическую полости. Используют эмбрионы 10–12-суточного возраста. Отбирают жизнеспособные эмбрионы, просвечивая инкубированные яйца в овоскопе (специальный ящик с подсветкой). Через просвечивающую скорлупу видны: эмбрион, сосуды хорион-аллантаисной оболочки, границы воздушного мешка. Жизнеспособный эмбрион подвижен, кровеносные сосуды оболочки заполнены кровью. На скорлупе яйца карандашом отмечают границы воздушного мешка и положение эмбриона. Яйцо устанавливают вертикально на подставку тупым концом вверх. Проводят тщательную стерилизацию скорлупы до границ воздушного мешка: протирают спиртом, смачивают йодом, повторно обрабатывают спиртом с последующим обжиганием.

Техника закрытого метода заражения

1. В скорлупе над воздушной камерой пробуравливают отверстие с помощью препаровальной иглы, через которое на хорион-аллантаисную оболочку вводится 0,1 – 0,2 мл вирус-содержащего материала шприцем или пастеровской пипеткой. Для заражения аллантаисной полости необходимо иглу шприца продвинуть в вертикальном направлении на 2–3 мм ниже уровня воздушной камеры и затем ввести такое же количество вирус-содержащего материала. При направлении иглы в амниотическую полость наблюдается смещение эмбриона, при этом вирусы размножаются не только в клетках амниотической оболочки, но и в тканях эмбриона. Отверстия в скорлупе после введения вирус-содержащего материала закрывают стерильным покровным стеклом, предварительно обмакнув его в расплавленный парафин. Зараженные эмбрионы помещают в термостат в вертикальном положении и инкубируют в течение двух–трех суток.

Техника открытого метода заражения в полости амниона

1. Стерильными ножницами срезают скорлупу с тупого конца по границе воздушной камеры. Пинцетом осторожно удаляют подскорлупную оболочку, обнажая хорион-аллантаисную оболочку.

2. Прорезают ножницами небольшое отверстие в хорион-аллантаиной оболочке в том месте, где нет кровеносных сосудов и вводят в прорезь глазной пинцет, которым захватывают оболочку амниона и вытягивают амниотический мешок над поверхностью хорион-аллантаиной оболочки.

3. Удерживая амниотическую оболочку, в полость амниона вводят шприцем 0,1 – 0,2 мл вирусосодержащего материала.

4. Отверстие в скорлупе закрывают стерильным колпачком, используя для фиксации и герметизации расплавленный парафин.

Зараженные эмбрионы инкубируют в течение двух суток.

Существуют и другие методы заражения, используемые значительно реже. Например, заражают непосредственно эмбрион, применяя внутримышечный или внутримозговой способ введения материала.

О репродукции вирусов в куриных эмбрионах свидетельствуют: специфические поражения оболочек и тела эмбриона (скопление вируса в виде бляшек, кровоизлияния; гибель эмбриона), положительная РГА с вирусосодержащей жидкостью, полученной из полостей зараженного эмбриона.

Заражение в желточный мешок. Этот метод в вирусологии применяется ограниченно и чаще используется для культивирования риккетсий и хламидий. Для заражения берут 5–6-дневные эмбрионы. Метод заражения в желточный мешок напоминает по своей технике заражение в аллантаиновую полость, только игла шприца вводится немного глубже. В желточный мешок вводят 0,2–0,5 мл инфекционного материала, после чего прокол в скорлупе также герметично закрывают. Зараженные эмбрионы выдерживают в термостате от трех до десяти суток, что зависит от вида возбудителя болезни. Вскрыв эмбрион, извлекают желточный мешок и подвергают его дальнейшему исследованию.

Культивирование вирусов в культуре клеток

Культура клеток – это клетки какой-либо ткани животных или человека, способные расти и размножаться вне организма в искусственных условиях *in vitro*.

Для приготовления культур клеток используют различные ткани животных, человека или птиц, как эмбриональные, так

и зрелые. Кроме нормальных, используют также злокачественно-перерожденные ткани, получаемые из опухолей. Источником эмбриональной ткани часто служат куриный эмбрион, абортированные эмбрионы человека, эмбрионы мышей, свиней, кроликов и др. Эмбриональная и опухолевая ткани отличаются лучшей выживаемостью и более активным ростом, чем ткани взрослого организма.

Типы клеточных культур. Культуры клеток делят на *первичные*, которые используют в течение одной генерации, и *перевиваемые*, которые поддерживают путем пассажей (перевиваний, переносов в стерильных условиях в пробирки или флаконы-матрасы, вследствие размножения и накопления избыточного количества клеток) длительное время. Клетки перевиваемой культуры ткани готовят из эмбриональных и злокачественных линий клеток, они способны прочно прикрепляться к стеклу пробирки или флакона, образовывать монослой клеток и многократно размножаться *in vitro*.

Для поддержания жизнеспособности клеток применяются специальные *синтетические среды*, которые готовят из определенного набора химических веществ, поэтому они имеют постоянный и точно известный состав. Чаще всего применяют *среду 199 (Паркера)*, содержащую 61 компонент (20 аминокислот, 17 витаминов, пурины, пиримидины, глюкозу, минеральные соли, индикатор изменения рН-среды и ряд других веществ). Вариантом этой среды является *среда Игла*, в состав которой входит около 30 компонентов.

Для промывания тканей и клеток в процессе приготовления клеточных культур применяются солевые *растворы Хенкса и Эрла*. Основное назначение этих солей – создание буферности или изотоничности среды и обеспечение наиболее важными неорганическими ионами. Эти среды являются также основой для приготовления питательных сред для культивирования клеток.

Существуют культуры *переживающих тканей*, в которых клетки временно сохраняют жизнеспособность, но не размножаются, и культуры *растущих тканей*, в которых происходит активное размножение клеток.

В вирусологии используют только культуры растущих тканей, которые подразделяют на:

1. *Однослойные культуры клеток:*
 - а) первичные культуры клеток;
 - б) перевиваемые (стабильные) культуры клеток;
 - в) культуры диплоидных клеток.
2. *Культуры суспензионных клеток.*
3. *Культуры тканей.*

Однослойные культуры клеток – это культуры, клетки которых растут и размножаются, будучи прикрепленными к твердому субстрату (стеклу, пластику), образуя слой толщиной в одну клетку (монослой). Метод получения однослойных культур клеток основан на обработке исходной ткани ферментами (обычно трипсином), разрушающими межклеточные связи, в результате чего образуется взвесь изолированных клеток. При культивировании клетки прикрепляются к стеклу сосуда (пробирки, матраса) и растут в виде сплошного монослоя, благодаря чему удобно заражать их вирусами и визуально наблюдать возникающие изменения в динамике. Однослойные культуры характеризуются однородностью клеток, хорошей жизнеспособностью; можно получать большие количества подобных клеток. Обладая целым рядом преимуществ, однослойные культуры нашли широкое применение в вирусологии.

Первичные культуры клеток. Однослойные культуры клеток называют первичными, если они способны размножаться только в первой генерации. Поэтому каждый раз для приготовления первичных культур клеток берут и заражают исходный материал – эмбриональные или зрелые ткани животных, птиц или человека.

Перевиваемые культуры клеток. Это стабильные культуры клеток, которые способны бесконечно долго размножаться вне организма, если их культивировать в соответствующих условиях. Перевиваемую культуру клеток исходную (маточную) выращивают в матрасе с питательной средой 199, еженедельно пересевая культуру в новые сосуды. Например, перевиваемые культуры из амниона человека (FL, А-8), эмбриона мыши (ЗГЗ), опухолевых клеток человека (HeLa – из клеток рака шейки матки, Нер-2 – из

клеток опухоли гортани) и многие другие. В ряде стран существуют специальные центры, где хранятся банки клеточных линий. Перевиваемые культуры клеток без пересева на свежую среду быстро дегенерируют. При длительных пассажах их исходные свойства могут изменяться.

Перевиваемые культуры клеток обладают целым рядом преимуществ по сравнению с первичными. Работа с перевиваемыми культурами менее трудоёмка, они, как правило, свободны от латентных вирусов. Вирусологи различных стран могут пользоваться одними и теми же международными перевиваемыми клеточными культурами. Однако перевиваемые культуры не пригодны для производства вирусных вакцин, так как существуют опасения их возможного озлокачествления.

Полуперевиваемые культуры клеток – это диплоидные клетки человека, способные к размножению вне организма на протяжении 50 пассажей. Культуры диплоидных клеток получают из различных тканей эмбриона человека. Так, например, широко применяются штамм ДКЛЧ (диплоидные клетки легких человека), штамм MRS-5 из легочной ткани эмбриона человека. Диплоидными культурами их называют, потому что они стойко сохраняют диплоидный кариотип, присущий исходным нормальным клеткам организма – родоначальникам диплоидной линии. Культуры диплоидных клеток применяют для выделения и культивирования вирусов. Незаменимыми они оказались в производстве культуральных вирусных вакцин.

Суспензионная культура клеток – это культура, в которой отдельные клетки или их конгломераты постоянно находятся во взвешенном состоянии в жидкой среде. Культуры клеток в суспензии удается получить, если проводить их культивирование при постоянном интенсивном перемешивании среды. В таких условиях клетки не могут осесть и прикрепиться к стеклу, их рост и размножение происходят во взвешенном состоянии. Культивирование клеток в суспензии хорошо удается с перевиваемыми культурами клеток (обычно в среде Игла). Перемешивание среды достигается путем вращения пробирок в барабане с помощью магнитной мешалки. Суспензионные клетки обладают большей

активностью роста, накапливаются в большом количестве. При регулярной замене среды длительное время остаются жизнеспособными.

Методика получения первичных культур фибробластов куриного эмбриона

Куриные яйца, инкубированные 7–10 дней, просматривают в овоскопе. Убедившись в жизнеспособности эмбриона, карандашом очерчивают границу воздушного мешка. Перед вскрытием куриного эмбриона скорлупу протирают спиртом, йодом, снова спиртом и обжигают над пламенем спиртовки.

Стерильными ножницами срезают скорлупу с тупого конца по границе воздушного мешка, после чего пинцетом удаляют подскорлупную оболочку и извлекают тело эмбриона (отделяя его от головы, которую не используют). Тело эмбриона помещают в стерильную чашку Петри, куда добавляют 3–5 мл раствора Хенкса. Ткань измельчают ножницами до кусочков не более 1–2 мм.

Измельченные кусочки ткани переносят пастеровской пипеткой с широким капилляром в пробирку. Для отмывания ткани от крови в пробирку наливают 2 мл раствора Хенкса, затем дают жидкости отстояться и пипеткой удаляют её. Так повторяют 2–3 раза.

К отмытым кусочкам ткани добавляют 1–2 мл раствора трипсина и пипетируют путем насасывания пастеровской пипеткой и энергичного выдувания на стенку пробирки в течение пяти минут. Под действием трипсина клетки ткани разъединяются и образуют суспензию. После оседания более крупных тканевых частиц на дно пробирки верхний слой жидкости, содержащий взвесь изолированных клеток, переносят в центрифужные пробирки, куда наливают 3 мл гидролизата альбумина. Центрифугируют 10 минут при скорости 1000 оборотов в минуту. Затем надосадочную жидкость удаляют, а осадок ресуспендируют в небольшом количестве (5 мл) лактальбумина, чтобы клетки вновь оказались во взвешенном состоянии.

Фильтруют через марлю или сетку из нержавеющей стали. Производят подсчет клеток в камере Горяева под малым увеличением микроскопа. Определив концентрацию клеток во взвеси, её разводят гидролизатом лактальбумина до 400 000 клеток в 1 мл.

Взвесь разливают в пробирки по 1 мл, закрывают резиновыми пробками и помещают в термостат при температуре 37°C в наклонном положении под углом 5°. Через двое–трое суток при осмотре пробирок под микроскопом при малом увеличении видны вытянутые, отростчатые клетки фибробластов, растущих на стенке пробирки и образующих тонкий монослой.

Первичные культуры клеток из другого исходного материала – почечной ткани животных, эмбриона человека и др. – готовят аналогично, применяя некоторые технические особенности.

Методы индикации и идентификации вирусов в клеточных культурах

Индикация. При заражении вирусами клеточных культур возникают специфические видимые проявления действия вируса:

- *Цитопатическое (цитопатогенное) действие* вируса на культуру клеток ЦПД – это деструкция клеток, изменение их морфологии, формирование многоядерных симпластов или синцития, слияние клеток.
- Приобретение зараженной культурой клеток способности к *гемадсорбции*, т. е. к адсорбции эритроцитов на поверхности клеточного слоя.
- *Образование* в зараженной культуре клеток под слоем агарового покрытия *характерных бляшек*, являющихся негативными колониями вирусов.
- Подавление процессов метаболизма в зараженной вирусом культуре клеток, выявляемое с помощью *цветной пробы*.

Идентификация выделенного вируса проводится с помощью реакции нейтрализации с диагностическими вируснейтрализующими сыворотками. После предварительного контакта вируса с сывороткой этой смесью заражают культуру клеток и судят о наступившей нейтрализации, указывающей на соответствие вируса и сыворотки по тем же критериям.

Вирус, нейтрализованный специфической сывороткой:

- не оказывает цитопатического действия – происходит *реакция нейтрализации (торможения) цитопатического действия*;

- не вызывает реакции гемадсорбции – наступает *реакция задержки гемадсорбции*;
- не дает образования бляшек, происходит *реакция нейтрализации бляшкообразования*;
- не вызывает подавления метаболизма клеток, что выявляется в *реакции нейтрализации по цветной пробе*.

Таким путем проводят серологическую идентификацию вирусов, определяют их родовую и типовую принадлежность.

Выявление антител к вирусам

По такому же принципу ставят *реакцию нейтрализации* для определения неизвестных антител в сыворотке крови больного. В этом случае исследуемую сыворотку соединяют с известным вирусом, а затем вышеуказанными методами определяют, произошла ли реакция нейтрализации. Положительная реакция указывает на то, что антитела сыворотки соответствуют взятому для опыта известному вирусу.

2. Вирусы бактерий – бактериофаги

Вирусы, способные проникать в бактериальные клетки, репродуцироваться в них и вызывать растворение, получили название *бактериофаги* (от лат. *bacteriophaga* – разрушающий бактерии).

Особые вещества, растворяющие возбудителя сибирской язвы, открыл русский учёный Н.Ф. Гамалея в 1896 г. и назвал их *бактериолизинами*. Такие же явления, но в отношении стафилококков наблюдал английский учёный Э. Творт в 1915 г. Канадский исследователь Ф.Д'Эрелль в 1917 г. описал феномен литического действия фильтрации испражнений человека, переболевшего дизентерией, что сопровождалось просветлением бульонной культуры и образованием «стерильных пятен» на агаровой культуре возбудителя. Он назвал это явление бактериофагией, а литический агент, способный размножаться на соответствующих (гомологических) бактериях, – бактериофагом.

В дальнейшем выяснилось, что бактериофаги широко распространены в природе, они присутствуют в воде, почве, пищевых продуктах, различных выделениях из организма людей

и животных, т. е. там, где имеются бактерии. Активность бактериофагов проявляется в виде *лизиса* (растворения) своих хозяев – бактерий. Бактериофаги обнаружены почти у всех видов бактерий и получили название по виду хозяина, например, дизентерийные, сальмонеллёзные, стафилококковые, дифтерийные и т. д.

Бактериофаги отличаются по форме, структурной организации, типу нуклеиновой кислоты и характеру взаимодействия с микробной клеткой.

Морфология. Большинство бактериофагов при рассмотрении под электронным микроскопом имеют форму головастика или сперматозоида, у некоторых представителей форма кубическая или нитевидная. Размеры фагов, в зависимости от формы, находятся в пределах от 20 до 800 нм (у нитевидных фагов).

Головка большинства фагов имеет форму 6-угольной призмы, содержит нуклеиновую кислоту (ДНК или РНК) и белок. От головки отходит прямой отросток «хвост», длиной более 100 нм – продолжение белковой оболочки головки. Внутри хвостового отростка находится полый цилиндрический стержень, сообщающийся отверстием с головкой, снаружи – чехол, способный к сокращению (наподобие мышцы). Хвостовой отросток заканчивается шестиугольной базальной пластинкой с короткими шипами, от которых отходят нитевидные структуры – фибриллы, осуществляющие процесс адсорбции фага на бактериальной клетке. Различают несколько морфологических типов бактериофагов – ДНК-содержащих, РНК-содержащих с длинным или коротким аналогом отростка.

Резистентность. Фаги более устойчивы к действию химических и физических факторов, чем бактерии. Ряд дезинфицирующих веществ (фенол, этиловый спирт, эфир или хлороформ) не оказывают существенного влияния на фаги, которые инактивируются при температуре 60° по Цельсию в течение 30–60 минут. УФ-облучение приводит к быстрой гибели бактериофагов. Большинство известных бактериальных фагов выдерживают давление в несколько тысяч атмосфер и могут длительно храниться в лиофилизированном состоянии.

Взаимодействие фагов с бактериями. Для бактериофагов характерна строгая специфичность, проявляющаяся в способности лизировать бактерии только одного вида (*видовая специфичность*) либо внутри вида (*типовая специфичность*). Если фаги лизируют бактерии близких видов, входящих в один род, например в род *Shigella*, то они называются *поливалентными*.

По конечному результату взаимодействия с бактериальной клеткой все фаги разделяются на *вирулентные* и *умеренные*.

Инфицирование чувствительных бактериальных клеток *вирулентными фагами* называется *фаговой инфекцией* и сопровождается *продуктивным типом* репродукции, состоящим из этапов:

- Стадия адсорбции – при наличии соответствующих рецепторов на поверхности бактериальной клетки фаг фиксируется при помощи нитей отростка. На одной клетке может адсорбироваться 200 – 300 фагов.
- Стадия проникновения фаговой нуклеиновой кислоты внутрь бактерии происходит следующим образом: шипы базальной пластинки примыкают к бактериальной клетке, чехол сокращается, и через канал стержня нуклеиновая кислота фага впрыскивается внутрь клетки. Пустая белковая оболочка остаётся снаружи.
- Нуклеиновая кислота фага перепрограммирует обмен веществ бактерии на репродукцию нуклеиновой кислоты и белков фагов за счёт внутренних структур бактерии.
- Транскрипция, трансляция, репликация и сборка происходят примерно так же, как и при репродукции человеческих вирусов.
- Последним этапом фаговой инфекции является стадия лизиса клетки и выхода зрелых фагов, готовых к новому заражению. Далее литический процесс повторяется с новыми и новыми бактериальными клетками. Визуально в жидкой питательной среде это проявляется в виде просветления бульонной культуры, вплоть до полной прозрачности; на плотной питательной среде бактериофагия проявляется в виде прозрачных – «стерильных пятен» – фаговых колоний, которые могут сливаться в зону сплошного лизиса или сплошного «стерильного пятна».

Умеренные фаги взаимодействуют с бактериальной клеткой по интегративному типу. Они встраивают свою нуклеиновую кислоту в бактериальный геном. Фаговый геном, встроенный в геном бактериальной клетки, называется *профаг*. Профаг, ставший частью хромосомы клетки, при размножении реплицируется синхронно с геномом бактерии, не вызывая лизиса, и передается по наследству от клетки к клетке неограниченному числу потомков. Симбиоз микробной клетки с умеренным фагом (профагом) называется лизогенией, а культура бактерий, содержащая профаг, получила название *лизогенной*. Это название отражает потенциальную способность лизогенных бактерий к лизису при освобождении профага из бактериального генома и перехода в вирулентный фаг, способный вызвать продуктивную инфекцию. Произойти это может под влиянием ряда физических и химических факторов.

Лизогенные культуры по своим основным свойствам не отличаются от исходных, но они невосприимчивы к повторному заражению гомологичным или близкородственным фагом и, кроме того, приобретают дополнительные свойства, которые находятся под контролем генов профага. Изменение свойств микроорганизмов под влиянием профага получило название *фаговой конверсии*, при которой у бактерий могут изменяться культуральные, биохимические, токсигенные, антигенные свойства, чувствительность к антибиотикам. Примером изменения свойств бактерии может быть переход нетоксигенного штамма возбудителя дифтерии в токсигенный.

Иногда, переходя из интегрированного состояния в вирулентную форму, умеренный фаг может захватить часть хромосомы клетки и при лизисе её переносить эту часть хромосомы в другую клетку. Перенос ДНК или её части от одной бактерии другой при участии умеренного фага называется *трансдукцией*.

Практическое применение бактериофагов основано на их строгой специфичности действия.

Фаги применяют:

- В диагностике инфекционных болезней – с помощью известных (диагностических) фагов проводят идентифика-

цию выделенных культур микроорганизмов. Вследствие высокой специфичности фагов можно определить вид возбудителя или варианты (типы) внутри вида. Для этого применяют метод фаготипирования: на чашку с плотной питательной средой, засеянной «газоном» чистой культуры возбудителя, наносят капли различных диагностических типоспецифических фагов. Фаговар бактерий определяется тем типом фага, который вызвал ее лизис (образование стерильного пятна «бляшки» или «негативной колонии»).

- Фаготипирование имеет большое эпидемиологическое значение, так как позволяет установить источник и пути распространения инфекции. Выделение бактерий одного вида от разных больных указывает на общий источник их заражения.
- По содержанию бактериофагов в объектах окружающей среды, например в воде, можно судить о присутствии в них соответствующих патогенных бактерий. Подобные исследования проводят при эпидемиологическом анализе вспышек инфекционных болезней.
- Фаги применяют также для лечения и профилактики ряда бактериальных инфекций. Производят брюшнотифозный, сальмонеллезный, дизентерийный, синегнойный, стафилококковый, стрептококковый фаги и комбинированные препараты (колипротейный, пиобактериофаги и др.).

Лечебно-профилактические препараты бактериофагов составлены из поликлональных вирулентных бактериофагов широкого диапазона действия, активных в отношении бактерий, устойчивых к антибиотикам. Их выпускают в жидком виде, в таблетках, в виде суппозиторий, мазей. Назначают внутрь, местно для орошения ран и слизистых, для введения в полость матки, мочевого пузыря, уха, придаточных пазух носа, а также в дренированные полости – брюшную, плевральную, в полости абсцессов после удаления экссудата. Бактериофаги способны быстро проникать в кровь и лимфу. Выводятся фаги через почки с мочой, из кишечника – с фекалиями.

Бактериофаги широко применяют в генной инженерии в качестве векторов для получения рекомбинантных ДНК.

3. Генетика вирусов и взаимодействие вирусных геномов

Патогенные для человека вирусы обладают двумя основными свойствами – *наследственностью* и *изменчивостью*, изучение которых составляет предмет генетики вирусов.

Особенность строения вирусного генома заключается в том, что наследственная информация может быть записана в зависимости от типа вируса, как на ДНК, так и на РНК.

Мутации у вирусов. Спонтанные мутации у вирусов возникают во время репликации нуклеиновых кислот. Они затрагивают различные свойства вирусов.

Индукцированные мутации возникают под действием тех же химических и физических мутагенов, которые вызывают мутации у бактерий. Один из мутагенов – азотистая кислота действует на внеклеточный вирус, другие – акридин, аналоги азотистых оснований – на внутриклеточный вирус во время репликации его нуклеиновой кислоты.

Мутации вирусного генома проявляются изменениями в антигенной структуре, неспособностью вызывать продуктивную инфекцию в чувствительной клетке, изменением формы и размера бляшек, которые образуют вирусы в культуре клеток под агаровым покрытием.

Рекомбинации у вирусов. Свойства вирусов могут изменяться при одновременном заражении двумя вирусами чувствительной к ним клетки хозяина. Эти изменения можно классифицировать как генетическую рекомбинацию, генетическую реактивацию, комплементацию, фенотипическое смешивание.

При *генетической рекомбинации* происходит обмен отдельными генами между двумя или более вирусами в составе реплицирующейся ДНК, в результате чего образуются рекомбинанты, содержащие гены двух или более родителей. Рекомбинации между РНК-вирусами происходят реже и только у тех из них, кото-

рые обладают фрагментированным геномом (например, у вируса гриппа).

Генетическая реактивация перераспределения генов наблюдается между генами родственных вирусов, имеющих мутации в разных генах. В результате перераспределения генетического материала формируется полноценный геном.

Комплементация встречается в том случае, когда один из двух вирусов, инфицирующих клетку, в результате мутации синтезирует нефункциональный белок. Немутантный вирус, синтезируя полноценный белок, восполняет его отсутствие у мутантного вируса.

Фенотипическое смешивание наблюдается при смешанном заражении клеток в том случае, если часть потомства одного вируса приобретает фенотипические признаки обоих родителей, хотя их генотип остается неизменным. Например, при заражении клеток вирусами полиомиелита и Коксаки в потомстве происходит образование вирионов, содержащих РНК одного партнера, заключенную в капсид другого вируса. Данный феномен получил название «транскаркапсидация».

4. Практическое занятие № 9

Темы: Основные свойства вирусов. Вирусоскопические и вирусологические методы исследования. Бактериофаг.

План:

1. Морфология и ультраструктура вирусов.
2. Репродукция ДНК- и РНК-геномных вирусов.
3. Методы выделения и культивирования вирусов.
4. Индикация и идентификация вирусов.
5. Бактериофаги.
6. Особенности генетики вирусов.

Цель занятия

Изучить:

- биологические свойства вирусов;
- выработать четкое представление о методах, применяемых при микробиологической диагностике вирусных инфекций.

Учебно-целевые задачи

Знать:

- 1) свойства, строение и химический состав вирусов;
- 2) современную классификацию вирусов;
- 3) репродукцию ДНК- и РНК-геномных вирусов;
- 4) методы изучения и культивирования вирусов;
- 5) индикацию и идентификацию вирусов;
- 6) бактериофаги;
- 7) генетические особенности и взаимодействие вирусных геномов.

Уметь:

- 1) оценить результат индикации вирусов по ЦПД, характеру бляшек, цветной реакции, гемадсорбции;
- 2) оценить результат идентификации вирусов в культуре клеток по реакции нейтрализации, цветной пробе.

Владеть:

- 1) интерпретацией результатов исследования при диагностике вирусных инфекций;
- 2) информацией, чтобы обосновать применение препаратов для диагностики вирусных инфекций.

Демонстрации:

1. Электронных микрофотографий вирусов человека и бактерий.
2. Схемы приготовления культуры клеток из куриного эмбриона.
3. Таблиц:
 - различные типы однослойных культур клеток;
 - типы ЦПД вирусов;
 - бляшкообразование и реакция гемадсорбции в культуре клеток;
 - строение куриного эмбриона, способы заражения.
4. Флаконов:
 - с питательными средами 199 (Паркера), Игла;
 - с солевыми растворами Хенкса, Эрла.
5. Готовых результатов РГА, РТГА в лунках плексиглазовых панелей.

Самостоятельная работа

Рассмотреть на таблицах и электронограммах различные морфологические группы фагов. Зарисовать схему строения фага, отметить детали анатомической структуры.

Поставить опыт. Идентификация культуры грамотрицательного микроба с помощью воздействия специфического фага.

В две пробирки с МПБ засевают грамотрицательную культуру. В одну из пробирок добавляют петлей дизентерийный бактериофаг (опыт). Обе пробирки ставят в термостат. Через 18–20 часов в пробирке, куда бактериофаг не добавляется (контроль), наблюдается сильное помутнение бульона – произошло размножение посеянной культуры. Бульон в опытной пробирке остается прозрачным вследствие лизиса культуры под влиянием бактериофага.

Вывод: грамотрицательная культура *Shigella dysenteriae*.

Контрольные вопросы:

1. Природа, происхождение и общая характеристика вирусов.
2. Чем объясняется паразитизм на генетическом уровне?
3. Какие свойства лежат в основе классификации вирусов?
4. Морфология, ультраструктура и химический состав вирусов.
5. Репродукция вирусов.
6. Типы взаимодействия вируса с клеткой.
7. Дефектные вирусы.
8. Персистенция, вирогения.
9. Методы культивирования вирусов.
10. Культура ткани, источники получения, виды (первичные, перевиваемые, полуперевиваемые, суспендированные).
11. Методы индикации вирусов в культуре клеток (ЦПД, метод иммунофлюоресценции, бляшкообразование, включения, реакция гемадсорбции, цветная проба).
12. Оболочки и полости развивающегося куриного эмбриона.
13. Способы заражения куриного эмбриона исследуемым материалом.
14. Методы индикации вирусов в курином эмбрионе (визуальные изменения, реакция гемагглютинации).
15. Природа, ультраструктура и свойства бактериофагов.

16. Типы и основные стадии взаимодействия фага с бактериальной клеткой.
17. Вирулентные и умеренные фаги. Фаговая конверсия. Профаг, дефектный фаг. Фаги родовые, видовые, типовые.
18. Применение бактериофагов в медицинской практике.

4.1. Особенности вирусных инфекций

В основе вирусных инфекций лежит взаимодействие генома вируса с генетическим аппаратом чувствительной клетки.

4.2. Этапы патогенеза вирусных инфекций

Проникновение вирусов в организм. Основные входные ворота для возбудителей вирусных инфекций человека – дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт, реже кожные покровы. В некоторых случаях развиваются локальные поражения, но чаще в месте проникновения не возникает каких-либо проявлений или они незначительны, а возбудитель мигрирует в чувствительные ткани.

Распространение возбудителя в организме может носить локальный или системный характер.

Локальные поражения типичны для возбудителей респираторных и кишечных инфекций, а также для некоторых кожных заболеваний. Продолжительность инкубационного периода большинства подобных инфекций – двое–трое суток. Первичную репродукцию вируса часто сопровождает вирусемия, которая обычно протекает бессимптомно или по типу продромальных явлений, но иногда сопровождается выраженной клинической картиной, не вызывая при этом появления дополнительной симптоматики. Для подобных заболеваний возможно повторное заражение, так как циркулирующие антитела не проявляют протективный (защитный) эффект, а секреторный иммуноглобулин IgA оказывает лишь кратковременное нейтрализующее действие на поверхности слизистой оболочки.

Системные поражения. Из места проникновения возбудители попадают в кровоток, вызывая вирусемию, и постепенно фиксируются в чувствительных тканях. Первичное распространение обычно вызывает продромальные явления.

Поскольку вирусемия предшествует поражению чувствительных тканей, продолжительность инкубационного и продромального периодов подобных инфекций может увеличиваться до двух – трех недель. Вирусемия при системных инфекциях обычно носит двухэтапный характер. Первый этап заканчивается поглощением циркулирующих вирусов клетками ретикулоэндотелиальной системы. В дальнейшем возможно несколько вариантов:

- полная элиминация возбудителя (абортная инфекция);
- размножение вирусов в фагоцитах с последующим выходом и развитием выраженной вторичной вирусемии, сопровождающейся развитием заболевания (например, энцефалита);
- некоторые вирусы (например, вирус гриппа, пикорна и тогавирусы) слабо поглощаются фагоцитами и могут циркулировать в крови в свободном состоянии.

4.3. Типы вирусных инфекций

На уровне макроорганизма основные формы вирусных поражений принципиально не отличаются от таковых, наблюдаемых при инфицировании вирусами отдельных клеток.

Продуктивная инфекция с образованием дочерних популяций и характерными клиническими проявлениями возможна лишь при наличии в зараженном организме чувствительных клеток, в которых осуществляется репродуктивный цикл возбудителя. Например, возбудитель полиомиелита может реплицироваться только в клетках носоглотки, желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы приматов и человека.

Абортная инфекция развивается при проникновении возбудителя в нечувствительные клетки (например, при попадании вируса лейкоза коров в организм человека) либо в клетки, способные обеспечить полный репродуктивный цикл возбудителя

(например, находящийся в стадии клеточного цикла). Способность клеток к поддержанию вирусспецифических репродуктивных процессов также подавляет интерферон, противовирусный эффект которого направлен против самых различных вирусов.

Персистирующая инфекция. Многие вирусы персистируют в различных клетках организма человека. Например, аденовирусы могут длительно присутствовать в миндалинах, вирусы герпеса – в ганглиях тройничного нерва. Персистирующая инфекция проявляется в разных формах – латентной, хронической и медленной.

Латентная бессимптомная инфекция характеризуется длительным, а в некоторых случаях пожизненным носительством вируса, который не покидает организм и не выделяется в окружающую среду. В одних случаях это связано с дефектностью генома вируса, в результате чего он утрачивает способность к репродукции и образованию потомства. В других – с интеграцией вирусной ДНК или РНК в клеточный геном и развитием интегративной инфекции. При этом в клеточную хромосому может встроиться вирусная ДНК полностью, как это имеет место в случае вируса герпеса, либо происходит ее частичное встраивание (у вируса гриппа). Последствия такой интеграции непредсказуемы.

При герпетической инфекции это часто приводит к возникновению хронической инфекции, при гриппе не сопровождается видимыми изменениями в течение инфекционного процесса, что может быть связано с неполноценностью вирусной РНК или может зависеть от локуса хромосомы, в который интегрирует вирусная нуклеиновая кислота. В том случае если нуклеиновая кислота вируса встраивается вблизи промотора – генов активности клетки, может произойти нарушение регуляции синтеза белка, что приводит к нерегулируемому, неконтролируемому размножению клеток и возникновению опухоли. Так, например, первичный рак печени у людей, перенесших гепатит, связывают с встраиванием ДНК вируса гепатита В в геном гепатоцита.

У РНК-вирусов интеграция в клеточный геном происходит путем обратной транскрипции. В клетках людей стали обнаруживать тысячи копий ретровирусных генов неизвестного происхож-

дения, напоминающих транспозоны бактерий. Их стали называть ретротранспозонами вследствие образования путём обратной транскрипции. Встраивание этих ретротранспозонов в хромосомы клеток людей и животных происходит беспорядочно, что может привести к мутациям, нарушающим работу мутировавшего гена, или изменению уровня его активности. В таком случае ген становится онкогеном, индуцирующим образование опухоли.

Хронические вирусные инфекции также рассматривают как одну из форм персистенции вируса, которая продолжается в течение нескольких месяцев и даже лет. Данную форму инфекции вызывают аденовирусы, вирусы гепатита, герпеса и другие, которые периодически выделяются из организма больного во внешнюю среду.

При *абортивной инфекции* чаще всего происходит утрата клеткой вирусной нуклеиновой кислоты после ее выхода из клеточного генома.

Медленные вирусные инфекции, в основе патогенеза которых лежит длительное персистирование возбудителя в организме и замедленное повреждающее действие на клетки, развиваются после перенесенной коревой, краснушной, аденовирусной инфекции, клещевого энцефалита, цитомегалии. Длительное персистирование вирусов в организме, особенно в нейронах и клетках нейроглии, приводит к дегенерации и массовой гибели нервных клеток и развитию глубокой патологии мозга. Так через несколько лет после перенесения кори у детей и подростков может развиваться подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ). Следствием других вирусных инфекций могут быть подострые энцефалиты и другие тяжелые энцефалопатии. Во всех случаях эти инфекции заканчиваются гибелью больных.

4.4. Особенности противовирусного иммунитета (неспецифические и специфические факторы защиты)

Существование вирусов в двух формах (внеклеточной и внутриклеточной) определяет особенности иммунитета при вирусных инфекциях. В отношении *внеклеточных вирусов* действуют

те же неспецифические и специфические механизмы антимикробной резистентности, что и в отношении бактерий. Против *внутриклеточных вирусов* развивается иммунный ответ и формируются специфические механизмы защиты – синтезируются иммуноглобулины (Ig) и накапливаются сенсibilизированные цитотоксические Т-лимфоциты.

Неспецифические факторы противовирусной защиты: основными являются сывороточные ингибиторы вирусных частиц, естественные киллеры, интерферон.

Сывороточные ингибиторы вирусов. Это вирусотропные вещества, способные взаимодействовать с вирусами и подавлять их активность. По химическому составу вирусные ингибиторы представляют собой протеины, липопротеины или мукополисахариды. Они всегда присутствуют в интактном организме в сыворотке крови, тканях, секретах организма в достаточно высокой концентрации и являются первым барьером на пути вируса, проникшего в организм. Сывороточные ингибиторы специфически связываются с вирусной частицей и нейтрализуют ее, препятствуя адсорбции вируса на клетках-мишенях.

Естественные киллеры (НК от англ.: *natural* – естественный, *to kill* – убивать) являются одним из ранних механизмов противовирусной защиты. Это особая субпопуляция больших лимфоцитов, имеющих в интактном организме, с азурофильной зернистостью. В отличие от цитотоксических лимфоцитов CD-8 (Т-киллеры) способность естественных киллеров к цитолизу пораженных вирусом клеток связана с самостоятельным распознаванием «свое-чужое» на поверхности мишени. Натуральные киллеры уничтожают клетку-мишень после установления с ней прямого контакта при помощи специальных белков – перфоринов, встраивающихся в мембрану зараженной клетки, образуя в ней трансмембранный канал, через который выбрасывается содержимое цитоплазматических гранул, что приводит к лизису клетки. Такой же процесс происходит в отношении других – чужеродных клеток, таких как раковая, трансплантированная или клетка, пораженная простейшими.

Интерферон – важнейший фактор неспецифической резистентности организма человека – представляет собой семейство белков-гликопротеидов, синтезируемых клетками иммунной системы и соединительной ткани. В зависимости от того, какими клетками синтезируется интерферон, выделяют три типа: альфа-, бета-, гамма-интерфероны. Альфа-интерферон – лейкоцитарный синтезируется лейкоцитами периферической крови. Бета-интерферон – фибробластный синтезируется фибробластными клетками соединительной ткани. Гамма-интерферон иммунный вырабатывается активированными Т-лимфоцитами, макрофагами, натуральными киллерами.

Производство интерферонов. В геноме любой клетки организма содержатся гены, кодирующие синтез интерферонов. Они находятся в репрессированном состоянии. Дерепрессию этих генов могут осуществлять индукторы интерферона. Такими свойствами обладают как природные, так и синтетические вещества, например, все вирусы (включая вакцинные штаммы) или их нуклеиновые кислоты, микроорганизмы невирусной природы, экстракты из бактериальных или эукариотических клеток, некоторые антибиотики (канамицины и др.), вазодилататоры (дибазол, папаверин), ронколейкин и др.

Механизм действия. Интерфероны через геном клетки влияют на процессы репродукции вируса или пролиферации клетки. Они в клетки не проникают, а действуют только на рецепторы, расположенные на их поверхности, и оказывают влияние на процесс репродукции вируса внутри клетки, на стадии синтеза белков.

Биологические свойства интерферонов:

- оказывают универсальное ингибирующее действие как на ДНК- геномные, так и на РНК-геномные вирусы, хотя разные вирусы обладают неодинаковой чувствительностью к интерферону;
- обладают иммуномодулирующим действием, усиливая фагоцитоз, повышая активность нормальных киллеров и специфических цитотоксических клеток;
- оказывают противоопухолевое действие.

Действие интерферона тем эффективнее, чем раньше он начинает синтезироваться или поступать в организм извне, поэтому его используют с профилактической целью при многих вирусных инфекциях, например, при гриппе, а также с лечебной целью при многих хронических вирусных инфекциях, таких как парентеральные гепатиты (В, С, Д), герпес, рассеянный склероз, и др. Интерферон дает положительные результаты при лечении злокачественных опухолей и заболеваний, связанных с иммунодефицитами.

Получают интерферон двумя способами:

- путем инфицирования лейкоцитов или лимфоцитов крови человека безопасным вирусом, в результате чего инфицированные клетки синтезируют интерферон, который затем выделяют и из него конструируют препараты интерферона;
- генно-инженерным способом – путем выращивания в производственных условиях рекомбинантных штаммов бактерий, способных продуцировать интерферон. Обычно используют рекомбинантные штаммы кишечной палочки со встроенными в их ДНК генами интерферона. Интерферон, полученный генно-инженерным способом, носит название реаферон. Производство этого препарата во многом эффективнее и дешевле, чем лейкоцитарного.

Рекомбинантный интерферон нашел широкое применение в медицине как профилактическое и лечебное средство при вирусных инфекциях, новообразованиях и при иммунодефицитах.

Специфические факторы противовирусного иммунитета.

В ходе вирусных инфекций развивается специфический иммунный ответ – гуморальный и клеточный.

Гуморальный иммунитет. Вирусспецифические антитела появляются после распознавания капсидных или суперкапсидных антигенов вируса. Ведущая роль в противовирусной защите принадлежит иммуноглобулинам классов IgG, IgM, IgA, но они способны взаимодействовать только с внеклеточными вирусами, внутриклеточные структуры для них недоступны.

Наиболее существенное действие на внеклеточный вирус оказывают *секреторные антитела класса А*, которые, взаимодействуя с поверхностными антигенами вирусов, препятствуют их адсорбции на клетки макроорганизма. Это обеспечивает местный противовирусный иммунитет во входных воротах инфекции.

Неменьшее значение имеют вируснейтрализующие и комплементсвязывающие антитела.

Вируснейтрализующие антитела взаимодействуют с капсидными антигенами простых вирусов и суперкапсидными гликопротеинами сложноорганизованных вирусов, что также нарушает адсорбцию вириона к рецепторам клеток или блокирует высвобождение вирусного генома после проникновения нуклеокапсида в цитоплазму клетки.

Специфические антитела способны вызвать разрушение клетки, зараженной вирусами, активируя систему комплемента. Образующийся комплекс вирус (антиген)-антитело вызывает активацию комплемента по классическому пути. При этом фракции комплемента формируют мембраноатакующий комплекс, который присоединяется к клеточной мембране, что приводит к лизису клетки из-за необратимых повреждений структуры ее мембраны.

Не менее эффективным защитным механизмом является *антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ)*. Клетки с представленными на своей мембране вирусными антигенами связываются с антителами, которые взаимодействуют с естественными киллерами, макрофагами и нейтрофилами, что приводит к выбросу последними перфоринов, к быстрому разрушению клетки мишени вместе с вирусами.

Однако основной системой уничтожения и удаления патогенных вирусов являются **клеточные иммунные реакции**, осуществляемые цитотоксическими клетками CD-8 (Т-киллеры) без участия специфических антител. Клетки, инфицированные вирусом и приступившие к его репликации, экспрессируют вирусные антигены на своей цитоплазматической мембране в составе молекул гистосовместимости I класса. Это является сигналом для активации Т-киллеров, которые распознают зараженные вирусом клетки. Контакт активированного Т-киллера с такими клетка-

ми запускает цитотоксический механизм – осмотический лизис клетки (цитоллиз). Молекулы перфоринов, выделяемые цитотоксическими Т-лимфоцитами, образуют в мембране зараженных клеток перфориновые поры, пропускающие воду и ионы. В результате клетка-мишень погибает вследствие быстрого выравнивания ионного состава клетки и межклеточного пространства.

Цитотоксическое действие имеет место при всех вирусных инфекциях и наряду с интерфероном является ведущим фактором противовирусного иммунитета.

4.5. Методы исследования в вирусологии

Учитывая особенности биологии вирусов, надо отметить, что методы микробиологической диагностики вирусных инфекций имеют свою специфику, отличаются значительной сложностью, что связано прежде всего с абсолютным внутриклеточным паразитизмом вирусов и их малыми размерами.

Микробиологическому исследованию подвергают материал, взятый у больных и переболевших вирусными инфекциями людей, с учетом тропизма вирусов, патогенеза заболевания, пути выделения возбудителя из организма.

При заборе материала для исследования необходимо выполнять следующие условия:

- образцы материала следует отбирать как можно раньше с учетом ритма циркуляции возбудителя;
- материалы следует отбирать в объеме, достаточном для всего комплекса исследований;
- образцы следует доставлять в лабораторию незамедлительно (!), сохраняя на льду, а при более длительной транспортировке – при температуре -50°C .

Методы диагностики вирусных инфекций включают:

- **микроскопические исследования** препаратов патологического материала;
- **вирусологические исследования** с выделением и идентификацией возбудителя;

- **серологические исследования** с целью обнаружения противовирусных антител или антигенов в сыворотке крови больных вирусными инфекциями и в других исследуемых материалах;
- **молекулярно-генетические исследования** с целью обнаружения в клиническом материале фрагментов вирусной ДНК или РНК.

Микроскопические исследования – визуальное обнаружение вируса или внутриклеточных включений непосредственно в исследуемом материале с помощью световой или электронной микроскопии.

Световая микроскопия позволяет обнаружить крупные вирусы, размеры которых находятся в пределах разрешающей способности микроскопа не менее 0,2 мкм, а также внутриклеточные включения в пораженных вирусом клетках. Крупные вирусы выявляют в мазках путем окраски по Морозову серебрением (например, вирусы оспы – тельца Пашена).

Цитологические исследования при вирусных инфекциях проводятся с целью выявления клеток определенной морфологии (симпласты, многоядерные клетки) и внутриклеточных включений. Внутриклеточные включения, формирующиеся в зараженных вирусом клетках, – это места синтеза и сборки вирусных структур, которые являются продуктами взаимодействия вируса и клетки. Они могут быть в цитоплазме (тельца Бабеша-Негри, при бешенстве) или в ядрах пораженной клетки (при аденовирусной инфекции).

Электронная и иммуноэлектронная микроскопия могут использоваться для выявления в материале большого некультивируемых или плохо культивируемых вирусов. Широкое применение метода электронной микроскопии ограничивает его низкая чувствительность.

Иммуноэлектронная микроскопия отличается более высокой чувствительностью за счет реакции взаимодействия антигена с соответствующим антителом. При добавлении к исследуемому клиническому материалу специфической противовирусной сыворотки происходит взаимодействие антител с находящимися в ма-

териале антигенами вируса, что приводит к агрегации вирионов, конгломераты которых выявить значительно легче, чем отдельные вирусы.

Люминесцентная микроскопия – один из высокочувствительных методов световой микроскопии. Препараты, приготовленные из материалов, содержащих крупные вирусы, внутриклеточные включения, скопления внутривирусных антигенов, окрашивают растворами флюорохромных красителей. Используют флюоресцеин, аурумин и другие, но чаще всего акредин оранжевый. При люминесцентной микроскопии в УФ-свете окрашенные акредин-оранжевым скопления РНК-геномных вирусов и образуемые ими включения видны как светящиеся красные гранулы на фоне бледно-зеленой цитоплазмы клеток; ДНК-геномные вирусы дают изумрудно-зеленое свечение.

Иммунофлюоресцентный метод близок к предыдущему и основан на соединении антигенов (вирусов, внутриклеточных включений) со специфическими противовирусными антителами, мечеными флюорохромными красителями. Образовавшиеся комплексы дают характерное свечение при люминесцентной микроскопии. Наиболее широко применяется реакция иммунофлюоресценции (РИФ).

Вирусологический метод применяется для выделения вируса и его последующей идентификации. Для выделения вирусов используют заражение лабораторных животных, куриные эмбрионы или культуры клеток.

О репродукции вирусов в культуре клеток, зараженных вирусом, содержащим материалом, можно судить на основании следующих феноменов:

- цитопатического действия (ЦПД) вирусов;
- образования внутриклеточных включений;
- образования «бляшек под агаром»;
- реакции гемадсорбции и гемагглютинации;
- цветной пробы.

ЦПД – патологические изменения морфологии клеток, вплоть до их гибели, возникающие в результате репродукции вирусов и наблюдаемые под микроскопом. В зависимости от особен-

ностей репродуцирующихся вирусов ЦПД может отличаться. В одних случаях наступает цитолиз, сопровождаясь быстрой вакуолизацией цитоплазмы, разрушением митохондрий и гибелью клетки, а в других – формируются гигантские многоядерные клетки – симпласты или у клеток появляются выросты наподобие псевдоподий, которыми клетки соединяются, образуя сеть синцитий. Эти признаки могут служить не только для индикации вирусов, но и для их ориентировочной идентификации в культуре клеток.

Включения, образующиеся при репродукции вирусов в культуре клеток, – это структуры, не свойственные нормальным клеткам. Их можно обнаружить в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе или флюорохромами. По локализации в клетке различают цитоплазматические, ядерные и смешанные включения. Характерные ядерные включения формируются в клетках, зараженных вирусами герпеса (тельца Каудри).

Бляшки под агаром», или «негативные колонии», представляют собой ограниченные участки разрушенных вирусами клеток в сплошном монослое культуры клеток. Они видны в виде светлых пятен на фоне монослоя живых клеток. Добавление агара после заражения культуры клеток вирусосодержащим материалом ограничивает распространение вирусов по всему монослою после выхода их из разрушенной клетки и обеспечивает взаимодействие вирусов только с соседними клетками. Каждая «бляшка» образуется потомством одного вириона. Подсчитав количество «бляшек», можно определить концентрацию вирусов в исследуемом материале. Кроме того, «бляшки» разных групп вирусов отличаются по размеру, форме, срокам появления, поэтому метод «бляшек» используют для дифференциации вирусов, а также для селекции штаммов и получения чистых линий вирусов.

Гемадсорбция – способность культур клеток, зараженных некоторыми вирусами, адсорбировать на своей поверхности эритроциты. Гемадсорбирующими свойствами обладают многие вирусы (орто- и парамиксовирусы, флавивирусы, поксвирусы). Эти же вирусы могут вызывать склеивание – *гемагглютинацию* эритроцитов *in vitro*.

Гемадсорбция и гемагглютинация имеют сходный механизм. Способность к гемадсорбции и гемагглютинации зараженных вирусом клеток связана с наличием у вирусов специфических поверхностных антигенов – гемагглютининов. Для постановки реакций используют эритроциты морской свинки, кур, обезьян, 0-группы человека.

Зараженные вирусом клетки приобретают способность к гемагглютинации задолго до возникновения в них цитопатических изменений, что позволяет использовать реакцию гемагглютинации (РГА) и гемадсорбции для раннего обнаружения вирусов в зараженной культуре. Если предварительно соединить вирус со специфической иммунной вируснейтрализующей сывороткой и после добавить эритроциты, то такой инактивированный вирус теряет способность вызывать гемагглютинацию. Вируснейтрализующая сыворотка оказывает тормозящее действие на реакцию агглютинации, и по отсутствию или наступлению РГА можно судить о том, произошла ли реакция нейтрализации между вирусом и антителами сыворотки. Эта реакция получила название *реакция торможения гемагглютинации (РТГА)*, она обладает иммунологической специфичностью и может быть использована для окончательной идентификации неизвестного вируса по специфической диагностической сыворотке.

Цветная реакция также позволяет судить о репродукции вирусов в культуре клеток по изменению цвета индикатора, находящегося в *среде 199 для культивирования клеток*. Если вирусы погибли и не размножаются в культуре клеток, то клетки остаются живыми и в процессе своего метаболизма выделяют кислые продукты, изменяющие РН-среды и, соответственно, цвет среды. При репродукции вирусов нормальный метаболизм клеток нарушается (клетки гибнут) и среда сохраняет первоначальный цвет индикатора.

Серологический метод основан на обнаружении специфических антител или антигенов в сыворотке крови больных вирусными инфекциями и в других исследуемых материалах с помощью различных серологических реакций.

Более простой и доступный подход – выявление противовирусных антител в парных сыворотках крови. Образцы крови необходимо отбирать дважды: немедленно после появления клинических признаков болезни и через 2–3 недели. На наличие и развитие заболевания в период отбора первой пробы указывает *не менее чем четырехкратное увеличение титра антител*, выявленное при исследовании второй пробы.

В диагностике вирусных инфекций используют различные варианты реакций нейтрализации РН, реакцию связывания комплекса РСК, реакцию преципитации РП в геле, реакцию непрямой гемагглютинации РНГА, реакцию торможения гемагглютинации РТГА, иммуноферментный анализ ИФА, радиоиммунный анализ РИА, реакцию иммунофлюоресценции РИФ и др.

Для выявления антител и нарастания их титра в сыворотках крови больных необходимо иметь *известные вирусные антигены – диагностикумы (или антигенные диагностикумы)* – для определения вирусного антигена непосредственно в материале от больного, а также для идентификации выделенного вируса необходимы *соответствующие антивирусные диагностические сыворотки (или антительные диагностикумы)*.

Реакция нейтрализации вирусов РН. При перенесении вирусных заболеваний или вакцинации в сыворотке крови людей обнаруживаются антитела, нейтрализующие инфекционные свойства соответствующих вирусов. Их обнаруживают при смешивании испытуемой сыворотки с вирусом с последующим заражением животного или культуры клеток. Через несколько суток регистрируют результат опыта по гибели подопытного животного или по ЦПД в пробирке с культурой клеток.

Основные ингредиенты для постановки РН:

- сыворотки иммунная вируснейтрализующая (опытная) и нормальная (контрольная) одного и того же вида организма (человека или животного);
- материалы, содержащие живые вирусы;
- биологические объекты (культуры клеток, мышцы, куриные эмбрионы), на которых обнаруживают вируснейтрализующее действие иммунной сыворотки.

Последовательность постановки РН:

1) контакт вирусосодержащего материала с соответствующей иммунной сывороткой (один из этих ингредиентов заведомо известен, наличие другого определяется);

2) введение этой смеси в чувствительную биологическую систему (культуру клеток, белым мышам, куриным эмбрионам);

3) учет наличия или отсутствия нейтрализации.

Сыворотки, используемые для РН, получают или от большого (для обнаружения антител и нарастания их титра), или это диагностические сыворотки, полученные от иммунизированных кроликов (для идентификации возбудителя).

Антигены (вирусосодержащие взвеси) получают или из материала больных вирусными инфекциями, или из органов и тканей зараженных животных, куриных эмбрионов, клеточных культур.

Биологические объекты, используемые в реакции нейтрализации, являются средой, в которой проявляется действие иммунной сыворотки, нейтрализующее вирус. Поэтому выбор того или иного объекта производится с учетом свойств вируса, чувствительности самого объекта к действию вируса, а также задач исследования.

Реакция гемагглютинации РГА. Агглютинацию эритроцитов вызывают вирусы, содержащие в составе капсида или суперкапсида гемагглютинины. Гемагглютинины вирусов связываются с рецепторами эритроцитов, вызывая их склеивание (агглютинацию).

Ставят реакцию гемагглютинации в лунках плексигласовых пластин, в которые вносят вирусосодержащий материал (например, носоглоточный смыв при гриппе или культуру клеток с выращенным вирусом), после чего добавляют эритроциты. При наличии вируса эритроциты склеиваются и образуют на дне лунки осадок в виде «зонтика». При отсутствии вируса эритроциты образуют осадок в виде «пуговики».

РГА применяется в основном при диагностике острых респираторных вирусных инфекций (грипп, парагрипп), а также для обнаружения ряда других вирусов, обладающих гемагглютинирующими свойствами. Реакция проста по технике выполнения,

дает быстрый и точный результат, но не дает возможности идентифицировать вирусы. Определить вид вируса или антител в сыворотке крови больного позволяет РТГА.

Реакция торможения гемагглютинации РТГА основана на способности специфических антител связывать гемагглютинины вирусов и нейтрализовать их, лишая возможности агглютинировать эритроциты. Визуально этот эффект проявляется в «торможении» или «задержке» гемагглютинации. РТГА применяют при диагностике вирусных инфекций для выявления специфических гемагглютининов или при идентификации различных вирусов по наличию или отсутствию гемагглютинации.

Основные ингредиенты для РТГА с целью определения титра антител в сыворотке крови больного:

- сыворотка крови больного;
- диагностикум (известная взвесь вируса);
- эритроциты;
- физиологический раствор;
- плексигласовая пластина с лунками.

Последовательность постановки РТГА:

- 1) готовят двукратные разведения сыворотки (1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640) в лунках плексигласовой пластины;
- 2) во все разведения сыворотки вносится известная взвесь вируса (диагностикум);
- 3) инкубация содержимого пластины при комнатной температуре в течение часа;
- 4) во все лунки вносится взвесь эритроцитов.

Учет реакции через 30–40 минут по наличию гемагглютинации или отсутствию (торможение). «Пуговка» – свидетельство присутствия специфических антител в сыворотке крови больного. За титр (количество) антител сыворотки принимают то наибольшее разведение сыворотки, в котором наблюдается торможение гемагглютинации. Диагностическим считается титр 1:320.

РТГА с целью определения вида или типа вируса в исследуемом материале, взятом от больного, или в культуре клеток с выращенным вирусом, или во взвеси органов животного, погибшего после его заражения известным вирусом:

1) в лунки плексигласовой пластины вносится один из перечисленных материалов, например, носоглоточный смыв больного гриппом;

2) затем вносят известную диагностическую противовирусную сыворотку, например, иммунную диагностическую противогриппозную сыворотку типа А подтипа H2N2;

3) инкубируют содержимое пластины при комнатной температуре в течение часа;

4) затем во все лунки вносят взвесь эритроцитов.

Учет реакции через 30–40 минут. При отсутствии (торможении) гемагглютинации вирус в исследуемом материале соответствует антителам диагностической сыворотки (в данном примере в носоглоточном смыве установлено наличие вируса гриппа типа А подтипа H2N2).

Реакция связывания комплемента РСК заключается в том, что при соответствии друг другу антигены и антитела образуют иммунный комплекс, к которому присоединяется комплемент, т. е. происходит связывание комплемента комплексом антиген-антитело. Если комплекс антиген-антитело не образуется, комплемент остается свободным.

РСК проводят в две фазы:

I фаза (диагностическая) – инкубация смеси, содержащей три компонента антиген + антитело + комплемент;

II фаза (индикаторная) – выявление в смеси свободного комплемента путем добавления к ней гемолитической системы, состоящей из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки, содержащей антитела к эритроцитам.

В I фазе реакции при образовании комплекса антиген-антитело происходит связывание комплемента, и тогда во II фазе гемолиз сенсibilизированных антителами эритроцитов не произойдет – реакция положительная. Если антиген и антитело I фазы не соответствуют друг другу или в исследуемом образце нет антигена или антитела, комплемент остается свободным и во II фазе присоединится к комплексу эритроцит + антиэритроцитарное антитело, вызывая гемолиз, – реакция отрицательная. РСК применяется для серологической диагностики и обнаруже-

ния антигена в исследуемом материале, сероидентификации выделенных культур.

Для постановки РСК требуется предварительная подготовка ингредиентов реакции: исследуемая сыворотка больного, диагностическая иммунная сыворотка и гемолитическая сыворотка освобождаются от комплемента нагреванием при температуре $+56^{\circ}\text{C}$ 30 минут. В РСК участвует одна рабочая доза комплемента. В настоящее время выпускают сухой оттитрованный комплемент, что значительно облегчает постановку реакции.

Реакция преципитации в геле. Взаимодействие антигена с антителами происходит не в жидкости, а в геле, что позволяет лучше выявлять и фиксировать результаты взаимодействия. В качестве геля чаще всего используется агаровый или полиакриламидный гель.

Существует несколько вариантов постановки РП. Чаще с диагностической целью применяется *метод двойной диффузии*, при котором растворы, содержащие соответственно антигены и антитела, помещают в лунки, сделанные в пластинке геля, находящегося на стекле, типа предметного. При определенной экспозиции антигены и антитела диффундируют из лунок в гель и на месте их встречи образуется осадок в виде полосы преципитации, хорошо видимый невооруженным глазом. Если в растворах содержалось несколько антигенных компонентов и соответствующих антител, они диффундируют в геле с разной скоростью и могут образовывать несколько полос преципитации. Это позволяет выявить не только факт присутствия антигена, но и число составляющих компонентов. Взаимные расположения полос при помещении в соседние лунки сравниваемых антигенов дают возможность судить об идентичности составляющих их антигенов.

В другом варианте реакции раствор, содержащий антитела, смешивают с гелем до его застывания и помещения на стекло. Антиген вносится в лунку и при его диффузии в гель, содержащий антитела, образуется зона помутнения, диаметр которой пропорционален количеству антигена. Эта модификация метода, называемая по имени автора *метод Манчини*, позволяет определить количество антигена.

Тесты иммунодиффузии используются для обнаружения и идентификации антигенов вирусов в образцах исследуемого материала – в сыворотке крови, цереброспинальной жидкости, экстрактах различных органов.

Иммуноферментный анализ ИФА применяют для выявления вирусных антигенов или антивирусных антител, используя различные варианты постановки ИФА (прямой, непрямой, конкурентный). Современные методы выявления антигенов или антител используют «твердофазную» технологию, основанную на том, что один из стандартизированных компонентов реакции (антиген или антитело) заранее в производственных лабораториях фиксируется в лунках полистироловых панелей. Остается добавить в лунки исследуемый материал.

Для выявления антигена (прямая реакция) используются панели с фиксированными в лунках антителами. Если в материале содержится антиген, то он присоединяется к фиксированным антителам, образуя комплекс антиген-антитело. К образовавшему комплексу антиген-антитело вносят меченную ферментом антисыворотку*, образуется комплекс [антиген + антитело + антиантитело, меченное ферментом]*, далее к этому комплексу добавляют субстрат-хромоген. Каждый раз после добавления очередного компонента из лунок удаляют не связавшиеся компоненты путем тщательного промывания. Субстрат расщепляется ферментом, и изменяется цвет продукта реакции – реакция положительная. Интенсивность окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антител.

При отсутствии в исследуемом материале антигена взаимодействия с антителами иммунной сыворотки, фиксированными в лунках, не произойдет. При этом не связавшиеся реагенты удаляются при первом же промывании, добавленным очередным компонентам не с чем связываться, и они так же удаляются при очередном промывании. Соответственно, изменения цвета реакции не будет.

При определении антител в лунки с сорбированным антигеном последовательно добавляют сыворотку крови больного, антисыворотку, меченную ферментом, и субстрат хромоген (для

фермента). Каждый раз после добавления очередного компонента из лунок удаляют не связавшиеся реагенты путем тщательного промывания. При положительном результате изменяется цвет раствора хромогена.

Радиоиммунный анализ РИА – высокочувствительный метод, основанный на реакции антиген+антитело с применением антигенов или антител, меченных радионуклидом. После их взаимодействия отделяют образовавшийся радиоактивный иммунный комплекс и определяют его радиоактивность (β -бета- или γ -гамма-излучение) счетчиком-радиоспектрометром. Интенсивность излучения прямо пропорциональна количеству связавшихся молекул антигена и антитела. РИА применяется для выявления микробных антигенов, ферментов, гормонов, иммуноглобулинов, лекарственных веществ, содержащихся в исследуемом материале в минимальном количестве. Метод представляет определенную экологическую опасность и выполняется в специальных лабораториях.

Иммуноблотинг ИБ – высокочувствительный и точный метод, основанный на сочетании электрофореза и ИФА или РИА. ИБ позволяет:

- определять спектр антител в испытуемых сыворотках к отдельным белкам вирусов или их антигенным фракциям;
- выявлять присутствие вирусных белков-антигенов в исследуемом материале с помощью иммунных диагностических сывороток (моноклональных антител).

Антиген выделяют с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. В зависимости от молекулярной массы отдельные белки антигена движутся с различной скоростью и распределяются в гелевой пластине в виде пятен-полос, поперечных линейных зон (блотинг – от англ. *blot* пятно). Их переносят из геля на нитроцеллюлозную мембрану, на которой фракции белков антигенов прочно закрепляются. Нитроцеллюлозные листы после обработки и высушивания разрезают на полоски, содержащие все фракции белков антигенов. В настоящее время фирмы выпускают коммерческие тест-системы, в которые входят готовые блоты с антигенами известных вирусов. На эти полоски наносят сы-

воротку больного, инкубируют, отмывают от несвязавшихся антител больного и наносят сыворотку против иммуноглобулинов человека, меченную ферментом*. Образовавшийся на полоске комплекс [антиген + антитело больного + антитело против иммуноглобулинов человека]* выявляют добавлением субстрата-хромогена, изменяющего окраску под действием фермента (учет по результату ИФА).

ИБ применяют как диагностический подтверждающий метод при ВИЧ-инфекции и др.

Молекулярно-генетические методы позволяют обнаружить присутствие в исследуемом материале даже единичных копий генов, определяемых вирусом (т. е. их ДНК или РНК с определенной нуклеотидной последовательностью) и тем самым доказать наличие соответствующей инфекции.

Метод молекулярной гибридизации помогает выявить степень сходства различных ДНК. Применяется при идентификации микробов для определения их точного таксономического положения.

Метод основан на способности двухцепочечной ДНК при повышенной температуре $+90^{\circ}\text{C}$ в щелочной среде денатурировать, т. е. расплетаться на две нити, а при понижении температуры на 10°C вновь восстанавливать исходную двухцепочечную структуру. Метод требует наличия молекулярного зонда. *Зондом* называется одноцепочечная молекула нуклеиновой кислоты, меченная радиоактивным нуклидом, с которой сравнивают исследуемую ДНК.

Для проведения молекулярной гибридизации исследуемую ДНК расплетают указанным способом, одну нить фиксируют на специальном фильтре, который затем помещают в раствор, содержащий радиоактивный зонд. Создаются условия, благоприятные для образования двойных спиралей. В случае наличия комплементарности между зондом и исследуемой ДНК они образуют между собой двойную спираль.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР), или локальная амплификация нуклеиновых кислот ЛАНК. Эта реакция была предложена К. Мюллисом в 1983 г., получившим за свое открытие Нобелевскую премию в 1993 г. Это открытие стало настоящим

прорывом в молекулярной биологии и медицине. Следует отметить, что способ получения и свойства главного компонента реакции – фермента термостабильной ДНК-полимеразы, выделенной из бактерии *Thermus aquaticus*, был опубликован А. Калединым с соавт. в 1980 г.

Полимеразная цепная реакция, так же как и молекулярная гибридизация, основана на способности ДНК к денатурации и ренатурации, а также на комплементарности цепей ДНК. Новым важным принципом реакции является использование термостабильной ДНК-полимеразы, при участии которой происходит амплификация, – умножение определяемых генов (вирусных, бактериальных) или их фрагментов с определенной нуклеотидной последовательностью ДНК. В результате реакции исследуемый генетический материал накапливается в значительном количестве и может быть легко выявлен и идентифицирован. Именно на амплификации генов или их фрагментов основана «сверхчувствительность» этой реакции.

В реакции используются ингредиенты:

- определяемая ДНК вирусов или других инфекционных агентов в испытуемом биологическом материале, который предварительно концентрируется;
- праймеры (олигонуклеотиды) двух типов – короткие цепочки ДНК с нуклеотидной последовательностью комплементарной 3'концам каждой из двух цепей определяемой ДНК. Праймеры получают из нуклеиновых кислот различных вирусов и бактерий, их нуклеотидную последовательность определяют методом секвенирования;
- свободные нуклеотиды (дезоксирибонуклеозидтрифосфаты четырех типов с различными азотистыми основаниями) – необходимый материал для осуществления амплификации;
- фермент термостабильная ДНК-полимераза, которая производит достройку комплементарных цепей ДНК из пула свободных нуклеотидов. Кроме термостабильной ДНК-полимеразы, выделяемой из *Thermus aquaticus*, этот фермент получают генно-инженерным методом.

Суть метода ПЦР состоит в том, что определяемая ДНК, находящаяся в тестируемом биологическом материале, подвергается денатурации. Затем праймеры двух типов в условиях отжига присоединяются, вследствие их комплементарности, к трем концам каждой из антипараллельных цепей, восстанавливая на этом участке двухспиральную структуру ДНК. Праймеры служат «затравками» для последующей достройки цепей ДНК, осуществляемой термостабильной ДНК-полимеразой, которая использует для этой цели свободные нуклеотиды.

В результате одного цикла ПЦР количество молекул определяемой ДНК удваивается (из одной матрицы ДНК образуется две копии), то есть происходит амплификация ДНК. Обычно проводят 25–40 повторных циклов амплификации и в итоге за 2–3 часа получают миллионы копий специфического фрагмента ДНК вирусов, бактерий и др.

Полимеразную цепную реакцию проводят в 0,5–1,5 мл микроцентрифужных пробирках в амплификаторах, которые автоматически регулируют смену температуры. Каждому из трех этапов цикла амплификации – денатурации ДНК, отжига и достройки – необходима инкубация образцов при различном температурном режиме.

3-этапный цикл амплификации:

1. *Денатурация* – разъединение определяемой двухспиральной ДНК на две изолированные цепи (при нагревании до 90 – 95° С в течение 0,5–1,0 минуты).

2. *Отжиг* – восстановление двухцепочечной структуры определяемой ДНК в области присоединения комплементарного праймера (проводится при температуре 40 – 60°С 0,5 минуты).

3. *Удлинение* (элонгация) – достройка каждой цепи определяемой ДНК до исходного двухцепочечного состояния с помощью термостабильной ДНК – полимеразы (проводится при температуре 70–75°С в течение двух–пяти минут).

Наличие ДНК после повторных циклов амплификации определяют с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, автордиографией (при участии в реакции свободных нуклеотидов, меченных изотопами) или другими методами.

ПЦР – высокоспецифичная реакция, и если исследуемый образец не был комплементарен праймерам, то результат реакции отрицательный.

С помощью ПЦР возможно определение не только нуклеотидной последовательности ДНК, но также РНК, в том числе выявление РНК вирусов (для этого в реакцию вводят обратную транскриптазу).

ПЦР, являясь высокочувствительным и специфичным молекулярно-генетическим методом исследования, позволяет выявлять присутствие не только различных вирусов, но и многих других патогенных агентов. Метод особенно ценен для диагностики латентных вирусных инфекций и ВИЧ-инфекции. ПЦР применяют также при диагностике холеры с целью обнаружения гена, детерминирующего синтез энтеротоксина у холерного вибриона, бруцеллеза, легионеллеза, микобактериозов и других инфекций.

В последние годы ПЦР приобретает все большее значение как ценный экспресс-метод лабораторной диагностики инфекционных заболеваний. Неуклонно расширяется круг инфекций, при которых применяют ПЦР, совершенствуются методики постановки ПЦР, предлагаются ее различные модификации. В частности, разработана количественная ПЦР, позволяющая определять концентрацию специфических нуклеотидных последовательностей в исследуемом материале, следить за ее повышением или понижением. Такой контроль облегчает прогноз заболевания, позволяет оценивать эффективность применяемой терапии.

II. ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

2.1. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций

Острые респираторные (от лат. *respiratio* – дыхание) **вирусные инфекции** (ОРВИ) – самые распространённые инфекционные болезни человека. Широкому, нередко эпидемическому, распространению ОРВИ способствуют:

- воздушно-капельный путь распространения;
- большое разнообразие возбудителей ОРВИ (более 200 видов);
- отсутствие стойкой невосприимчивости к повторным заражениям.

Вирусы, избирательно поражающие дыхательный тракт, – возбудители ОРВИ, хотя и относятся к различным семействам и родам и представлены многочисленными антигенными разновидностями, имеют ряд общих свойств, таких как эпидемиологические, патогенетические, а отсюда – похожие клинические проявления, поэтому для микробиологической диагностики применяется единый алгоритм действий.

2.2. Семейство Orthomyxoviridae

Семейство Orthomyxoviridae (от греч. *orthos* – прямой, *муха* – слизь) – это РНК-геномные сложноорганизованные вирусы. Семейство включает род *Influenzavirus* (от итал. *influenza di freddo* – влияние холода), к которому относятся вирусы гриппа трёх серотипов: А, В и С.

Наибольшую эпидемиологическую опасность представляют вирусы гриппа типа А. Они поражают людей, животных и птиц, вызывают эпидемии и даже пандемии с высокой смертностью. Вирусы гриппа типа В способны вызывать локальные вспышки и редко – эпидемии; вирусы типа С вызывают спорадические случаи гриппа.

Вирусы рода *Influenzavirus* вызывают заболевание, получившее название грипп (фр. *grippe, grippe* – схватывать, царапать), – это острое инфекционное вирусное заболевание человека, характеризующееся поражением респираторного тракта, общей интоксикацией, лихорадкой, нарушением деятельности сердечно-сосудистой системы.

Морфология. Вирионы имеют сферическую форму диаметром 80–120 нм, в свежем патологическом материале обнаруживают палочковидные или нитевидные формы; состоят из сердцевины и наружной липопротеидной оболочки. Сердцевина содержит однонитевую линейную фрагментированную минус-РНК, белковый капсид, имеющий спиральный тип симметрии. Нуклеокапсид окружён слоем матриксных и мембранных белков М, которые участвуют в сборке вириона. На поверхности суперкапсидной оболочки имеются шипы гликопротеидной природы, одни из которых являются гемагглютининами Н – около 500 шипиков, другие – нейраминидазой N примерно 100.

Культивирование и репродукция. Вирусы гриппа культивируются в куриных эмбрионах и в культурах клеток. Оптимальной средой являются куриные эмбрионы, в амниотической и аллантоисной полостях которых вирус репродуцируется в течение 36–48 часов. Ещё более чувствительными к вирусу гриппа являются первичные культуры клеток почек эмбриона человека ПЭЧ и некоторых животных ПО. Репродукция вируса в этих культурах сопровождается слабовыраженным цитопатическим действием (ЦПД), напоминающим спонтанную дегенерацию клеток.

Вирусы гриппа адсорбируются на гликопротеиновых рецепторах клеток, в которые они проникают путём рецепторного эндоцитоза. В ядре клеток происходят транскрипция и репликация вирусного генома. При этом считываемые отдельные фрагменты РНК в виде и-РНК транслируются на рибосомы, где происходит синтез вирусспецифических белков. После репликации вирусного генома формируется фонд вирусных РНК, который используется при сборке новых нуклеокапсидов.

Антигенная структура. Вирусы гриппа имеют внутренние и поверхностные антигены. Внутренний антиген S (S – от англ.

solution – растворимый) включает рибонуклеиновую кислоту и белок, является основным типоспецифическим антигеном, обладает комплементсвязывающими свойствами, на основании которых вирусы гриппа подразделяются на типы А, В, С.

Поверхностные антигены V (V – от англ. *viral* – вирусный) представлены *гемагглютинином* H и *нейраминидазой* N. H – основной специфический антиген, вызывающий образование вируснейтрализующих антител антигемагглютининов и обеспечивающий адсорбцию вируса на клетках, в том числе эритроцитах человека или животных, в результате чего происходит их склеивание (гемагглютинация). N вызывает образование антител, частично нейтрализующих вирусы. Являясь ферментом, N участвует в проникновении внутрь и освобождении вирусов из клетки. Изменение структуры одного из этих антигенов всегда сопровождается появлением нового серологического варианта вируса гриппа.

Особенностью вируса гриппа типа А является изменчивость антигенов H и N. В соответствии с развившейся антигенной специфичностью поверхностных антигенов H и N в настоящее время известно 16 подтипов H и 10 подтипов N. Эпидемическое значение для людей имеют вирусы, содержащие три подтипа H (H1, H2, H3) и два подтипа N (N1, N2). Остальные варианты H и N антигенов выделены от инфицированных вирусом гриппа животных и птиц. Различные сочетания вариантов H и N антигенов формируют патогенные для человека подтипы вируса типа А, это H1N1, H2N2 и H3N2.

Антигенная изменчивость обусловлена двумя генетическими процессами – антигенным дрейфом и антигенным шифтом.

Дрейф антигенов – незначительные изменения в структуре H или N антигенов, возникающие в результате точечных мутаций в кодирующих генах. В результате гемагглютинин H и нейраминидаза N из года в год претерпевают мелкие антигенные изменения, которые тем более значительны, чем дольше вирус циркулирует среди населения, и приводит к тому, что через 2–3 года выработанный ранее иммунитет не обеспечивает защиту от нового варианта вируса типа А.

Шифт (англ. *shift* – скачок) обусловлен пересортировкой и полной заменой гена, кодирующего гемагглютинин Н или нейраминидазу N. Шифт происходит в результате генетических рекомбинаций с полной сменой антигенов. Образование и селекция рекомбинантов осуществляются при одновременном инфицировании клетки вирулентными и инактивированными штаммами вируса гриппа либо двумя вирулентными штаммами, отличающимися структурой антигенов, либо вирусами человека и птиц. Вирусы гриппа, кроме людей, могут инфицировать также животных и птиц, поэтому в результате совместного персистирования в клетке вирусов гриппа человека и птиц (или животных) могут появляться рекомбинанты, высокопатогенные для человека. Доказательством этого могут служить случаи заболевания людей птичьим гриппом. Наибольшей патогенностью для человека обладают некоторые подтипы вирусов птичьего гриппа с гемагглютинидами H5 или H7 (H5N1, H7N1).

Вирусы гриппа типа В также подвергаются антигенным вариациям, но не так часто и не таким глубоким, как вирусы типа А.

Вирус типа С наиболее однороден и стабилен.

Резистентность. В воздухе вирусы гриппа могут сохранять инфекционные свойства при комнатной температуре в течение нескольких часов: чем выше температура и относительная влажность воздуха, тем быстрее инактивируются вирусы. Возбудители гриппа чувствительны к действию ультрафиолетовых лучей, многим дезинфицирующим средствам (формалину, этиловому спирту, фенолу, хлорамину), жирорастворителям; в жидкой среде инактивируются при температуре 50–60°С в течение нескольких минут. Длительное время сохраняются в замороженном состоянии в глицерине.

Эпидемиология. Из всех острых респираторных вирусных инфекций грипп является наиболее массовым и тяжёлым заболеванием. Вирусы гриппа постоянно циркулируют среди населения, вызывая сезонные подъёмы заболевания, периодически приобретающие характер эпидемий и даже пандемий, охватывающих до 50 % населения земного шара и более, нанося огромный ущерб здоровью людей и экономике стран. Это особенно характерно для

вируса гриппа А. Практически каждая большая эпидемия гриппа связана с появлением и распространением среди населения нового серологического варианта вируса (таблица 2).

Одна из самых тяжёлых пандемий гриппозной инфекции в 1918–1919 гг. была первично зарегистрирована в Испании, позднее охватившей практически всё население Земли, характеризовалась развитием исключительно тяжёлых геморрагических пневмоний с рекордным показателем смертности до 1 % всех случаев (1,5 млрд человек, из них 20 млн погибших).

Таблица 2 – Пандемические циклы гриппа, вызываемые вирусом типа А

Пандемический подтип	Наименование пандемии	Годы циркуляции
A(H1N1)	Испанский грипп	1918–1956
A(H2N2)	Азиатский грипп	1957–1967
A(H3N2)	Гонконгский грипп	1968 г. – по наст. время
A(H1N1)	Испанский грипп	1977 г. – по наст. время

Ответственен за «испанку» вирус гриппа А H1N1. Следующая пандемия 1957–1959 гг. началась в Сингапуре, возбудителем пандемии стал вирус типа А подтип H2N2. Грипп получил название «азиатского», инфекция охватила 2 млрд человек. В 1968–1970 гг. пандемическим штаммом стал вирус типа А подтип H3N2. Грипп получил название «гонконгского» в соответствии с местом первичного выделения вируса. Заболевших было около 1 млрд человек.

Между описанными пандемиями нет одинаковых временных промежутков, и причиной были разные подтипы вируса гриппа А. Известно, что к моменту начала каждой следующей пандемии предыдущий пандемический штамм уже «уходил» из человеческой популяции. Однако считается, что эти вирусы продолжают циркулировать среди животных, сохраняя возможность «вернуться». Так, в 1977 году наряду с вирусом А подтип H3N2 от людей опять стал выделяться вирус А подтипа H1N1. И в последние годы в эпидпроцессе одновременно участвуют вирусы гриппа типа А H3N2 и H1N1, а также вирус гриппа типа В. Поэтому именно

такие разновидности вирусов включены в состав современных вакцин для профилактики гриппа. Однако, несмотря на создание профилактических средств, грипп относят к числу неуправляемых инфекций, поэтому так важна созданная ВОЗ программа глобального эпиднадзора за гриппом, в которой участвуют многие страны. Результаты наблюдений позволяют прогнозировать распространение вируса в следующем году и отбирать актуальные штаммы для изготовления вакцин.

Патогенез. Входные ворота инфекции – верхние дыхательные пути. Первичная репродукция вирусов происходит в клетках эпителия респираторного тракта. Развиваются воспаление, отёк, набухание базальной мембраны и отторжение клеток поверхностного эпителия. Через повреждённые эпителиальные барьеры вирус гриппа А проникает в кровоток и вызывает вирусемию. Одновременно продукты распада клеток также всасываются, оказывают токсическое и сенсибилизирующее действие на организм. Инфицированные клетки начинают вырабатывать интерферон, обладающий неспецифическим противовирусным действием. Вирус активирует систему протеолиза, вызывает повреждение эндотелия капилляров. Это повышает проницаемость сосудов и серозных оболочек, что вызывает геморрагии (кровоизлияния) и нарушение гемодинамики с расстройством микроциркуляции. При попадании вирионов непосредственно в альвеолы может развиваться первичная острая гриппозная пневмония – частая причина смерти у ослабленных людей. При гриппе также развивается вторичный иммунодефицит, что предрасполагает к развитию вторичной бактериальной инфекции. Вторичная бактериальная пневмония – также частая причина смерти.

Клиника. Инкубационный период 1–2 дня. Клинические проявления сохраняются 3–7 дней. Реконвалесценция 7–10 дней. При гриппе типа А начало болезни острое, у больного обычно наблюдается интоксикация: лихорадка с ознобом, суставные и мышечные боли, сильная головная боль. Вирус гриппа А – пневмо- и нейротропен, поэтому возможно развитие нейротоксикоза, в результате чего может наступить смерть (чаще у детей). Развивается катар верхних дыхательных путей – саднящий сухой

кашель, боли за грудиной, охриплость голоса, ринит и ринорея. Характерен геморрагический синдром – кровоизлияния в кожу, слизистые оболочки глаз, дыхательных путей и во внутренние органы, повышенная кровоточивость. Опасное осложнение – геморрагическая пневмония и отёк лёгких, в результате чего быстро наступает смерть.

Осложнения при гриппе проявляются в виде бактериальной суперинфекции, обычно вызванной пневмококками или золотистым стафилококком. Грипп А также может осложниться нарушениями функции нервной, сердечно-сосудистой систем, нарушениями функций печени и почек и др.

Грипп В обычно протекает легче, чем грипп А, и может сопровождаться такими симптомами, как конъюнктивит, глазная боль или фотофобия. Кроме того, вирус типа В не обладает нейротропностью. Грипп, вызванный вирусами типа С, протекает легко.

Иммунитет. Механизм противовирусного иммунитета связан с естественными факторами противовирусной неспецифической защиты, главным образом с продукцией интерферона и натуральными клетками-киллерами НК.

Специфический иммунитет обеспечивается вируснейтрализующими типоспецифическими сывороточными антителами, которые появляются на 7–8-й день болезни и достигают максимального уровня через 2–3 недели. Количество их сохраняется высоким в течение месяца, а затем постепенно снижается. В ходе выздоровления (реконвалесценции) важна роль клеточного иммунитета (НК-клетки и специфические цитотоксические Т-лимфоциты разрушают клетки, инфицированные вирусом). Продолжительность специфического иммунитета, приобретённого после гриппозной инфекции, вопреки прежним представлениям, измеряется несколькими десятилетиями. К этому заключению пришли на основании наблюдения 1977–1978 гг., когда после 20-летнего отсутствия в популяцию людей «вернулся» вирус гриппа типа А подтип H1N1. Тогда было установлено, что данный вирус, отсутствовавший с 1957 года, поражал в 1977 году только лиц старше 20 лет, которые ранее не контактировали с этим подтипом вируса и не имели иммунитета.

Таким образом, постинфекционный иммунитет, вызванный вирусом гриппа А, длительный, прочный, но высокоспецифичный (он типовой, подтиповой и даже варианто-специфичен).

Микробиологическая диагностика. Материалы для исследования: отпечатки из носовой полости, носоглоточное отделяемое. В первые три дня болезни мазки забирают сухими или влажными ватными или марлевыми тампонами с задней стенки глотки и носа. Тампоны опускают в стерильные пробирки с раствором Хенкса или среды 199. В летальных случаях используют кусочки пораженной легочной ткани, соскобы слизистой оболочки трахеи и бронхов. Основные методы диагностики – вирусоскопический, вирусологический и серологический.

Экспресс-диагностика основана на обнаружении вирусного антигена в эпителиальных клетках верхних дыхательных путей – в мазках-отпечатках из носа и смывов носоглотки в реакциях иммунофлюоресценции РИФ с помощью диагностических иммунных сывороток. РИФ позволяет дифференцировать серологические типы вируса гриппа А, В или С.

Вирусологический метод

Выделение вируса гриппа из носоглоточных смывов проводят заражением 10–11-дневных куриных эмбрионов в амниотическую и аллантоисную полости. После трех дней инкубации при 35°C наличие вируса в амниотической и аллантоисной жидкости определяют с помощью реакции гемагглютинации с эритроцитами кур, морской свинки или человека. Серологическую идентификацию для определения типа вируса проводят с помощью РСК, подтип вируса устанавливают в реакции торможения гемагглютинации РТГА с соответствующими диагностическими противогриппозными сыворотками.

Выделение вирусов в культуре клеток осуществляют путем заражения первичных культур почек эмбриона человека ПЭЧ или обезьян ПО. Индикацию вирусов проводят по цитопатогенному действию ЦПД, образованию «бляшек», реакции гемагглютинации РГА и гемадсорбции, наличию включений. Для идентификации вирусов по антигенной структуре применяют РСК, РТГА, ИФА.

Серологический метод. Диагноз ставят при четырехкратном увеличении титра антител в парных сыворотках от больного, полученных с интервалом в 10–14 дней. Применяют РТГА, РСК, ИФА, РБН вирусов.

Лечение. В большинстве случаев течение гриппа доброкачественное и требует только симптоматического, патогенетического лечения, назначения отхаркивающих, антигистаминных препаратов, витаминов, которые несколько облегчают состояние больных.

Лечение противовирусными препаратами должно быть начато еще до возникновения клинических проявлений гриппа, более поздний прием практически не эффективен. Существует два класса препаратов: ингибиторы нейраминидазы и ингибиторы матриксного белка. Отдельную группу представляют препараты интерферона, обладающего противовирусным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием.

Ингибиторы нейраминидазы: озельтамивир (тамифлю) и занамивир эффективны против многих штаммов вируса гриппа. Эти препараты подавляют распространение вируса в организме, снижают тяжесть симптомов, сокращают продолжительность заболевания и уменьшают частоту вторичных осложнений.

Ингибиторы матриксного белка – препараты ремантадин, амантадин – обладают противовирусной активностью в отношении различных подтипов вируса гриппа А. Ремантадин подавляет синтез М-белка, что приводит к нарушению цикла репродукции и препятствует формированию полноценных вирионов.

Названные лекарственные вещества вызывают ряд побочных действий (возбуждение ЦНС, желудочно-кишечные расстройства), из-за чего их не назначают беременным, детям до семи лет, лицам с нарушенными функциями печени и почек, тиреотоксикозом.

Препараты интерферона неспецифически угнетают репродукцию вирусов. Применяют интраназально человеческий лейкоцитарный интерферон или гриппферон, содержащий рекомбинантный интерферон. Можно применять препараты – индукторы эндогенного интерферона: арбидол, амиксин, циклоферон, кагоцел, обладающие противовирусным и иммуномодулирующим действием.

При тяжелых формах гриппа, особенно у детей, в первые 3 дня болезни показано введение противогриппозного иммуноглобулина. Если присоединяется бактериальная инфекция, назначают антибиотики.

Профилактика. Для неспецифической профилактики гриппа проводятся противоэпидемические мероприятия, ограничивающие распространение гриппа аэрогенно и контактно (изоляция больного, карантин в детских коллективах и лечебных учреждениях, дезинфекция белья, посуды, ношение масок, тщательное мытье рук и т. д.), применяют интраназально препараты альфа-интерферона.

Для экстренной профилактики контактным во время эпидемии применяют те же средства, что и для лечения, основные – препараты интерферона и иммуномодуляторы.

Специфическая плановая профилактика состоит в применении вакцин перед началом эпидемического сезона (октябрь – середина ноября). В результате заболеваемость снижается в 2,5 раза у привитых лиц по сравнению с непривитыми.

Существует несколько типов гриппозных вакцин, которые постоянно совершенствуются – повышается их иммуногенность, улучшается технология получения и очистки. Эффективность гриппозных вакцин зависит, главным образом, от степени антигенного соответствия штаммов вируса гриппа, входящих в вакцину, и штаммов, вызывающих данную эпидемию. Поэтому современные вакцины содержат штаммы различных подтипов вируса, которые заменяют каждые 2–3 года в соответствии с эпидемиологическим прогнозом. В настоящее время вакцины готовят из актуальных штаммов вирусов А (H3N2), А (H1N1) и вируса типа В. По технике получения вакцины отличаются:

- *Цельновирионные вакцины* – инактивированные (убитые) и авирулентные живые.

Инактивированные цельновирионные вакцины могут вызывать аллергию у лиц с повышенной чувствительностью на куриный белок.

Живые вакцины содержат аттенуированные (ослабленные) штаммы вирусов гриппа, создают наиболее полноценный, в том числе местный, иммунитет.

- *Расщепленные вакцины* содержат внутренние и наружные антигены вирусов. Высокоочищенные «расщепленные» вакцины содержат полный набор вирусных антигенов, но из них удалены липиды внешней оболочки, чтобы уменьшить пирогенный эффект.
- *Субъединичные вакцины* являются наиболее очищенными, содержат наружные Н и N антигены вирусов гриппа. Современные субъединичные вакцины нового поколения обладают также иммуномодулирующим действием за счет полимеров адьювантов.
- *Субвирионные*, или «химические», вакцины содержат только протективные антигены Н и N.

Для поддержания напряженного иммунитета требуется ежегодная ревакцинация, однако следует помнить, что частое введение вакцин может дать поствакцинальные осложнения – развитие иммунологического паралича, а у беременных может быть повреждение плода.

2.3. Семейство *Paramyxoviridae*

Семейство *Paramyxoviridae* (от лат. *para* – около, *муха* – слизь) включает три рода: *парамиксовирусы* – возбудители парагриппа и эпидемического паротита; *морбилливирусы* – возбудители кори; *пневмовирусы RS* – возбудители респираторно-синцитиальной инфекции.

Парагрипп – антропонозная острая респираторная вирусная инфекция. Характеризуется воздушно-капельным механизмом передачи возбудителя, сопровождается выраженной общей интоксикацией и поражением верхних дыхательных путей, преимущественно гортани.

Структура вируса и антигенные свойства. Вирусы парагриппа имеют шаровидную форму размером 150–200 нм, геном вируса представлен РНК, окружен капсидом и суперкапсидом. У вируса парагриппа различают глубокий S-антиген, связанный с РНК и белком, и поверхностный V-антиген, состоящий из гемагглютинаина (H-антиген) и нейраминидазы (N-антиген), имеется

также антиген слияния с оболочкой клетки F (от англ. fusion – слияние). По строению гемагглютинина и нейраминидазы известны 5 серотипов вируса парагриппа человека. Они различаются между собой по способности к росту на клеточных культурах, способности давать гемадсорбцию и гемагглютинацию, неодинаковую у разных серотипов в отношении эритроцитов различных животных. Все серотипы обладают нейраминидазной активностью, гемолитическими и симпластобразующими свойствами. Вирус парагриппа типа 1 – вирус Сендай – часто используют для изучения генетики и получения гибридов, так как вызывает слияние клеток.

Культивирование вируса парагриппа осуществляют в первичных и перевиваемых культурах клеток человека и обезьян. Выраженность ЦПД зависит от серотипа.

Патогенез. Инкубационный период – 1–6 дней. Болеют люди любого возраста, но чаще дети до пяти лет (среди всех ОРВИ для взрослого населения доля парагриппа составляет около 20 %, для детского – около 30 %). Источник заражения – инфицированный человек (с явными проявлениями заболевания или с бессимптомным течением). Восприимчивость к парагриппу всеобщая (заражаются и взрослые, и дети). У детей болезнь протекает, как правило, тяжелее, чем у взрослых, что связано с возможностью развития ложного крупа. Больной заразен приблизительно через 24 часа после инфицирования. Путь передачи – воздушно-капельный, входными воротами инфекции являются слизистые оболочки глотки и гортани. Парагриппозные вирусы репродуцируются в эпителиальных клетках слизистой оболочки носоглотки, вызывая гибель клеток. Патологический процесс быстро спускается в нижние отделы респираторного тракта, поражая в первую очередь гортань (возникает ларингит или ларинготрахеит), а затем бронхи (бронхит или бронхиолит) и несколько реже – слизистую оболочку носа (ринит). Все больные жалуются на осиплость или охриплость голоса (у некоторых – вплоть до полной афонии), першение или боль в горле, кашель (вначале сухой, затем переходящий во влажный с выделением серозной мокроты; если присоединяется бактериальная инфекция, начинает выделяться гной-

ная мокрота). Температура тела при парагриппе, как правило, невысокая (у взрослых не более 38°C, у детей может быть выше) либо нормальная. Во время болезни развивается инфекционный, а после перенесенного заболевания – постинфекционный астенический синдром: слабость, утомляемость, головные и мышечные боли. Продолжительность болезни, если нет осложнений, в среднем 5 – 7 дней. Кашель может сохраняться до двух недель и больше.

Увеличение числа заболеваемости парагриппом обычно фиксируется весной и осенью, но случаи болезни наблюдаются круглогодично.

Иммунитет. После перенесенной инфекции формируется типоспецифический гуморальный иммунитет. В сыворотке крови обнаруживаются комплементсвязывающие, вируснейтрализующие, антиагглютинирующие антитела. Важное значение имеют секреторные антитела s IgA.

Лабораторная диагностика

Вирусоскопический метод. В острой стадии парагриппозной инфекции для обнаружения вирусного антигена в эпителиальных клетках слизистой оболочки носоглотки применяют РИФ.

Вирусологический метод. Выделение вируса производят путем заражения культуры клеток носоглоточным смывом. Идентификацию вирусов производят по характеру ЦПД и в РТГА, РСК, РН.

Серологический метод. Проводится с применением РН, РТГА с парными сыворотками больных. Имеет значение нарастающие титра антител.

Лечение. Симптоматическое. Больным показаны прием витаминных комплексов, постельный режим, теплые напитки и ингаляции. По мере необходимости (при выраженной лихорадке выше 38–38,5°C) – жаропонижающие средства. При сильном сухом кашле назначают противокашлевые средства; когда кашель становится влажным, противокашлевые препараты заменяют на отхаркивающие средства. В случае присоединения бактериального бронхита или других осложнений проводится лечение антибиотиками.

Осложнения парагриппа связаны большей частью с риском возникновения бактериального бронхита и пневмонии. У детей опасность парагриппа связана с возникновением ложного крупа. Наибольшее внимание следует уделять детям с ларингитом: если появляется затрудненное свистящее дыхание, что является одним из признаков ложного крупа, необходимо срочно обратиться за помощью к врачу. До его приезда показаны горячие ножные ванны, десенсибилизирующие средства и паровые ингаляции.

Прогноз заболевания в большинстве случаев благоприятный.

Профилактика – только неспецифическая. Вакцинопрофилактика отсутствует.

2.4. Эпидемический паротит

Эпидемический паротит – острое антропонозное вирусное заболевание с воздушно-капельным механизмом передачи, характеризуется общей интоксикацией, поражением околоушных слюнных желёз, реже других железистых органов и нервной системы.

Вирус эпидемического паротита по строению вириона и своим свойствам – типичный представитель парамиксовирусов. Его однонитевая нефрагментированная минус-РНК кодирует 8 белков синтеза, в том числе Н, N и F суперкапсидной оболочки. Вирус обладает гемолитической, гемагглютинирующей и нейраминидазной активностью, способностью образовывать синцитий, поверхностным и глубоким антигенами, но в отличие от вируса парагриппа у него нет сероваров. Размножаясь в курином эмбрионе, он теряет свою инфекционность, что используют для приготовления живых вакцин.

Резистентность. Вирионы обладают малой устойчивостью к факторам внешней среды. Чувствительны к дезинфицирующим веществам (2 %-му фенолу, формальдегиду, 1 %-му лизолу, спирту), эфиру, высушиванию, ультрафиолетовым лучам, высоким температурам, инактивирующим вирусы за несколько минут. Устойчивы к низким температурам, сохраняют жизнеспособность при замораживании в течение нескольких месяцев.

Эпидемиология и патогенез эпидемического паротита. Источником инфекции является больной человек в острой и стертой форме, который выделяет возбудителя со слюной и с мочой в последние дни инкубационного периода и до 9-го дня заболевания. Основной путь заражения воздушно-капельный, но возможен и бытовой – через загрязненные слюной и мочой предметы, игрушки, а также трансплацентарный. Заболеваемость высока в детском возрасте, особенно среди мальчиков от 5 до 15 лет.

Больной наиболее заразен в инкубационном периоде (11 – 23 дня) и первую неделю клинических проявлений болезни. Входными воротами инфекции являются слизистые оболочки полости рта, носоглотки, носа.

Первичная репродукция вируса происходит в эпителиальных клетках носоглотки, затем по стеновому протоку вирус попадает в клетки околоушных желез, где размножается. С током крови вирус заносится во внутренние органы и фиксируется в яичках или яичниках, или поджелудочной и щитовидной железах, головном мозге.

Основными симптомами эпидемического паротита являются воспаление, отёчность и болезненность при пальпации слюнных желёз. При благоприятном течении заболевание заканчивается выздоровлением к восьмому – десятому дню болезни. При тяжёлых формах инфекции могут развиваться осложнения, из них наиболее опасные – орхит и менингит.

Иммунитет после перенесенной инфекции стойкий, пожизненный. Дети первых трех месяцев жизни не восприимчивы к инфекции из-за циркуляции в крови материнских иммуноглобулинов класса G, передающихся плоду через плаценту в период внутриутробного развития и обеспечивающих врождённый пассивный иммунитет, который может сохраняться в течение шести месяцев.

Микробиологическая диагностика эпидемического паротита. При типичном течении инфекции с поражением околоушных слюнных желёз диагноз эпидемического паротита легко ставится по клиническим проявлениям без лабораторного подтверждения. При атипичных формах и стёртой клинической картине используют вирусологический и серологический методы.

Исследуемые материалы – слюна, ликвор, моча, сыворотка крови.

Вирусологический метод – возбудителя выделяют заражением развивающихся куриных эмбрионов или культуры клеток почек обезьян ПО, эмбриона человека ПЭЧ, клеток рака шейки матки HeLa и др.

Индикация вируса проводится в куриных эмбрионах – при помощи РГА, культурах клеток – по наличию ЦПД и РИФ.

Идентификацию выделенного вируса осуществляют при помощи РТГА, РИФ, РН, РСК.

Серологический метод – ставят реакции РТГА, РСК, ИФА и другие с парными сыворотками больного, взятыми с интервалом в 10–15 дней, первую сыворотку необходимо брать в ранние сроки заболевания. Нарастание титра антител в 4 и более раз указывает на паротитную инфекцию.

Лечение при лёгких формах эпидемического паротита проводится только симптоматическое. При тяжелых формах, сопровождающихся поражением ЦНС (менингит, менингоэнцефалит), применяют препараты интерферона – лейкоцитарный интерферон и рекомбинантные интерфероны (реоферон, вифирон), а также патогенетическую терапию.

Специфическая профилактика плановая для формирования активного иммунитета осуществляется живой вакциной из ослабленного штамма вируса, выращенного в первичной культуре клеток эмбрионов японских перепелов. Вакцинация осуществляется в 12-месячном возрасте ребенка, ревакцинация – в 6 лет.

2.5. Вирус кори и ПСПЭ

Корь – острое вирусное антропонозное заболевание, проявляющееся интоксикацией, лихорадкой, катаральным поражением верхних дыхательных путей и своеобразной пятнисто-папулезной сыпью.

Возбудитель кори относится к *семейству Paromyxoviridae*, роду *Morbillivirus*.

Строение вириона. Вирион имеет шаровидную форму, размер – 150–300 нм. Вирус сложноорганизованный, снаружи при-

сутствует липопротеиновый суперкапсид со множеством шипиков на поверхности. Под внешней оболочкой расположены капсид и геном – крупная молекула линейной однонитчатой минус-РНК.

Репродукция вируса кори происходит по тем же закономерностям, что и у остальных вирусов.

Антигены. Поверхностные – гемагглютинин Н и нейраминидаза N, внутренние – нуклеокапсидные S. Все известные штаммы вируса кори идентичны в антигенном отношении. Антитела против этих антигенов проявляют вируснейтрализующую активность и цитотоксическое действие по отношению к инфицированным клеткам.

Эпидемиология. Корь – высококонтагиозное заболевание, нередко дает эпидемические вспышки. Источником инфекции является больной человек. Основной путь инфицирования – воздушно-капельный, реже – контактный. Наиболее восприимчивы дети двух – шести лет. До шести месяцев у детей имеется пассивный естественный иммунитет. В последнее время в связи с активно проводимой вакцинацией детей младшего возраста заболеваемость корью у них снизилась, но стали чаще болеть дети старшего возраста и молодые люди. Они в дошкольном возрасте были вакцинированы, но через 8–10 лет напряженность поствакцинального иммунитета снижается и становится недостаточной для предотвращения заболевания.

Патогенез и клинические проявления. В развитии кори выделяют 4 периода: *инкубационный, катаральный* (продромальный), *высыпания и пигментации*.

Входными воротами инфекции служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей, в эпителиальных клетках которых и в регионарных лимфатических узлах происходит первичная репродукция вируса. Затем вирус попадает в кровоток, что соответствует трем – пяти суткам инкубационного периода, с током крови – в клетки мононуклеарной системы – селезенки, печени, костного мозга, миндалин, где осуществляется вторичная репродукция вируса. Гибель клеток вызывает вторую волну вирусемии и совпадает с катаральным периодом. В процесс вовлекаются ЦНС, слизистые оболочки верхних дыхательных путей и поло-

сти рта, конъюнктивы. Увеличивается проницаемость сосудов, появляются очаговые отеки и дистрофия эпителия. На слизистой оболочке щек возникают точечные участки некротизированного эпителия с последующим слущиванием – пятна Филатова-Коплика-Бельского, являющиеся дифференциально-диагностическим признаком кори. На коже появляется сыпь пятнисто-папулезного характера. К концу первых суток сыпь покрывает все лицо и шею, а на третьи – четвертые сутки – все туловище и конечности. К пятому дню появляются вируснейтрализующие антитела и вирус в крови не обнаруживается. Заболевание длится 7–8 дней, сыпь исчезает, не оставляя следов, выздоровление сопровождается стойкой невосприимчивостью к повторным заражениям.

Перенесённая коревая инфекция приводит к развитию вторичного иммунодефицита, способствующего появлению осложнений как вирусной, так и бактериальной природы (бронхопневмонии, воспаление среднего уха, ангины, менингоэнцефалиты и другие, особенно опасные для детей первого года жизни).

Легко протекает митигированная корь, которая встречается у привитых людей, – отсутствуют лихорадка, интоксикация, катаральные явления и высыпания выражены слабо.

Иммунитет. После перенесенной кори развивается гуморальный стойкий пожизненный иммунитет. Повторные заболевания редки. Пассивный иммунитет, передаваемый плоду через плаценту в виде IgG, защищает новорожденного в течение шести месяцев после рождения.

Микробиологическая диагностика кори обычно не проводится, поскольку клиническая картина ее столь очевидна, что не требует лабораторного подтверждения. Однако при необходимости могут быть использованы вирусоскопическое, вирусологическое, серологическое исследования, а также методы иммуноиндикации.

Экспресс-диагностика. Вирус кори обнаруживается в патологическом материале и в зараженных культурах клеток с помощью РИФ, РТГА и реакции нейтрализации. В мазках-отпечатках, окрашенных по Романовскому-Гимзе, обнаруживаются гигантские многоядерные клетки-симпласты, содержащие цито-

плазматические включения темно-розового цвета на фоне сиреневой цитоплазмы.

Вирусологические исследования основаны на выделении вируса из крови и носоглоточного смыва больного в культурах клеток (почек обезьян, эмбриона человека и перевиваемых культурах клеток амниона человека). Вирус кори даёт характерное ЦПД – образование гигантских многоядерных клеток (симпластообразование) с цитоплазматическими и внутриядерными включениями. Индикацию вируса проводят также при помощи реакции гемадсорбции с эритроцитами обезьян. Для идентификации применяют: реакцию задержки гемадсорбции с сывороткой иммунизированных животных, реакцию нейтрализации ЦПД, РТГ, ИФ.

Серологические исследования носят ретроспективный характер. Исследуют парные сыворотки, применяя РСК, РНГА, РТГА. Антитела выявляются в сыворотке крови со второй недели заболевания, увеличение титра антител в 4 раза и более подтверждает диагноз.

Лечение в основном симптоматическое и патогенетическое.

Специфическая профилактика. Активную специфическую профилактику кори проводят подкожным введением детям первого года жизни живой коревой вакцины из аттенуированных штаммов (Л-16) или ассоциированной вакцины (против кори, паротита, краснухи). В очагах кори ослабленным детям вводят нормальный иммуноглобулин человека. Препарат эффективен при введении не позднее седьмого дня инкубационного периода.

Подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ) – медленная вирусная инфекция со смертельным исходом в результате поражения нервной системы с гибелью нейронов и развитием двигательных и психических нарушений. Заболевание развивается в возрасте 2–30 лет и обусловлено персистенцией вируса в клетках нейроглии без образования полноценных вирионов. В дефектных вирионах нарушается формирование оболочки, изменяется белок F, отсутствует белок M. В крови и ликворе больных обнаруживаются высокие титры противокоревых антител, а в клетках мозга – вирусные нуклеокапсиды. Вместе с этим возбудитель ПСПЭ рассматривается как самостоятельный вирус, имеющий сходство с вирусом чумы собак.

2.6. Респираторно-синцитиальный вирус (RS-вирус)

RS-вирусы отличаются полиморфизмом вирионов, размерами 120–200 нм. Геном представлен «минус-нитью» нефрагментированной РНК, связанной с геномными белками-ферментами. Нейраминидаза и гемагглютинин отсутствуют. По антигенному строению различают 3 серовара. У RS-вирусов есть общий комплекссвязывающий и специфический поверхностный антиген.

Вирус не размножается в курином эмбрионе. Его культивируют в культурах тканей почек обезьян, Hela и других, где проявляется ЦПД в виде образования симпластов и синцитиев.

RS-вирус разрушается под действием детергентов и эфира при нагревании до 55 °С, при замораживании и последующем оттаивании.

Эпидемиология и патогенез. Источник инфекции – больной, путь передачи – воздушно-капельный.

При инфицировании вирус поражает эпителиальные клетки верхних и нижних отделов дыхательных путей, в том числе бронхиол и альвеол, что приводит к развитию очень тяжёлых пневмоний у новорожденных и детей 1–2-го года жизни. Нередко этот вирус является возбудителем внутрибольничных инфекций в педиатрических стационарах. Развитие RS-инфекции сопровождается присоединением бактериальных осложнений, так как вирус способствует развитию вторичных иммунодефицитов и иммунопатологических реакций, связанных с формированием иммунных комплексов.

Иммунитет сохраняется в течение года, часты повторные заболевания.

В **микробиологической диагностике** используют различные методы, а материалом чаще служат носоглоточный, бронхиальные смывы, мокрота.

При *вирусоскопическом исследовании* обнаруживают симпласты и синцитии в соскобах слизи, взятой при бронхоскопии. В ходе *вирусологического исследования* вирус культивируют в культурах тканей и идентифицируют по ЦПД, а также в РСК и реакции вируснейтрализации в культуре ткани. Для иммуно-

индикации используют РИФ для обнаружения антигена вируса в бронхиальных смывах.

При *серологическом исследовании*: для обнаружения антител в разведениях парных сывороток больного ставят РСК.

Лечение симптоматическое.

Средства иммунопрофилактики не разработаны.

2.7. Коронавирусы

Коронавирусы – возбудители острых респираторных и кишечных инфекций, поражающих человека, кошек, собак, крупный рогатый скот, свиней. Вирусы выделены в 1965–1967 годах от людей, страдающих острыми респираторными заболеваниями.

Таксономия, структура. Коронавирусы относятся к *семейству Coronaviridae* (от лат. *corona* – корона), роду *Coronavirus*, объединяющему более 10 видов (к 2020 г. идентифицированы 43 вида). Вирионы шаровидной или овальной формы диаметром 80–220 нм, нуклеокапсид окружен белковой мембраной и липидо-содержащей внешней оболочкой, от которой отходят редко расположенные гликопротеиновые шипы, состоящие из тонкой шейки и массивной шаровидной, овальной или грушевидной головки, что придает им сходство с короной. Геном представлен однонитевой плюс-РНК.

В состав вирионов входят несколько белков. Один из них связан с РНК и входит в состав нуклеокапсида. Другой – гликопротеид шиповидных отростков, является гемагглютинином. Кроме того, он обеспечивает взаимодействие с клеточными рецепторами и проникновение в клетки посредством слияния вирусных суперкапсидов с мембранами клеток. При удалении шипов вирионы утрачивают инфекционные свойства.

Антигенная структура. По составу антигенов коронавирусы разделяют на четыре антигенные группы. Антигены коронавирусов человека значительно отличаются от антигенов коронавирусов, патогенных для животных. Антигенная гетерогенность возбудителей обуславливает высокую частоту реинфекций другими серологическими вариантами.

Культивирование. Коронавирусы выделяют в культурах клеток эмбриона человека, а также в первичных диплоидных и некоторых гетероплоидных культурах клеток.

Резистентность. Вирусы чувствительны к действию факторов внешней среды и быстро погибают под действием высокой температуры, чувствительны к ультрафиолетовым лучам, жирорастворителям, кислотам, щелочам. При комнатной температуре сохраняются в течение нескольких дней. Переносят лиофилизацию.

Эпидемиология, патогенез и клиническая картина. Коронавирусы вызывают у человека острые респираторные заболевания, в том числе бронхит, пневмонию, синдром тяжёлого острого респираторного заболевания (*SARS-severe acute respiratory syndrome*) преимущественно в осенне-зимний период.

Источник инфекции – больной человек, основной путь передачи – воздушно-капельный, реже – контактный. Так как входными воротами инфекции в большинстве случаев являются верхние дыхательные пути, то болезнь протекает по типу ОРЗ. При попадании вируса через рот возможно развитие гастроэнтерита.

Первичная репродукция вируса происходит в клетках слизистых оболочек носоглотки и дыхательных путей. В результате возникает типичный катаральный ринит с обильным серозным (реже серозно-гнойным) отделяемым. Через 5–7 дней наступает спонтанное выздоровление. У детей чаще развиваются бронхит и пневмония. При репродукции вируса в эпителиальных клетках желудочно-кишечного тракта развиваются гастроэнтериты с диареей.

Иммунитет. После перенесенной инфекции формируется гуморальный иммунитет. В сыворотке крови выявляются вируснейтрализующие, комплементсвязывающие и преципитирующие антитела, а также антигемагглютинины. Развивается стойкая невосприимчивость к серовару, вызвавшему инфекцию.

Микробиологическая диагностика. *Материалы для исследования* – отделяемое слизистой носоглотки, кровь.

Для *экспресс-диагностики* используют РИФ – обнаружение антигена в клетках эпителия верхних дыхательных путей.

Выделение вируса затруднено, поэтому основной метод диагностики – молекулярно-генетический (ПЦР) и серологический. Исследуют парные сыворотки в РТГА, РСК, РН, ИФА.

Лечение – симптоматическое.

Специфическая профилактика не разработана.

В феврале 2003 года в Юго-Восточной Азии впервые была зарегистрирована вспышка до того неизвестного тяжёлого острого респираторного заболевания (*severe acute respiratory syndrome – SARS*). Поскольку у многих больных развивалась тяжелая пневмония, приводящая к смертельному исходу, это заболевание называли атипичной вирусной пневмонией с развитием тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС). Болезнь стремительно распространялась по всему миру, приобретая характер пандемии. Заболевание передавалось от человека к человеку в результате близких контактов (воздушно-капельным путем, через предметы обихода, загрязненные руки и т. д.). Возбудитель был идентифицирован как разновидность коронавирусов, возникшая, вероятно, в результате мутации вируса или рекомбинативных процессов. В качестве первоначального источника подозревались животные – кошки.

В конце 2019 года возникла новая вспышка коронавируса в Китае, в г. Ухань, который был назван SARS-CoV-2. На сегодняшний день вирус распространился во все страны мира, заражены жители 188 государств. Общее число инфицированных на 21.09.2020 года составляет более 31 245 797 человек, смертность – 3,1 %.

Клиническая картина COVID-19 характеризуется: повышением температуры тела, появлением сухости и першения в горле, развитием слабости, потерей обоняния и затруднённым дыханием, реже возникновением тяжелого острого респираторного синдрома со смертельным исходом. У 60 % заражённых COVID протекает в лёгкой форме, и они являются основным источником заражения.

Средства *этиотропной* терапии отсутствуют. При тяжелых формах используют специфический иммуноглобулин, изготовленный из сыворотки взрослых доноров, выздоровевших от COVID.

По данным ВОЗ на 02.12.2020 г., вакцины, прошедшей все фазы испытаний, нет. Однако, 72 вакцины находятся на разных

фазах исследования. Российская «Спутник V» проходит третью фазу испытаний. Её эффективность 92 %.

Профилактические меры предосторожности включают: соблюдение режима самоизоляции, ношение масок второго порядка, тщательное мытье рук, ограничение контактов между людьми, социальная дистанция –1,5–2 м.

2.8. Семейство аденовирусов *Adenoviridae*

Аденовирусы были выделены в 1953 г. У. Роу и др. из культуры клеток аденоидов (миндалин) детей, в которых они вызывали ЦПД.

В настоящее время известно более 100 серотипов аденовирусов млекопитающих. Из них 49 являются патогенными для человека. Серотипы аденовирусов отличаются по эпидемиологическим характеристикам. Серотипы 1, 2 длительно персистируют в миндалинах и аденоидах, вызывают поражения слизистых дыхательных путей и кишечника у маленьких детей; серотипы 4, 7, 14 и 21 вызывают ОРВИ у взрослых. Серотип 3 обуславливает развитие острой фарингоконъюнктивальной лихорадки у детей старшего возраста и взрослых; несколько серотипов вызывают эпидемический кератоконъюнктивит.

Структура вируса. Нуклеокапсид вириона – это сферические частицы диаметром 70–90 нм. Капсид построен из 252 капсомеров по кубическому типу симметрии в форме икосаэдра. Внешняя оболочка отсутствует. Геном аденовирусов состоит из двунитевой линейной ДНК. С молекулой ДНК ковалентно связан внутренний белок, инициирующий репликацию ДНК. Внутренние белки в комплексе с ДНК формируют сердцевину вириона, расположенную под вершинами капсида.

Антигены. В составе капсида содержатся типоспецифические антигены – гликопротеиновые нити (аналоги шипиков), которые обладают гемагглютинирующими свойствами. Нуклеокапсид вириона является комплементсвязывающим антигеном, идентичным для разных серотипов аденовирусов человека. По способности агглютинировать эритроциты аденовирусы разделены на подгруппы (I–IV).

Культивирование и репродукция. Аденовирусы культивируют в первичной культуре клеток почек эмбриона человека, линии клеток Hela, Her-2 и др. ЦПД аденовирусов обусловлено не только их репродукцией, но и токсическим действием образующихся метаболитов. Аденовирусы адсорбируются на клеточных рецепторах с помощью нитей. Депротеинизация проникших в клетку вирионов начинается в цитоплазме и завершается в ядре, где освобождается ДНК с прикрепленным к ней терминальным белком. Транскрипция генома и репликация вирусной ДНК происходят в ядре с помощью клеточных ферментов. Вначале синтезируется и-РНК, кодирующая синтез вирусспецифических ферментов, а затем – и-РНК, несущая информацию о синтезе капсидных белков и нитей. Сборка вирусных частиц происходит в ядре, где образуются кристаллоподобные включения. В каждой клетке, пораженной вирусом, синтезируется несколько сотен вирусных частиц. Выход аденовирусов сопровождается разрушением клетки хозяина. Цикл репродукции аденовирусов в клетке продолжается 14–24 часов.

Резистентность. Аденовирусы устойчивы во внешней среде, сохраняются до двух недель при комнатной температуре, но погибают от воздействия ультрафиолетовых лучей и хлорсодержащих препаратов. Хорошо переносят замораживание. В воде при +4°C сохраняют активность 2 года.

Эпидемиология. Резервуар и источник инфекции – больной человек или носитель. Возбудитель выделяется из организма с секретом верхних дыхательных путей до 25-го дня болезни и более 1,5 месяца – с фекалиями. Механизм передачи инфекции – аэрозольный (с капельками слюны и слизи), возможен фекально-оральный через контаминированные предметы внешней среды. Естественная восприимчивость людей высокая. Перенесенное заболевание оставляет типоспецифический иммунитет, возможны повторные заболевания.

Аденовирусная инфекция распространена повсеместно и составляет 5–10 % всех вирусных заболеваний. Заболеваемость регистрируют в течение всего года с подъемом в холодное время, наблюдают как в виде спорадических случаев, так и в виде эпидемических вспышек.

Развитие случаев аденовирусного геморрагического конъюнктивита, вызванное серотипами вируса 3, 4 и 7, связано с перенесенной респираторной аденовирусной инфекцией или же является результатом заражения вирусом через воду в плавательных бассейнах или открытых водоемах.

Чаще болеют дети раннего возраста и военнослужащие. Особенно высока заболеваемость в первые 2–3 месяца, протекает она по типу ОРВИ во вновь сформированных коллективах детей и взрослых. В отдельных случаях возможно внутрибольничное инфицирование при проведении различных лечебных манипуляций.

Заболевание у новорожденных и детей раннего возраста протекает по типу кератоконъюнктивита или поражения нижних отделов дыхательных путей. К редким поражениям относят менингоэнцефалит и геморрагические циститы, чаще выявляемые у детей старшего возраста.

Патогенез. При аэрозольном заражении возбудитель проникает в организм человека через слизистые оболочки верхних дыхательных путей и распространяется по бронхам в нижние отделы. Входными воротами инфекции могут быть слизистые оболочки глаз, а также кишечника, куда вирус попадает при заглатывании слизи из верхних дыхательных путей. Вирус локализуется в клетках эпителия дыхательных путей и тонкой кишки, где происходит его размножение. В очагах поражения развивается воспалительная реакция, сопровождаемая расширением капилляров слизистой оболочки и кровоизлияниями, что клинически проявляется ангиной, фарингитом, конъюнктивитом, диареей. Иногда развивается кератоконъюнктивит с помутнением роговицы и нарушением зрения. Лимфогенным путем возбудитель проникает в регионарные лимфатические узлы, где происходит гиперплазия лимфоидной ткани и накопление вируса в течение инкубационного периода заболевания. В клинической картине эти механизмы обуславливают развитие периферической лимфаденопатии. В результате подавления активности макрофагов и повышения проницаемости тканей в дальнейшем развивается вирусемия с диссеминацией возбудителя по различным органам и системам. В этот период вирус проникает в клетки эндотелия сосудов, по-

вреждая их. При этом часто наблюдают синдром интоксикации. Фиксация вируса макрофагами в печени и селезенке сопровождается развитием изменений в этих органах с увеличением их размеров (гепатолиенальный синдром).

Клиническая картина. Длительность инкубационного периода варьирует от одного дня до двух недель, в среднем составляя 5–8 суток. Заболевание начинается остро с развития слабых или умеренных явлений интоксикации: озноба или познабливания, несильной и непостоянной головной боли, миалгии и артралгии, вялости, адинамии, снижения аппетита. Со второго – третьего дня болезни начинает повышаться температура тела, чаще она остается субфебрильной в течение пяти – семи дней, лишь иногда достигая 38–39°C. В редких случаях возможны боли в эпигастральной области и диарея.

Одновременно развиваются симптомы поражения верхних дыхательных путей. В отличие от гриппа рано появляется умеренная заложенность носа с обильным серозным, а позже серозно-гнойным отделяемым. Возможны боли в горле и кашель. Через 2–3 дня от начала заболевания больные начинают жаловаться на боли в глазах и обильное слезотечение. Конъюнктивит может сочетаться с проявлением фарингита (фарингоконъюнктивальная лихорадка). Увеличиваются подчелюстные, шейные и даже подмышечные лимфатические узлы. Если воспалительный процесс дыхательных путей принимает нисходящий характер, возможно развитие ларингита и бронхита. Ларингит у больных аденовирусной инфекцией проявляется резким «лающим» кашлем, усилением болей в горле, охрипостью голоса. В случаях бронхита кашель становится более стойким. Период катаральных явлений иногда может осложниться развитием аденовирусной пневмонии. Поражения различных отделов дыхательных путей могут сочетаться с нарушениями со стороны ЖКТ. Возникают боли в животе и дисфункция кишечника (диарея, особенно характерна для детей младшего возраста). Увеличиваются печень и селезенка.

Микробиологическая диагностика. *Материалами для исследования* служат слизь из зева, отделяемое носа и конъюнктивы, кровь.

Для *экспресс-диагностики* аденовирусных инфекций используют РИФ, позволяющую выявить антигены вирусов в носовом отделяемом и клетках слизистых оболочек, с помощью соответствующей иммунно-диагностической сыворотки, меченой флюорохромами.

Вирусологический метод: вирус (из носоглотки, конъюнктивы, фекалий, крови) выделяют заражением культур первично-трипсинизированных клеток эмбриона человека. Идентификацию аденовирусов проводят по цитопатическому эффекту, наличию внутриядерных включений. Антигенные варианты аденовирусов определяют в РТГА и РН с помощью типоспецифических антисывороток.

Серологический метод. Нарастание титра вирусспецифических антител в парных сыворотках определяют в РТГА и РН с эталонными штаммами различных сероваров аденовируса.

Лечение – симптоматическое, средства специфической терапии отсутствуют.

Специфическая профилактика. Для профилактики аденовирусных инфекций дыхательных поражений разработаны эффективные живые вакцины, включающие ослабленные вирусы доминирующих сероваров. Их широкое применение ограничено сложившимся представлением о способности аденовирусов вызывать злокачественные трансформации клеток у человека.

2.9. Практическое занятие № 28

Тема: Возбудители острых вирусных респираторных инфекций (ОРВИ)

План занятия:

1. РНК-вирусы: гриппа, парагриппа, паротита, кори, респираторно-синцитиальный, коронавирус.
2. ДНК-содержащие аденовирусы.
3. Правила забора материала при респираторных вирусных инфекциях.
4. Методы лабораторной диагностики ОРВИ.

5. Биопрепараты, применяемые для диагностики, профилактики и лечения.

Цель занятия:

1. Изучить биологические свойства возбудителей ОРВИ.
2. Выработать чёткое представление о лабораторной диагностике ОРВИ.
3. Научить обосновывать подбор препаратов для идентификации, лечения и профилактики ОРВИ.

Учебно-целевые задачи:

Знать:

1. Основные семейства РНК- и ДНК-содержащих вирусов, вызывающих респираторные вирусные инфекции.
2. Классификацию, антигенную структуру и биологические свойства вирусов семейства Orthomyxoviridae.
3. Классификацию, антигенную структуру и биологические свойства вирусов семейств Paramyxoviridae, Coronaviridae, Adenoviridae.
4. Эпидемиологию, патогенез, восприимчивость, иммунитет, механизмы передачи возбудителей при респираторных вирусных инфекциях.
5. Принципы лабораторной диагностики ОРВИ.
6. Профилактические, лечебные и диагностические препараты, применяемые при респираторных вирусных инфекциях.

Уметь:

1. Дифференцировать возбудителей ОРВИ по морфологическим, антигенным, культуральным свойствам.
2. Классифицировать препараты, применяемые при ОРВИ, в соответствии с их назначением.
3. Оценивать результаты вирусологических, серологических методов исследования.

Владеть:

1. Интерпретацией результатов серологических реакций.
2. Подбором препаратов для диагностики, лечения и специфической профилактики ОРВИ.
3. Подбором препаратов для диагностики и лечения, специфической профилактики кори и паротита.

Демонстрация:

1. Микроскопии клеток, зараженных вирусом гриппа.
2. Таблицы со схемой строения куриного эмбриона и способов заражения куриных эмбрионов.
3. Таблицы со схемами культур клеток до и после заражения вирусами.
4. РГА и РТГА при гриппе (индикация и идентификация вируса).
5. РПГА при кори (исследование парных сывороток, выявление специфических антител).
6. Биопрепаратов, применяемых для диагностики, профилактики и лечения ОРВИ.

Лабораторная работа

1. Студенты ставят РГА с аллантоисной жидкостью с целью обнаружения в ней вируса гриппа и РТГА с целью определения серологического варианта вируса.

Контрольные вопросы:

1. Назовите вирусы, вызывающие острые респираторные заболевания – ОРВИ.
2. Семейство Orthomyxoviridae, их общая характеристика.
3. Структура, тип симметрии, особенности генома вируса гриппа.
4. Особенности антигенной структуры вируса гриппа. Механизмы изменчивости вируса гриппа (шифт и дрейф), эпидемиологическое значение.
5. Повторные пандемии гриппа, причины их возникновения.
6. Основные этапы репродукции вируса гриппа.
7. Культивирование вируса гриппа, индикация и идентификация на куриных эмбрионах и в культуре ткани.
8. Патогенез, основные клинические признаки гриппа, осложнения.
9. Особенности противовирусного иммунитета, интерферон, механизм противовирусного действия.
10. Вирусологические, серологические и экспресс-методы диагностики гриппа.
11. Лечение и профилактика гриппа.

12. Семейство Paramyxoviridae, заболевания, вызываемые вирусами, включенными в эти семейства. Методы микробиологической диагностики.

13. Биологические особенности вируса кори и паротита, методы микробиологической диагностики.

14. Респираторно-синцитиальный вирус (RS-вирус), биологические особенности.

15. Заболевания, вызываемые данными вирусами, методы лабораторной диагностики.

16. Семейство Adenoviridae, биологические особенности аденовирусов, заболевания, вызываемые ими, и методы микробиологической диагностики.

17. Семейство Coronaviridae. Морфология, антигенная структура и основные биологические свойства коронавирусов.

III. СЕМЕЙСТВО PICORNAVIRIDAE

Семейство пикорнавирусов (*pico* – маленький, *RNA* – РНК) включает наиболее просто организованные вирусы, имеющие ряд общих признаков: мелкие размеры (около 28 нм), геном плюс-нитевая линейная РНК, отсутствие внешней оболочки, кубический тип симметрии нуклеокапсида, сходный механизм репродукции, близкий по резистентности к физическим и химическим факторам; но отличающийся по антигенным свойствам, разной патогенностью для человека и животных. На основании этих свойств семейство *Picornaviridae* подразделено на 9 родов. Из них пять содержат вирусы, патогенные для человека, – *Enterovirus*, *Rinovirus*, *Cardiovirus*, *Aphtovirus*, *Hepatovirus*.

3.1. Род – энтеровирусы

Род – энтеровирусы (от греч. *enteron* – кишка) – вирусы, обитающие в кишечнике человека и выделяемые в окружающую среду с фекалиями. Патогенными для человека являются вирусы полиомиелита, Коксаки А и В, ЕСНО, энтеровирусы серотипов 68–71 и вирус 72 – гепатита А. Наиболее опасным является вирус полиомиелита.

Полиомиелит (от др. греч. *poliyo* – серый и *mielos* – спинной мозг) – синоним – детский спинномозговой паралич, высококонтагиозное инфекционное заболевание, обусловленное поражением серого вещества спинного мозга полиовирусом и характеризующееся преимущественно патологией нервной системы с развитием необратимых парезов или параличей ног, рук, туловища.

Полиомиелит известен с глубокой древности. В 1909 г. К. Ландштейнер и Г. Поппер доказали вирусную этиологию полиомиелита.

Морфология вируса. Полиовирусы имеют сферическую форму, диаметр – 20–30 нм, состоят из одноцепочной плюс-нити РНК и капсида с кубическим типом симметрии. Вирусы не имеют суперкапсидной оболочки. В их составе нет углеводов и липидов,

поэтому они не чувствительны к эфиру и другим растворителям жира.

Антигенные свойства. Различают три серотипа внутри вида: I, II, III, не вызывающие перекрестного иммунитета. Все серотипы патогенны для обезьян, у которых возникает заболевание, сходное по клиническим проявлениям с полиомиелитом человека.

Резистентность. Вирус устойчив во внешней среде, хорошо переносит холод, разрушается при нагревании до 50°C в течение 30 минут, быстро погибает при кипячении, под действием ультрафиолетового облучения и при высушивании. Даже незначительные концентрации хлора инактивируют вирус.

Патогенез. Источником инфекции является больной или вирусоноситель, при этом наиболее опасны пациенты со стертыми и с abortивными формами заболевания. Основной механизм заражения – фекально-оральный (грязные руки, игрушки, инфицированные продукты питания, вода, мухи), возможен и воздушно-капельный, так как выделение вируса с фекалиями и со слизью носоглотки начинается уже в инкубационном периоде и продолжается в течение болезни. Восприимчивость к вирусу полиомиелита всеобщая, наиболее чувствительны дети в возрасте до семи лет.

Первичная репродукция вируса происходит в области входных ворот – это эпителиальные клетки слизистой оболочки рта и кишечника, а также лимфоидные ткани глоточного кольца, тонкого кишечника – пейеровы бляшки. Из лимфатической системы вирус попадает в кровь, развивается вирусемия и идет распространение во внутренние органы.

В ЦНС полиовирусы проникают сравнительно редко (один случай на один – два миллиона вакцинированных), преодолевая гематоэнцефалический барьер через эпителий мелких сосудов или по переневральным пространствам. Репродукция вируса в двигательных нейронах передних рогов спинного мозга, а также нейронах большого и продолговатого мозга приводит к глубоким, нередко необратимым изменениям нервных клеток с последующим развитием вялых параличей и парезов конечностей, а иногда

и мышц туловища. В результате человек становится пожизненным инвалидом.

Различают 3 клинические формы полиомиелита: паралитическую (1 % случаев), менингеальную (без параличей), abortивную (лёгкая форма). Паралитическую форму чаще вызывает вирус полиомиелита серотипа 1.

Иммунитет. Пассивный естественный иммунитет сохраняется в течение трех–пяти недель после рождения ребенка. После перенесенной болезни остается пожизненный типоспецифический иммунитет, который определяется в основном наличием вируснейтрализующих антител, среди которых важная роль принадлежит секреторным антителам sIgA слизистой оболочки глотки и кишечника, обеспечивающим местный иммунитет. Эффективность местного иммунитета играет важную роль в прерывании передачи «диких вирусов» и способствует вытеснению их из циркуляции.

Микробиологическая диагностика. *Исследуемые материалы:* носоглоточное отделяемое, фекалии, спинномозговая жидкость, секционный материал (кусочки спинного и головного мозга, лимфоузлы и др.), кровь.

Вирусологический метод заключается в выделении вируса и его идентификации. Для этой цели исследуемым материалом, после обработки антибиотиками и центрифугирования, заражают первичные культуры клеток почек обезьян или почек эмбриона человека или перевиваемую клеточную культуру амниона человека. Присутствие вируса (индикация) устанавливают по выраженному ЦПД, методу бляшек или цветной пробе. Идентификацию (типирование) вируса проводят в реакции нейтрализации РН с культуральной жидкостью и диагностическими типоспецифическими сыворотками I, II, III типов на культурах клеток.

Для отличия патогенных (диких) полиовирусов от вакцинных штаммов, которые могут выделяться привитыми живой полиомиелитной вакциной и контактировавшими с ними людьми, применяют РН в культуре клеток или ИФА со штаммоспецифическими типовыми сыворотками или используют ПЦР.

Серологический метод. Исследуют парные сыворотки, взятые в начале заболевания и с интервалом 3–4 недели, в РСК, ИФА или ставят РН на культуре клеток с полиовирусными диагностическими I, II, III типов. О наличии заболевания свидетельствует 4-кратное и более повышение титра антител во второй сыворотке по сравнению с первой.

Для определения класса специфических сывороточных иммуноглобулинов IgM, IgG, IgA и их количественного содержания используют метод радиальной иммунодиффузии по Манчини.

Полимеразная цепная реакция. Этот экспресс-метод позволяет идентифицировать полиовирус, выявляя специфическую РНК, и дифференцировать дикие патогенные штаммы вируса от вакцинных штаммов.

Лечение. Больные подлежат обязательной госпитализации. Средств специфической противовирусной терапии не существует. Проводят симптоматическое лечение: постельный режим, обезболивающие и успокаивающие средства, тепловые процедуры. При паралитических формах, когда развитие параличей закончено (4–6 недель), проводят комплексное восстановительное лечение (коррекцию ортопедических нарушений, включая физиотерапию, оперативное вмешательство и применение специальной аппаратуры).

Профилактика. До начала применения профилактических прививок (активной иммунизации населения) полиомиелит встречался практически повсеместно – во всех районах земного шара. Заболеваемость принимала характер эпидемий, которые в 1940–1950 годах охватывали тысячи и десятки тысяч человек, из которых 10 % становились инвалидами. Например, в США в 1956 году было официально зарегистрировано национальное бедствие – свыше 300 000 инвалидов после перенесенного полиомиелита. Перелом наступил после того, как в 50-х годах XX века были разработаны инактивированная вакцина Солка и живая ослабленная вакцина Сэбина, началась массовая вакцинация людей во многих странах. После широкого применения полиомиелитной вакцины заболеваемость резко сократилась во многих развитых странах. В 1988 году Всемирная организация здравоохранения

ранения приняла решение о глобальной ликвидации полиомиелита путем охвата прививками всего детского населения планеты. В результате к настоящему времени очаги инфекции остались только в некоторых странах Африки и Азии, и поэтому, пока инфекция во всем мире окончательно не ликвидирована, необходимо и далее продолжать планомерную вакцинацию детского населения во всех странах, чтобы предотвратить возврат заболевания.

В современных условиях специфическая профилактика полиомиелита проводится путем плановой вакцинации детей начиная с 3-месячного возраста и далее в соответствии с прививочным календарем. Основной препарат – пероральная живая вакцина, разработанная советскими вирусологами М. Чумаковым и А. Смородинцевым (1958 г.) из аттенуированных штаммов полиовирусов I, II, III типов, полученных американским вирусологом А. Сэбиным (1956 г.).

Вакцинные штаммы полиовирусов выращивают в культуре клеток из почек африканских зелёных мартышек, выпускают в жидком виде и в форме конфет-драже.

Первая, разработанная Д. Солком (1953 г.) инактивированная (убитая) вакцина, широко применяемая в США и странах Западной Европы, при парентеральном введении обеспечивает достаточно напряженный типоспецифический гуморальный иммунитет, но не формирует резистентности слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта.

По сравнению с инактивированной живая вакцина имеет ряд преимуществ: она обеспечивает не только гуморальный, но и местный иммунитет кишечника, вызывая синтез секреторных иммуноглобулинов А.

Экстренная пассивная профилактика полиомиелита осуществляется путем введения нормального человеческого иммуноглобулина непривитым детям, оказавшимся в контакте с больными.

3.2. Вирусы Коксаки

Первых представителей (из 30 открытых) выделили Г. Долдорф и Г. Сиклз (1948 г.) в госпитале города Коксаки (США) из кишечника детей с полиомиелитоподобными поражениями. Не-

смотря на полное морфологическое сходство с полиовирусами, вирусы Коксаки имеют иную антигенную структуру и перекрестно не реагируют с антителами к возбудителям полиомиелита.

По характеру патогенного действия на мышат-сосунков при экспериментальном заражении различают две группы вирусов – Коксаки А и Коксаки В. По структуре типоспецифического антигена вирусы группы А разделяют на 24 серовара, вирусы группы В – на 6. Некоторые серовары обладают гемагглютинирующей активностью, вследствие чего могут быть идентифицированы в РТГА. Отдельные серовары вируса Коксаки А не культивируются в культурах клеток.

Эпидемиология. Вирусы Коксаки распространены повсеместно, рост заболеваемости отмечают в летне-осенние месяцы. Источник инфекции – инфицированный человек (вирусы также могут циркулировать у различных животных). Основной механизм передачи возбудителей: фекально-оральный с контактно-бытовым, алиментарным путем, возможен также аэрогенный механизм с аэрозольным путем через отделяемое носоглотки. Распространение в организме Коксаки-вирусов идентично таковым у полиовирусов.

Клинические проявления Коксаки-инфекции разнообразны, наиболее часто наблюдаются у детей. Более 90 % поражений протекает легко, часто бессимптомно или с симптомами простуды и лихорадки неясного генеза. В редких случаях могут развиваться тяжелые поражения. Вирусы Коксаки А обладают миотропностью, вызывают герпетическую ангину, пузырчатку полости рта и конечностей, асептический менингит, миокардит, перикардит. Вирусы Коксаки В, в силу своей нейротропности, вызывают энцефаломиелиты, менингиты; обладая кардиотропизмом, – миокардиты с развитием некроза и аневризмы. Предполагается роль Коксаки-вирусов в возникновении инфарктов поджелудочной железы с последующим развитием сахарного диабета. Вирусы обеих групп могут вызывать у детей и взрослых полимиелитоподобные заболевания, острые респираторные и кишечные инфекции. В целом для вирусов Коксаки характерен полиорганный тропизм.

3.3. Вирусы ЕСНО

Название представляет собой аббревиатуру, состоящую из первых букв английских слов *enteric cytopathogenic human orphans* – «кишечные цитопатогенные человеческие вирусы-сироты». Впервые были изолированы из фекалий людей в 1951–1953 гг. Д. Мельником и др. Поскольку их роль в патологии человека оставалась неизвестной, они были названы вирусами-«сиротами».

В отличие от вирусов полиомиелита и Коксаки, **вирусы ЕСНО** не патогенны для лабораторных животных.

Антигены. Известны 34 серотипа вирусов ЕСНО, имеющих общий комплементсвязывающий антиген. Они дифференцируются в реакции нейтрализации. Некоторые серотипы вирусов ЕСНО способны агглютинировать эритроциты человека 0-группы крови.

Патогенез и иммунитет. Вирусы ЕСНО, подобно вирусам Коксаки, являются возбудителями различных заболеваний преимущественно детского возраста. Многие серотипы вирусов способны поражать ЦНС, вызывая полиомиелитоподобные заболевания, асептический менингит, иногда – энцефалит. Некоторые штаммы вызывают воспалительные процессы в поперечно-полосатых мышцах, проявляющиеся в виде эпидемической миалгии, миокардита. Возможны поражения кишечника – гастроэнтериты, респираторного тракта – ОРЗ у детей, сосудистой оболочки глаза – увеит, паренхиматозных органов. Нередко вирусы ЕСНО вызывают заболевания, сопровождающиеся лихорадкой и сыпью.

После перенесенного заболевания формируется гуморальный иммунитет, продолжительность которого колеблется в разных пределах.

Принципы микробиологической диагностики. *Материалы для исследования* – испражнения, смывы и слизь из зева, кровь и спинномозговая жидкость. Выделение возбудителя проводят заражением культуры клеток почек обезьян. Идентификацию осуществляют по цитопатическому эффекту и в реакции нейтрализации с типовыми антисыворотками.

Вирусспецифические антитела в парных сыворотках выявляют в реакциях нейтрализации, торможения гемагглютинации, связывания комплемента.

Средства терапии и эффективной профилактики ЕСНО-вирусных инфекций отсутствуют. Проводится симптоматическое лечение.

IV. ВОЗБУДИТЕЛИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ

Вирусные гепатиты – это наиболее распространённые инфекционные заболевания, которые по своей медицинской значимости и масштабу социально-экономического ущерба занимают одно из ведущих мест в инфекционной патологии. Вирусы, вызывающие гепатиты, характеризуются преимущественно поражением клеток печени с развитием острого воспаления, в результате которого нарушаются многие функции печени. Независимо от типа вируса, вызвавшего гепатит, в печени обнаруживаются идентичные гистологические изменения.

В настоящее время известно более семи видов вирусов, которые обозначают как вирусы гепатитов А, В, С, D, E, F, G. В зависимости от основных путей заражения выделяют энтеральные (А и E) и парентеральные (В, С, D) вирусные гепатиты.

4.1. Возбудители энтеральных гепатитов

4.1.1. Гепатит А – ВГА (прежнее название – эпидемический гепатит, болезнь Боткина) – антропонозное острое инфекционное заболевание с фекально-оральным механизмом передачи, характеризующееся преимущественным поражением печени, развитием интоксикации, желтухи и отличающееся склонностью к эпидемическому распространению. Заболевание известно с глубокой древности и описано ещё Гиппократом в IV–V веках до нашей эры.

Возбудитель – вирус гепатита А (ВГА) открыт в 1973 г. С. Фейнстоуном. Вирус по своим биологическим свойствам относится к *семейству Picornaviridae*, роду *Hepatovirus* (ранее этот вирус считался серотипом 72 рода *Enterovirus*).

Строение вириона. Это простоорганизованный вирус диаметром 27–28 нм, тип симметрии капсида – кубический, не имеет наружной суперкапсидной оболочки. Геном вируса представлен линейной однонитевой молекулой плюс-РНК.

Культивирование и репродукция. ВГА репродуцируется в перевиваемых линиях культур клеток. Чаще для этой цели применяют клетки гепатомы. Цикл репродукции ВГА длительный

и не сопровождается цитопатическим действием. При этом ВГА не выявляется в культуральной жидкости, поскольку связан с клетками, в цитоплазме которых он репродуцируется. Экспериментальную инфекцию возможно воспроизвести на обезьянах мармозетах и шимпанзе.

Резистентность. Вирус гепатита А отличается устойчивостью к нагреванию, он сохраняется при 60°C в течение 12 часов, инактивируется при кипячении в течение пяти минут. Относительно устойчив во внешней среде (воде, выделениях больного).

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные как с выраженными, так и с бессимптомными формами инфекции. Вирус выделяется с фекалиями больных в течение последней недели инкубационного периода и в преджелтушном периоде. В это время больные наиболее опасны для окружающих. Ведущий механизм заражения – фекально-оральный. Факторы передачи: вода, пища, предметы обихода, грязные руки; в детских коллективах – игрушки, горшки. Возможен кровяно-контактный механизм передачи вируса в случаях нарушения стерильности парентеральных манипуляций в период вирусемии у больных гепатитом А.

Вирус обладает высокой инфекционностью и распространён повсеместно, но особенно велик риск заражения в странах с жарким климатом, с дефицитом воды, плохой системой водоснабжения и канализации, неудовлетворительным состоянием окружающей среды и низким уровнем гигиены населения.

По массовости поражения гепатит А является второй после гриппа вирусной инфекцией. Болеют преимущественно дети в возрасте от 4 до 15 лет. Подъём заболеваемости наблюдается в летние и осенние месяцы.

Патогенез и клиника. Входными воротами для вируса гепатита А являются слизистые ротоглотки и тонкого кишечника, в эпителиальных клетках которого происходит первичная репродукция, откуда вирус проникает в мезентериальные лимфатические узлы и далее в кровь.

В крови вирус обнаруживается в конце инкубационного периода и в первые дни заболевания. С кровотоком через порталь-

ную вену вирус заносится в печень, где в цитоплазме гепатоцитов происходит его вторичная репродукция. Поражение гепатоцитов связано не с прямым цитопатическим действием вируса, а с иммунопатологическими механизмами, сущность которых заключается в том, что вирусные антигены появляются на мембране гепатоцитов. Такие гепатоциты, поражённые вирусом, распознаются Т-лимфоцитами киллерами и уничтожаются. Гибель гепатоцитов ведёт к развитию воспалительных и некротических процессов и, как следствие, к снижению дезинтоксикационной и барьерной функции печени, что приводит к нарушению всех видов обмена веществ, изменению состава крови – повышению уровня трансаминаз, нарушается обмен билирубина. Далее возбудитель с желчью попадает в просвет двенадцатиперстной и тонкой кишки и выделяется в высоких концентрациях с фекалиями уже с конца инкубационного периода и в первые дни заболевания (до развития желтухи).

Клиника. Для гепатита А характерна чёткая смена периодов при типичном течении заболевания: инкубационный, продромальный (преджелтушный), разгар болезни (желтушный период) и реконвалесценции.

Инкубационный период – от двух до шести недель, продромальный – 4–5 дней с симптомами, напоминающими гриппоподобные заболевания, с катаральными явлениями (кашель, насморк), со слабостью, с адинамией, болями в мышцах.

Болезнь начинается остро с подъёма температуры. Через 3–5 дней температура снижается и появляются симптомы, характерные для желудочно-кишечных заболеваний (тошнота, рвота, потеря аппетита), к ним присоединяются признаки поражения печени – боль в правом подреберье, увеличение печени, нарушение пигментного обмена. Появляется желтушное окрашивание склер, слизистых, кожи, интенсивно окрашивается моча, кал обесцвечивается. Возможно развитие и безжелтушной формы гепатита А, что обычно наблюдается у детей до пяти лет.

Прогноз при гепатите А, как правило, благоприятный, заболевание не переходит в хроническую форму, но иногда (0,1 %) встречаются фульминантные (молниеносные) формы с летальным исходом.

Иммунитет. После перенесённого гепатита А сохраняется пожизненный гуморальный иммунитет, связанный с синтезом противовирусных антител. Иммуноглобулины класса М исчезают из сыворотки через 3 – 4 месяца после начала заболевания, в то время как IgG сохраняются в течение многих лет. Установлен также синтез секреторных иммуноглобулинов sIgA.

Микробиологическая диагностика. Наиболее информативные для диагностики иммунологические методы:

Иммуноиндикация – ранний (экспресс) метод диагностики. Вирус можно обнаружить в фекалиях больных в конце инкубационного, в продромальный и в начале желтушного периода с помощью иммуноэлектронной микроскопии (ИЭМ). Специфические антитела взаимодействуют с находящимися в фекалиях вирусами, в результате образуются скопления – агрегаты из иммунных комплексов ВГА+антитело, выявляемые при электронной микроскопии.

С этой же целью могут использоваться прямые реакции ИФА и РИА.

Серологическая диагностика гепатита А основана на определении в парных сыворотках больного нарастания титра антител классов IgM и IgG с помощью непрямых реакций ИФА и РИА.

Основным диагностическим признаком текущей или свежеперенесённой инфекции являются антитела IgM. Их максимальное количество регистрируется в разгар болезни, а затем в течение нескольких месяцев снижается. Антитела класса G обнаруживаются в течение длительного времени и свидетельствуют о перенесённом заболевании, а также могут служить показателем наличия иммунитета к вирусу гепатита А.

Лечение гепатита А симптоматическое и патогенетическое, включает рациональную диету, сбалансированную витаминотерапию, при тяжёлых формах проводится дезинтоксикационная терапия.

Профилактика. *Неспецифическая профилактика* должна быть направлена на повышение санитарной культуры населения, улучшение водоснабжения, канализации.

Экстренная профилактика. Проводится по эпидемическим показаниям лицам, имевшим контакт с больным человеком, – донорским иммуноглобулином с высоким титром антител к ВГА.

Специфическая профилактика проводится инактивированной (убитой) вакциной. Все современные вакцины Hawtix (Бельгия), ГерА (Россия), Авахим (Франция) представляют собой высокоочищенную взвесь вирусов, инактивированных формальдегидом и адсорбированных на адьюванте – гидроокиси алюминия.

4.1.2. Вирус гепатита Е (ВГЕ), передающийся также энтеральным путем, относится к *семейству Caliciviridae* (от лат. *calix* – чаша), роду *Нepеvirus*. Это простоорганизованный вирус сферической формы, диаметр нуклеокапсида – 32–34 нм, не имеющий суперкапсида. Геном – однонитевая плюс-РНК. От вируса гепатита А отличается не только по антигенным свойствам. Заражение происходит в основном через контаминированную фекалиями воду.

Инкубационный период гепатита Е – примерно 40 дней. По клиническим проявлениям он похож на гепатит А, но обычно протекает легче. Болеют преимущественно люди молодого и среднего возраста 15–40 лет, обычно вовлеченные в работу на хлопковых полях. Эндемичные зоны сосредоточены в районах с развитым хлопководством, с выраженным дефицитом питьевой воды, отсутствием централизованной канализации и водоснабжения. В большинстве случаев течение и исход доброкачественные, за исключением беременных женщин, среди которых заболевание часто протекает в тяжелой форме с геморрагическим синдромом, острой почечной недостаточностью и высокой летальностью (до 50 %).

Микробиологическая диагностика. Основным методом является *серологическое исследование*. С этой целью проводятся:

Иммуноиндикация – определение вируса в образцах фекалий, взятых у больных на ранних этапах болезни, методом ИЭМ.

Серологический метод – определение в сыворотке крови больных специфических антител к вирусу (анти-ВГЕ IgM, анти-ВГЕ IgG) ИФА;

Молекулярно-генетический метод – полимеразноцепная реакция (ПЦР) для определения РНК вируса в фекалиях и в сыворотке крови больных в острой фазе инфекции.

Лечение симптоматическое. Беременным рекомендуется введение специфического иммуноглобулина.

Профилактика. *Специфическая* – созданы неживые цельновирионные вакцины, разработаны рекомбинантные и живые вакцины.

Неспецифическая – такая же, как и при гепатите А.

4.1.3. Вирусы ящура

Вирусы ящура относятся к *семейству Pycornaviridae*, роду *Aphthovirus*, представлены одним видом и семью серотипами, отличающимися типоспецифическими антигенами. По морфологии и химическому составу вирусы ящура сходны с другими пикорнавирусами.

Вирусы ящура обладают высокой вирулентностью и дерматропностью. Ящур – зоонозное, высококонтагиозное заболевание, характеризующееся лихорадочным состоянием, язвенным (афтозным) поражением слизистой оболочки рта, кожи кистей рук и стоп у человека.

Патогенез. Вирус репродуцируется в средних слоях эпителия кожи и слизистых оболочек, затем проникает в кровь. Состояние вирусемии может привести к поражению миокарда и паренхиматозных органов.

После перенесенного заболевания сохраняется непродолжительный, около 1–1,5 лет, типоспецифический иммунитет.

Эпидемиология. Источник инфекции – больные животные, при уходе за которыми может заразиться человек, реже – при употреблении зараженных продуктов: молока, мяса без достаточной термической обработки. Восприимчивость человека к ящуру невысокая.

Вирус ящура может несколько недель выживать в объектах окружающей среды, в пищевых продуктах. Вирусы чувствительны к дезинфицирующим веществам.

Микробиологическая диагностика. *Исследуемые материалы* – содержимое везикул, слюна, кровь.

Биопроба: материал вводят в кожу стопы морской свинки. Через 24–48 часов в месте введения, а также в полости рта появляются везикулы.

Культивирование. Вирус можно выделить в культуре клеток. *Серодиагностику* проводят в реакциях вирусной нейтрализации и РСК с парными сыворотками.

Профилактика ящура у человека – неспецифическая.

4.1.4. Практическое занятие № 29

Темы: Возбудители энтеровирусных инфекций – полиовирусы, Коксаки, ЕСНО. Возбудители энтеральных вирусных гепатитов А, Е

План занятия:

1. Энтеровирусы, классификация свойств полиовирусов, вирусов Коксаки, ЕСНО, гепатита А.
2. Вирусы гепатита Е.
3. Особенности заболеваний, вызываемых этими вирусами.
4. Принципы забора материала при энтеровирусных инфекциях и вирусных гепатитах.
5. Методы микробиологической диагностики энтеровирусных инфекций и вирусных гепатитов.
6. Биопрепараты, применяемые для диагностики, профилактики и лечения энтеровирусных инфекций и вирусных гепатитов.

Цель занятия:

1. Изучить биологические свойства возбудителей энтеровирусных инфекций и вирусных гепатитов А и Е.
2. Выработать чёткое представление о патогенезе, лабораторной диагностике энтеровирусных инфекций и вирусных гепатитов А и Е.
3. Научить обосновывать подбор препаратов для идентификации, лечения и профилактики энтеровирусных инфекций и вирусных гепатитов А и Е.

Учебно-целевые задачи:

Знать:

1. Характеристику биологических свойств возбудителей.
2. Клинику, патогенез, эпидемиологию, восприимчивость, иммунитет, механизмы передачи возбудителей при энтеровирусных инфекциях и гепатитах.

3. Принципы лабораторной диагностики энтеровирусных инфекций и вирусных гепатитов.

4. Препараты для диагностики, лечения и профилактики указанных инфекций.

Уметь:

1. Составить схему вирусологического обследования пациентов с энтеровирусной инфекцией и вирусными гепатитами.

2. Классифицировать препараты в соответствии с их назначением.

Владеть:

Интерпретацией результатов вирусологических и серологических исследований с целью диагностики энтеровирусных инфекций.

Демонстрация:

1. Схемы строения вирусов полиомиелита, Коксаки, ЕСНО, вирусных гепатитов.

2. РТГА с парными сыворотками больного, зараженного вирусом ЕСНО.

3. ЦПД в культуре перевиваемых клеток человека, зараженных энтеровирусами.

4. Препаратов, применяемых для специфической профилактики полиомиелита и гепатитов.

Самостоятельная работа: решение ситуационных задач.

Контрольные вопросы:

1. Таксономическое положение, классификация пикорновирусов.

2. Общая характеристика энтеровирусов.

3. Вирус полиомиелита, структура, свойства, репродукция, культивирование.

4. Эпидемиология и патогенез полиомиелита, основные клинические формы.

5. Методы микробиологической диагностики полиомиелита (вирусологические, серологические, молекулярно-генетические).

6. Реакция нейтрализации в культуре клеток, цель, ингредиенты, необходимые для постановки этой реакции.

7. Лечение и специфическая профилактика полиомиелита.
8. Вирусы Коксаки, ЕСНО. Заболевания, вызываемые ими, и методы микробиологической диагностики. Методы дифференциации вирусов Коксаки А, В и ЕСНО.
9. Лечение и профилактика энтеровирусных заболеваний.
10. Вирус гепатита А, таксономическое положение, структура, свойства, репродукция, источники и пути заражения, особенности патогенеза.
11. Вирус гепатита Е, структура, свойства, репродукция, источники и пути заражения, особенности патогенеза.
12. Эпидемиологические, клинические, микробиологические методы диагностики гепатита А и Е.
13. Лечение и специфическая профилактика гепатитов А и Е.

4.2. Возбудители парентеральных гепатитов

4.2.1. Гепатит В (ВГВ – парентеральный, сывороточный, посттрансфузионный) – широко распространённое инфекционное заболевание с преимущественным поражением печени, с многообразием клинических проявлений – от вирусоносительства, гепатита острого и хронического, до цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы.

Впервые частицы вируса гепатита В (ВГВ) (HBV *Hepatitis B virus*) были обнаружены Д. Дейном в 1970 году в крови больных с посттрансфузионным гепатитом и впоследствии названы частицами Дейна.

Вирус гепатита В относится к *семейству Hepadnaviridae*, роду *Orthohepadnavirus*. Это единственный (на сегодняшний день) ДНК-геномный вирус среди истинных гепатотропных вирусов.

Морфология. В крови больных гепатитом В присутствуют три морфологические структуры. Первые – это сферические образования, полые внутри, размером до 22 нм в диаметре, обнаруживаются часто. Вторые – трубчатые образования 22 нм в диаметре и 50–230 нм в длину, встречаются реже. Первые две структуры – это избыточный HBs-антигенный материал. Третьи –

частицы Дейна и есть вирионы гепатита В сферической формы, размером 42 нм в диаметре.

Вирионы гепатита В, или частицы Дейна, сферической формы 42 нм в диаметре. Сердцевина вириона – нуклеокапсид – имеет форму многогранника, содержит вирусный геном и фермент ДНК-полимеразу. Поверх сердцевины расположена липидосодержащая (фосфолипидная) оболочка – суперкапсид с гликопротеинами поверхностного HBs-антигена. Геном – дефектная двуни-тевая ДНК кольцевой формы, у которой «плюс»-цепь укорочена на 1/3 длины. Полноценная «минус»-цепь ковалентно связана с ДНК-полимеразой, которая достраивает «плюс»-цепь до полно-ценной структуры при проникновении вируса в гепатоцит.

Культуральные свойства. ВГВ культивируется только в культуре клеток, полученной из ткани первичного рака печени, в виде персистирующей инфекции без цитопатического действия и с малым накоплением вирионов.

К вирусу чувствительны приматы: шимпанзе, горилла, орангу-танг, которые используются в качестве экспериментальной модели.

Резистентность. ВГВ – полирезистентны: они устойчивы к низким и высоким температурам, химическим и физическим факторам. В условиях комнатной температуры вирус сохраняется в среднем в течение одного месяца, в холодильнике – 6 меся-цев, в замороженном виде – до 20 лет, в высушенной плазме – 25 лет. Вирусы устойчивы практически ко всем дезинфицирую-щим средствам и консервантам крови. Так, в 1–2-процентном растворе хлорамина инактивация наступает через 2 часа. Также вирусы устойчивы к лиофилизации, ультрафиолетовому облуче-нию. Кипячение обеспечивает инактивацию только при достаточ-ной (не менее 30 минут) продолжительности. Автоклавирование при температуре 120°C позволяет подавить активность вируса через 5 минут, сухожаровое воздействие (160°C) – только через 2 часа. Чувствительны вирусы к действию спирта, фенола, эфира.

Антигены. В составе вируса гепатита В обнаружены 4 анти-гена: HBs, HBc, HBe и HBx.

HBs-антиген поверхностный (от англ. *surface* – поверхност-ный), обнаружен Б.С. Бламбергом* в 1964 году в сыворотке крови

коренных жителей Австралии с желтухой, болевших гемофилией и получавших многочисленные переливания свежей крови. Этот антиген раньше назывался австралийский.

HBs-антиген обнаруживается в крови не только в составе вириона, но и в виде самостоятельных фрагментов сферической формы размером 15–22 нм или трубчатой формы длиной 50–230 нм, являющихся неинфекционным материалом оболочки вируса гепатита В.

В составе HBs-антигена обнаружены два полипептидных фрагмента.

Один из них **preS2** является рецептором, ответственным за адсорбцию вируса на комплементарных рецепторах гепатоцитов. Второй фрагмент **preS1** обладает выраженными иммуногенными свойствами. Его получают генно-инженерными технологиями и используют в производстве вакцин.

HBc-антиген содержится в сердцевине (от англ. *core* – ядро) вирионов, находящихся в гепатоцитах, является нуклеопротеидом и в течение инфекции и после не обнаруживается в свободном состоянии в крови.

HBe-антиген также является сердцевидным антигеном, производным HBc-антигена. Он отщепляется от HBc-антигена при прохождении сердцевины вируса через мембрану гепатоцитов, поэтому обнаруживается в крови и является свидетелем активности инфекционного процесса и, в частности, репродукции.

HBx-антиген, его появление в крови связывают с развитием первичного рака печени.

В организме больных гепатитом В синтезируются антитела к трём антигенам: HBs, HBc, HBe, которые участвуют в иммунологических процессах, формировании иммунитета, являются маркерами наличия инфекции и имеют диагностическое значение.

Эпидемиология. Гепатит В относится к антропонозным инфекциям. Восприимчивость людей к ВГВ высокая. Источником инфекции являются больные любыми формами гепатита В и вирусоносители. Вирус обнаруживается в различных секретах организма инфицированного человека: в сыворотке крови, слюне, сперме, менструальной крови, вагинальном секрете, слёзной жидкости, поте, моче, ликворе и др.

Основной механизм передачи вируса – гемоконтактный, для заражения достаточно 10^{-7} мл инфицированной крови. Вирус может передаваться половым путем или от матери ребёнку (во время беременности, при родах и через грудное молоко). В семьях с больным хроническим гепатитом В возможна горизонтальная передача при пользовании общими предметами гигиены (зубные щётки, расчёски, бритвенные приборы, мочалки, полотенца, постельное бельё).

Парентеральный путь передачи осуществляется при переливании цельной крови и её препаратов, при медицинских (иглоукалывание, хирургических, стоматологических, косметических) и иных манипуляциях (прокалывание ушей, бритье, маникюр-педикюр, нанесение татуировок) с использованием инструментов, контаминированных вирусами, содержащих кровь инфицированного человека (если нарушен режим стерилизации инструментов и оборудования). Всё шире в настоящее время распространяется ВГВ при внутривенном введении наркотиков.

Существует группа риска по заражению парентеральными гепатитами, в том числе гепатитом В, куда входят: гомосексуалисты, проститутки, наркоманы, реципиенты гемопрепаратов, доноры, дети, рожденные от матерей-носителей ВГВ. Значительному риску подвергаются медицинские работники, постоянно контактирующие с кровью и её препаратами, например, хирурги, гематологи, акушеры-гинекологи, персонал гемодиализных центров и др.

Гепатит В встречается в виде спорадических случаев, независимо от сезона года, отсутствуют цикличность и преимущественное поражение определённых возрастных категорий. Иногда регистрируются вспышки внутрибольничного инфицирования ВГВ (до 10 %) при нарушении санитарно-противоэпидемического режима. Летальность при острой форме гепатита В составляет 1–2 %, при хронической – 5 % и более.

Репродукция. Взаимодействие вирусов гепатита В с гепатоцитом начинается с адсорбции на гликопротеиновых рецепторах и дальнейшее проникновения в клетку путём рецепторного эндоцитоза. Репликация и транскрипция вирусного генома про-

исходят в ядрах гепатоцитов. При этом короткая цепь в кольцевой молекуле ДНК достраивается до длинной цепи с помощью вирусной ДНК-полимеразы, после чего происходит репликация обеих нитей. Одновременно с вирусного генома транслируется информация для синтеза на рибосомах гепатоцитов НВс-антигенов, вирусспецифических ферментов и капсидных белков. Синтезированные нити ДНК собираются в нуклеокапсиды. При выходе из клетки они приобретают внешнюю суперкапсидную оболочку с НВс- и НВс-антигенами.

В процессе **продуктивной инфекции** происходит формирование новых вирусных частиц, которые сами не обладают цитопатическим действием и не разрушают гепатоциты. Разрушение поражённых вирусом гепатоцитов осуществляют CD8 Т-лимфоциты (киллеры), которые взаимодействуют с НВс-антигенами, накопившимися на поверхности заражённых гепатоцитов, и вызывают цитолитическую реакцию, это проявляется активным инфекционным процессом в виде острого или хронического гепатита, маркером которых служит появление в крови НВс IgM антител. Клиническая картина характеризуется симптомами поражения печени, в большинстве случаев сопровождается развитием желтухи. Возможны и безжелтушные формы. В 1 % случаев возникают молниеносные формы, обычно со смертельным исходом. Острый гепатит в 5–10 % случаев переходит в хроническое течение, с развитием цирроза и пожизненного носительства ВГВ.

Интегративная инфекция сопровождается интеграцией кольцевой ДНК вируса в хромосому гепатоцитов с образованием провируса. Клинически это проявляется вирусоносительством, показателем которого является избыточное накопление в сыворотке крови только НВс-антигена. Следствием вирусоносительства может быть развитие первичного рака печени, при этом в крови начинает определяться НВх-антиген.

Значительную роль в развитии патологических процессов, происходящих при гепатите В, играют аутоиммунные процессы – реакции на собственные антигенно изменённые компоненты гепатоцитов, против которых синтезируются аутоантитела. При этом происходит разрушение не только заражённых, но и незара-

жѐнных гепатоцитов. Определѐнную роль в патогенезе гепатита В имеют циркулирующие иммунные комплексы HBs-антигена с антителами к нему. Они определяют внепеченочные поражения, такие как гломерулонефрит, узелковый полиартрит, и др.

Иммунитет. После перенесѐнного гепатита В формируется стойкий специфический иммунитет гуморального и клеточного характера.

Микробиологическая диагностика проводится только *серологическими и молекулярно-генетическими методами*. Исследуемым материалом является сыворотка крови. Для выявления антигенов вируса гепатита В и специфических антител применяются ИФА, РИА, РНГА, встречный иммуноэлектрофорез, реакция преципитации в геле.

Для точной диагностики и прогноза заболевания при гепатите В имеет значение выявление *серологических маркеров* инфицирования возбудителем, основными из которых являются:

- 1) антигены: HBs и HBe;
- 2) антитела: анти-HBs IgM, анти-HBs IgG, анти-HBc IgM, анти-HBc IgG, анти-HBe IgM;
- 3) вирусная ДНК в крови и биоптатах печени.

Эти и другие маркеры инфицирования вирусом гепатита В последовательно появляются и исчезают по ходу инфекции и в процессе выздоровления.

Основное диагностическое значение имеет обнаружение HBs-антигена, который появляется в инкубационном периоде и сохраняется в течение всей болезни. Его наличие через 6 месяцев после исчезновения симптомов заболевания – показатель хронизации процесса, а в более поздние сроки на фоне клинического здоровья – свидетельство формирования носительства. При полном выздоровлении HBs-антиген исчезает.

При острой инфекции в сыворотке одновременно обнаруживаются HBs- и HBe-антигены, что обусловлено активной репродукцией вируса.

По наличию антител к тем или иным антигенам вируса можно судить о периоде заболевания. В разные сроки болезни обнаруживают антитела – иммуноглобулины М и G к HBs-, HBc-, HBe-антигенам.

ДНК появляется в сыворотке одновременно с другими антигенами вируса, исчезает из кровотока в начале второй недели острого заболевания. Длительное персистирование ДНК свидетельствует о хронической инфекции. В диагностике острого гепатита В определение ДНК используют редко.

Лечение в основном симптоматическое и дезинтоксикационное: щадящий режим, диетическое питание. Этиотропные препараты применяют для прекращения репродукции вируса и уменьшения активности воспалительных процессов в печени. Для этой цели используют две группы противовирусных препаратов:

- интерферон, реаферон, роферон А, виферон, индукторы интерферона – циклоферон, амиксин и др.;
- ингибиторы ДНК-полимеразы – ламивудин, ацикловир и др.

Для активации иммунитета назначают иммуномодуляторы – тимозин, непон и др.

Специфическая профилактика. Существует эффективная *вакцина первого поколения*, полученная из плазмы крови хронических носителей HBs-антигенов, но ее производство затруднено из-за ограниченных возможностей получения плазмы.

Вакцины нового поколения получены генно-инженерным путем при интеграции гена, контролирующего образование ргеS₁ HBs-антигена, в геном дрожжевых клеток, которые при посеве на питательной среде и в процессе размножения способны продуцировать необходимый для приготовления вакцины полипептид вируса гепатита В.

Массовая иммунизация – важнейший компонент борьбы с инфекцией. Дети получают с 2000 года первую дозу вакцины в первые 24 часа после рождения, последующие дозы – через 1 месяц и в 5–6 месяцев. Взрослые (ранее не вакцинированные) получают две дозы в течение месяца и ревакцинацию через 6 месяцев. Длительность поствакцинального иммунитета сохраняется не менее семи лет.

По экстренным показаниям для специфической пассивной профилактики используются препараты иммуноглобулина с высоким титром антител к HBs-антигену. Введение таких препаратов необходимо для лиц, не вакцинированных против гепатита В, но имевших контакт с инфицированным материалом и носителями HBs-антигена.

Неспецифическая профилактика – предупреждение парентерального заражения при инъекциях, переливаниях крови, операциях донорства, использование медицинских инструментов одноразового использования.

4.2.2. Вирус гепатита D (дельта вирус) (ВГД) обнаружил М. Ризетто (1977 г.) в ядрах гепатоцитов у больных хроническим гепатитом В.

Вирус гепатита D (ВГД) относится к *семейству Togaviridae*, роду *Deltavirus*. ВГД – дефектный вирус, не имеющий собственной внешней оболочки. Его вирион сферической формы, размером 35–37 нм в диаметре. Сердцевина содержит однонитевую РНК и внутренний белок D-антиген, представляющий собой единственный вирусспецифический продукт генома дельта-вируса. Внешняя оболочка, обеспечивающая полноценную репродукцию, сформирована из HBs-антигена вируса гепатита В. Отсутствием собственной внешней оболочки и необычайно малым геномом объясняется дефектность ВГД, проявляющаяся в неспособности к самостоятельной репликации в гепатоцитах макроорганизма. Для репродукции данного вируса необходимо участие вируса-«помощника», роль которого выполняет вирус гепатита В.

Таким образом, дельта-вирусная инфекция (гепатит D) может развиваться при условии присутствия двух вирусов ВГВ и ВГД. При одновременном заражении этими вирусами развивается ко-инфекция, а при инфицировании дельта-вирусом больного гепатитом В – суперинфекция.

Более выраженное повреждающее действие дельта-вируса на гепатоциты связано с его прямым цитопатическим действием в отличие от вируса гепатита В. При этом сочетанное действие обоих вирусов приводит к развитию более тяжелых форм патологического процесса.

Эпидемиология гепатита, вызываемого дельта-вирусом, практически не отличается от эпидемиологии гепатита В. Дельта-вирус также, как вирус гепатита В, передается парентеральным путем.

Принципы микробиологической диагностики. Для диагностики острых хронических вирусных гепатитов D применяют ИФА и РИФ. Маркеры репликации вируса – антитела IgM к антигену вируса гепатита D и вирусная РНК. Антигены вируса гепатита D появляются в крови через 3 недели после инфицирования, вирусспецифические IgM – через 10–15 дней после развития клинических проявлений. Через 2–11 недель можно обнаружить вирусспецифические IgG, постоянно циркулирующие у инфицированных лиц.

Для выявления вирусной РНК применяют ПЦР или метод молекулярной гибридизации.

Лечение: интерферон, рибовирин, противовирусные В и D иммуноглобулины.

Профилактика. Для профилактики проводятся те же мероприятия, что и при гепатите В. Вакцина против гепатита В эффективно защищает и против гепатита D.

4.2.3. Вирус гепатита С (ВГС)

Гепатит С – хроническая форма гепатита с исходом в цирроз или первичную карциному печени.

Вирус гепатита С относится к семейству *Flaviviridae*, роду *Hepacivirus*.

Морфология. ВГС сложноорганизованный РНК-содержащий, сферической формы, диаметром 35–50 нм. Геном образует однонитевая плюс-РНК, обладающая большой вариабельностью. Известны около 14 генотипов вируса.

Антигены. Вирус обладает сложной антигенной структурой. Различают несколько антигенов, связанных с белками ВГС: сердцевинный С-антиген, гликопротеиновые поверхностные антигены E1 и E2 и антигены неструктурных белков NS2-NS5.

Культуральные свойства. ВГС не культивируется на куриных эмбрионах, не обладает гемолитической и гемагглютини-

рующей активностью, трудно адаптируется к культивированию в культуре клеток. Экспериментальной моделью является шимпанзе.

Резистентность. Вирус устойчив к нагреванию до 50°C, инактивируется жирорастворителями и ультрафиолетовым облучением. В инфицированной сыворотке крови сохраняет жизнеспособность несколько лет.

Эпидемиология. Вирус гепатита С, как предполагается, проник в человеческую популяцию около 300 лет назад и в настоящее время представляет серьезную угрозу здоровью людей. Число инфицированных вирусом превышает 200 млн человек, что составляет около 3 % населения земного шара, большинство – скрытые носители ВГС. У 85 % заболевших острым гепатитом С развивается хроническая (персистирующая) ВГС-инфекция, при которой вирус медленно размножается в организме в течение десятков лет. Источником инфекции являются люди с бессимптомной и особенно хронической формой инфекции и содержанием ВГС в крови, сперме, секрете шейки матки и в меньшей концентрации в других биологических жидкостях.

Основной механизм передачи – парентеральный через инфицированную кровь, при этом менее актуальны половой, вертикальный и очень редко бытовой пути передачи. То есть заражение ВГС аналогично заражению ВГВ, но отличие в том, что для инфицирования ВГС требуется высокая доза вируса, поэтому преимущественно заражаются люди, многократно контактирующие с инфицированной кровью. К группе риска относятся инъекционные наркоманы, пользующиеся одним шприцем, люди, которым регулярно переливают донорскую кровь (больные гемофилией) и препараты крови. В группе риска находятся и медицинские работники, постоянно контактирующие с кровью.

Половой путь передачи имеет меньшее значение. Заражаются преимущественно люди, ведущие беспорядочные половые связи и гомосексуалисты.

Патогенез. ВГС непосредственно попадает в ток крови, заносится в печень и инфицирует гепатоциты, оказывая прямое цитотоксическое действие и вызывая нарушение внутриклеточных процессов. Основная причина длительного выживания ВГС в организме – способность ускользания от иммунологического над-

зора, обусловленная генетической неоднородностью вируса и его выраженной изменчивостью.

Клиническая картина заболевания. Инкубационный период короче, чем при гепатите В, и составляет от 6 до 120 недель. Клиническое течение острого гепатита С более легкое, чем гепатита В. Часто встречаются безжелтушные формы, но, несмотря на это, у 70 % больных развивается хронический гепатит, осложняющийся часто циррозом печени или гепатоцеллюлярной карциномой. Многие больные хроническим гепатитом не доживают до развития этих осложнений и умирают раньше от сопутствующих болезней.

Иммунитет. При заболевании гепатитом С гуморальные и клеточные факторы иммунитета не обладают достаточной эффективностью и не способны полностью обезвредить возбудителя. Практически иммунитет не формируется, и ВГС персистирует в организме длительное время, поддерживая состояние хронической (обусловленной нахождением в организме вирусов с разной скоростью репродукции) или латентной (когда присутствуют вирусы с медленной репродукцией) инфекции.

Микробиологическая диагностика. Диагноз гепатита С не может считаться установленным без лабораторного подтверждения. Маркеры репликации вируса – антитела IgM к вирусу гепатита С и вирусная РНК. Их выявляют методами иммуноферментного анализа и полимеразноцепной реакцией.

Серологический метод. Показания для поиска антител или РНК вируса – любые воспалительные заболевания печени. Вирусспецифические антитела появляются в среднем через 3 месяца. Обнаружение специфических антител класса IgM указывает на острую фазу инфекции или обострение хронической формы гепатита. Для подтверждения результатов ИФА применяют метод иммуноблотинга, позволяющий эффективно исключить ложноположительные результаты ИФА.

Полимеразноцепная реакция позволяет обнаружить специфическую РНК возбудителя гепатита С уже во время инкубационного периода или в начале заболевания. С помощью ПЦР устанавливают генотип и подтип вируса, а также концентрацию

вируса в крови (по титру РНК). Количественная ПЦР дает возможность оценить активность инфекционного процесса и его прогноз, судить об эффективности лечения.

Лечение:

- интерферон и индукторы интерферона;
- противовирусные препараты: ламивудин, рибоверин, вирусид;
- симптоматические и патогенетические препараты такие же, как при гепатите В.

Профилактика: вакцина – в стадии разработки.

V. ВИРУС ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА (ВИЧ)

Вирус иммунодефицита человека – возбудитель инфекции с медленным развитием, длительным течением и разнообразными клиническими проявлениями, которая завершается развитием синдрома приобретённого иммунодефицита (СПИД) и гибелью больного.

История открытия ВИЧ

Впервые СПИД описан в 1981 г. в «Еженедельном вестнике заболеваемости и смертности», издаваемом в США. Врачи госпиталя Нью-Йоркского университета, а затем Лос-Анджелеса в течение 1980–1981 гг. зарегистрировали групповое появление у гомосексуалистов необычных форм саркомы Капоши и злокачественной пневмоцистной пневмонии. Когда таких больных было зарегистрировано больше сотни, врачи заподозрили, что имеют дело с каким-то новым заболеванием, назвав его «чумой беспутных», так как оно было связано с гомосексуализмом, ростом проституции, венерических заболеваний, порнографией и возникло в период разгула в США «сексуальной революции». Впоследствии обнаружилось, что такие же заболевания встречаются и среди людей, страдающих гемофилией, которым многократно переливают плазму крови. Затем было установлено, что заболевание передаётся при половых контактах, особенно в извращённых формах. Всё это дало основание предположить, что человечество имеет дело с новым инфекционным заболеванием. Начались поиски возбудителя. Впервые ВИЧ описал французский вирусолог Л. Монтань*, вирус был выделен (1983 г.) под названием LAV (от англ. *lymphadenopathy associated virus*), затем – американским вирусологом Р. Галло (1984 г.) под названием HTLV-III (*Human T-lymphotropic virus type III*). До этого Р. Галло и его сотрудники уже выделили два Т-лимфотропных ретровируса человека. Один из них – HTLV-I (*Human T-lymphotropic virus type I*) – возбудитель редкого, но злокачественного Т-лейкоза человека. Второй вирус – HTLV-II – также вызывает Т-клеточные лейкозы и лимфомы. Дальнейшие исследования показали, что новый вирус HTLV-III

вызывает деструкцию инфицированных клеток с последующей их гибелью, в отличие от вирусов HTLV-I и HTLV-II, которые трансформируют Т-клетки, приводя к неконтрольной пролиферации.

После установления идентичности HTLV-III и LAV вирусу было присвоено название HIV (англ. *Human Immunodeficiency Virus*) или ВИЧ – вирус иммунодефицита человека. С этого времени длительно протекающее инфекционное заболевание человека, вызванное ВИЧ, стали называть ВИЧ-инфекцией, а термин СПИД сохранили для обозначения последней – терминальной стадии этого заболевания.

Известны 2 серотипа ВИЧ: ВИЧ-1 и ВИЧ-2, которые отличаются по антигенным и структурным свойствам. ВИЧ-1 наиболее патогенен и является этиологической причиной глобальной пандемии и основным возбудителем ВИЧ-инфекции. ВИЧ-2 эндемичен для Западной и Центральной Африки, в других странах выявляется в единичных случаях и отличается более длительным и доброкачественным течением.

ВИЧ относится к *семейству Retroviridae*, подсемейству *Lentiviridae*. Характерные особенности ретровирусов – уникальное строение генома и наличие обратной транскриптазы (ревертазы от англ. *retro* – обратно) или РНК-зависимой ДНК-полимеразы, обеспечивает обратную направленность потока генетической информации не от ДНК к РНК, а, наоборот, от РНК к ДНК. *Lentiviridae* (от лат. *lenti* – медленный) отражает длительный инкубационный период и медленную неодинаковую скорость развития инфекционного процесса в макроорганизме.

Строение вириона. Вирионы ВИЧ имеют сферическую форму диаметром 100–120 нм. Внешняя оболочка вириона – суперкапсид – образован двойным липидным слоем, состоящим из молекул, захваченных вирусом во время его отпочковывания из клетки, в которой он сформировался. Суперкапсид имеет гликопротеидные антигены, по форме напоминающие грибок, ножка которого погружена в мембрану суперкапсида, а шляпка обращена наружу. Шляпка образована gp120 (прикрепительный белок), а ножка – gp41 (белок слияния). Под внешней оболочкой вируса

находится матриксный белок, состоящий из белка p17, и сердцевина вириона (core). Нуклеокапсид с кубическим типом симметрии состоит из капсидного белка p24 и имеет форму полого конуса. Внутри конуса расположены две идентичные нити плюс-РНК, представляющие собой диплоидный геном, белок p7 и вирусные ферменты – обратная транскриптаза, протеаза, интеграна.

Геном вируса состоит из трёх основных структурных генов (gag, pol, env) и семи регуляторных генов (tat, rev, nef, vif, vpr, vpr, vpx). Ген gag кодирует матриксные, капсидные, нуклеокапсидные белки и белки протеазы; ген pol – обратную транскриптазу, интегразу; ген env – поверхностный белок gp120 и трансмембранный gp41. Большое значение имеют регуляторные гены, образующие сложную систему регуляции синтеза вирусных компонентов и обеспечивающие осуществление процессов репродукции и участие вирусов в инфекционном процессе.

Репродукция. Рецептором для ВИЧ является клеточный дифференцировочный антиген CD4 (Cell Differentiation antigen), по своему строению гомологичный с белком gp120 вируса. Вследствие этого прямыми клетками-мишенями для ВИЧ являются клетки, имеющие на своей поверхности CD4-рецепторы, которые более всего представлены на мембране Т-лимфоцитов-хелперов. Такие рецепторы есть и у других клеток (моноциты и их тканевые формы – макрофаги, клетки Лангерганса, дендритные клетки, фолликулярные клетки лимфоузлов, альвеолярные макрофаги лёгких, клетки кожи и других органов). Также часть всех В-лимфоцитов (5 %), несущих CD4, и клетки, не имеющие рецепторов CD4 (эпителиальные, эндотелиальные, нервные и др.), тоже могут быть инфицированы ВИЧ.

Этапы взаимодействия ВИЧ с клеткой-мишенью. Адсорбция вируса на клетке, несущей рецепторы CD4, происходит путём присоединения gp120 к клеточным рецепторам при участии gp41, способствующей проникновению вируса в клетку путём слияния вирусной и клеточной мембран или путём эндоцитоза. Оказавшись в цитоплазме клетки, сердцевина вируса депротенинируется, высвобождается геномная РНК вируса и запускается сложный механизм обратной транскрипции вирусной РНК.

Сначала на матрице одной нити геномной плюс-РНК с помощью вирусной обратной транскриптазы синтезируется комплементарная нить ДНК. Затем другая нить вирусной плюс-РНК разрушается рибонуклеазой и на её место встраивается вторая нить ДНК, образуя двуниговую молекулу ДНК, которая транспортируется в ядро клетки и с участием интегразы встраивается в геном клетки-хозяина. Интегрированный в геном провирус вызывает состояние вирусной интегративной инфекции на протяжении длительного времени, вплоть до гибели клетки, или передается дочерним клеткам при их делении.

Переход к продуктивной инфекции происходит в большем или меньшем количестве инфицированных клеток. Репликация ВИЧ начинается с транскрипции вирусных генов. На ДНК провируса образуются копии вирусной плюс-РНК, часть из них становятся будущими геномными РНК, другие – выполняют функции и-РНК, осуществляя трансляцию вирусных белков – регуляторных и структурных.

Сборка вириона начинается с формирования сердцевинки вируса, состоящей из двух идентичных нитей геномной РНК с ассоциированными ферментами, и капсида. Вирус приобретает суперкапсид при отпочковывании из клетки через участок мембраны с прилегающим изнутри матриксным слоем, в который встроен трансмембранный gp41 с выступающим наружу gp120. Продолжительность цикла репродукции – один–двое суток, заканчивается гибелью клетки.

Эпидемиология. ВИЧ-инфекция распространена на всех континентах, в подавляющем большинстве стран и отнесена к кризисным инфекциям, угрожающим существованию человечества. Источник и резервуар ВИЧ-инфекции – человек на всех стадиях заболевания. Наибольшая концентрация ВИЧ наблюдается в крови, сперме, во влагалищном секрете. Именно через эти биологические жидкости происходит инфицирование. ВИЧ присутствует также в слезной и потовой жидкости, слюне, ликворе, моче и грудном молоке в незначительных количествах, поэтому эти биологические субстраты не представляют опасности для заражения. Исключение составляет материнское молоко, так как

при грудном вскармливании вирус ежедневно поступает в организм ребенка в течение длительного времени.

Способы передачи ВИЧ:

- при гомосексуальных и гетеросексуальных половых контактах, поэтому ВИЧ относится к ИППП;
- парентерально: при переливании крови, при трансплантации, через нестерильные шприцы и другие инструменты;
- вертикально от инфицированной матери – ребенку внутриутробно, во время родов, при грудном вскармливании.

Существуют группы риска людей, для которых заражение ВИЧ наиболее вероятно. Это гомосексуалисты, проститутки, инъекционные наркоманы, люди с заболеваниями крови, которым требуются частые гемотрансфузии, медицинские работники, которым по роду своей деятельности приходится контактировать с кровью. Обычные повседневные контакты с больными ВИЧ-инфекцией не опасны для окружающих.

Патогенез. В основе патогенеза ВИЧ-инфекции – развивающееся иммунодефицитное состояние, возникающее вследствие паразитирования вируса внутри иммунокомпетентных клеток.

При парентеральном или внутриутробном заражении вирус, перемещаясь с кровью и лимфой, заносится в лимфоузлы и инфицируют CD4-T-лимфоциты-хелперы. В результате интенсивной репродукции происходит массовая гибель T-хелперов, выход вирусов в кровь и их дальнейшее распространение по организму.

При проникновении вируса через слизистые оболочки при половых контактах одними из первых инфицируются клетки моноцитарно-макрофагальной системы (макрофаги, моноциты, дендритные клетки), в которых репродукция ВИЧ менее интенсивная, чем в T-хелперах, и, выходя из клеток, вирус не оказывает на них цитолитического действия. Эти клетки становятся хроническим резервуаром вируса и дополнительным фактором распространения ВИЧ в органах и тканях. Кроме того, инфицированные макрофаги уже на самых ранних стадиях заболевания преодолевают гематоэнцефалический барьер и переносят вирус в центральную нервную систему и другие органы, вызывая вто-

ричное заражение чувствительных к ВИЧ клеток. ВИЧ является нейротропным вирусом и поражает клетки микроглии, размножается в эндотелии сосудов ЦНС, нейронах. Неврологические симптомы могут возникать на раннем этапе заболевания, но обычно тяжелые поражения ЦНС с развитием деменции наблюдаются на конечной стадии болезни.

На протяжении ВИЧ-инфекции неуклонно уменьшается количество Т-хелперов и других CD4-клеток, а также снижается соотношение между T4-хелперами и T8 цитотоксическими лимфоцитами. В норме коэффициент T4/T8 составляет 1,8–2,4, при развитии ВИЧ-инфекции снижается до 0,5 и менее. Т-хелперы являются основным регулятором и активатором процессов, связанных с реализацией клеточного и гуморального ответа и развитием гиперчувствительности замедленного типа. Резкое снижение количества Т-хелперов, а также других CD4-клеток приводит к полной несостоятельности иммунной системы.

ВИЧ уникален и способен уклоняться от иммунологического контроля. Благодаря выраженной генетической изменчивости происходит постоянная селекция наиболее приспособленных вариантов вирусов, отличающихся своими антигенными свойствами (в частности, гипервариабельностью обладает антиген gp120), тропизмом, агрессивностью. Одновременно в организме присутствуют несколько антигенных вариантов вируса, которые непрерывно мутируют. Продуцируемые организмом антитела, обладающие вируснейтрализующим действием на исходный штамм вируса, в дальнейшем оказываются неэффективными против антигенно измененных вариантов. Вновь образующиеся антитела к этим вариантам также не обладают защитным действием вследствие дальнейшей изменчивости вируса. Избыточная продукция неэффективных иммуноглобулинов способствует истощению иммунной системы.

Еще одним способом уклонения ВИЧ от иммунологического надзора является интеграция его генома в ДНК клеток макроорганизма.

Поражение вирусом иммунокомпетентных клеток приводит к расстройству деятельности иммунной системы, что проявляется

угнетением иммунного ответа на антигены, ослаблением иммунных реакций, снижением продукции интерферона, комплемента, интерлейкинов и других иммунных факторов. В результате подавления клеточного и гуморального звена иммунитета организм становится беззащитным против экзогенных (бактерии, вирусы, грибы, простейшие) и эндогенных (опухолевые) антигенов. Этот механизм лежит в основе возникновения вторичных болезней и клинических проявлений ВИЧ-инфекции.

Клинические проявления и стадии развития ВИЧ-инфекции

ВИЧ-инфекция, по В.И. Покровскому, протекает в несколько стадий:

- инкубационный период;
- стадия первичных проявлений;
- латентная стадия;
- стадия вторичных заболеваний;
- терминальная стадия.

Инкубационный период длится от нескольких недель до трех месяцев. В это время вирусы интенсивно репродуцируются в Т4-хелперах и других CD-4-клетках, вызывая их гибель. Количество этих клеток резко падает. Возникает вирусемия, концентрация вирусов быстро нарастает.

Стадия первичных проявлений продолжается от нескольких дней до одного–двух месяцев. Вирус распространяется в лимфоидных органах – лимфатических узлах, миндалинах, селезёнке. Организм формирует иммунный ответ мобилизацией цитотоксических лимфоцитов и нейтрализующих антител, выявляемых на 3–12-й неделе (сероконверсия). В зависимости от реактивности организма эта стадия может протекать бессимптомно или в виде острой ВИЧ-инфекции, сопровождаемой лихорадкой, миалгией, болью в горле, кашлем, ночным потом и гастроинтестинальными симптомами (тошнота, рвота, понос, абдоминальные боли). Возможно присоединение вторичных инфекций, вызванных микробами-оппортунистами.

Латентная стадия продолжается от нескольких месяцев до восьми – десяти лет, протекает без видимых симптомов, за ис-

ключением увеличения нескольких лимфатических узлов или более выраженной лимфоаденопатии. На этой стадии происходит медленное прогрессирование иммунодефицита. В начале число Т4-лимфоцитов восстанавливается (но не до исходного уровня), постепенно снижается уровень репликации вируса, вирусемия находится на постоянно низком уровне. Т8-лимфоциты, вызывающие гибель инфицированных клеток, оказывают сдерживающее действие на репродукцию ВИЧ, способствуя замедленному течению ВИЧ-инфекции. Продукция специфических антител продолжается, но они не обладают защитным действием, являясь лишь «свидетелями» ВИЧ-инфекции. В конце этого периода равновесие, длительно поддерживавшееся иммунной системой, нарушается.

Стадия вторичных заболеваний характеризуется прогрессирующей активацией репликации вируса, повышением содержания ВИЧ в плазме, усилением деструкции иммунной системы, снижением Т4-клеток. Прогрессирующий иммунодефицит делает человека всё более беззащитным против микробов-оппортунистов – представителей нормальной микрофлоры, микробов, проникающих из внешней среды, и к развитию онкологических заболеваний. Человек теряет вес.

Клинические симптомы и синдромы нарастают с переходом в тяжёлые прогрессирующие болезни, большинство из которых проявляются в формах, которые не встречаются у человека с нормально функционирующей иммунной системой. Эти болезни называются СПИД-индикаторными: пневмоцистная пневмония, саркома Капоши, новообразования внутренних органов, лимфомы, герпетические инфекции и др.

Терминальная стадия – синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД). Иммунодефицит достигает крайней степени, и вторичные заболевания становятся необратимыми. Происходят генерализация оппортунистических инфекций, распространение опухолей. Эти процессы приводят к крайнему истощению – кахексии. Прогрессируют деменция, развитие лимфом и абсцессов в ткани мозга, нарушается деятельность ЦНС и других жизненно важных систем, больной погибает.

У детей ВИЧ-инфекция прогрессирует быстрее, чем у взрослых (новорожденные и ослабленные дети погибают в течение двух лет). ВИЧ-инфицированные дети отстают в физическом и психическом развитии, у них чаще, чем у взрослых, наблюдаются множественная гиперплазия лимфоузлов, энцефалопатия, рецидивирующие оппортунистические инфекции и практически не развиваются опухоли.

Микробиологическая диагностика. Основу диагностики составляет выявление специфических антител и антигенов вируса на разных стадиях ВИЧ-инфекции. Антитела к антигенам gp41 и gp120 и p24 выявляют, начиная с периода сероконверсии – стадии первичных проявлений, и в течение всех последующих стадий. Основные диагностические методы – ИФА и иммуноблот.

Микробиологическая диагностика ВИЧ-инфекции основывается на использовании методов, направленных на выявление антител к ВИЧ, реже антигенов ВИЧ, геномного материала, а также на выделении вируса.

Для практических лабораторий по доступности, точности, простоте использования первостепенное значение имеет *серодиагностика* ВИЧ – обнаружение в сыворотке пациента специфических антител к антигенам ВИЧ. Антитела появляются через 1–3 месяца после инфицирования и обнаруживаются на всех стадиях ВИЧ-инфекции. При развитии СПИДа количество антител может снижаться вплоть до полного исчезновения.

При обнаружении антител к диагностикуму ВИЧ-сыворотку исследуют дважды, используя разные серии диагностикума или различные тест-системы. При положительном результате (даже в одной пробе), который считается предварительным, в связи с возможностью ложноположительных реакций проводят подтверждающее экспертное исследование. Подтверждающую проверку проводят методом иммуноблотинга (вестерн-блот) с выявлением антител к определённым белкам вируса. Согласно инструкции, обнаружение антител к одному из гликопротеинов – gp41, gp120, gp160 – или белкам p24 следует считать положительным результатом.

Методом ИФА можно выявить ВИЧ-антигены в крови и лимфоцитах в более ранние сроки, чем антитела, однако это удаётся не всегда.

Вирусологическое исследование заключается в выделении ВИЧ из биологических жидкостей и лимфоидных клеток обследуемого человека в культуре клеток с последующей идентификацией по ЦПД и в реакции вирусонейтрализации, но из-за сложности выполнения применяется лишь в отдельных специализированных лабораториях.

Молекулярно-генетический метод. Используют ПЦР для определения ДНК ВИЧ в мононуклеарах периферической крови. Эта качественная проба позволяет обнаружить ВИЧ через 2–3 недели после заражения.

Иммунологическое исследование. Обследуют состояние иммунной системы организма (иммунный статус). Снижение количества Т4-лимфоцитов до 400–500 клеток/мкл, коэффициента соотношения Т4/Т8-лимфоцитов ниже 0,6, а также резкое повышение количества IgA, IgG, IgE и циркулирующих иммунных комплексов являются косвенными доказательствами наличия ВИЧ-инфекции.

Диагностика ВИЧ-инфекции у детей, родившихся от позитивных матерей, затруднена. С первых дней жизни и в течение нескольких месяцев в крови могут циркулировать специфические антитела класса G, полученные пассивно от ВИЧ-инфицированной матери, что не является доказательством заражённости ребёнка. Поэтому на первом году у новорожденного диагностика ВИЧ-инфекции основана на выявлении антигенов ВИЧ в сыворотке крови, определении наличия провирусной ДНК в лимфоцитах периферической крови или выделении вируса в культуре клеток. Диагностическое значение может иметь нарастание титра антител класса IgA.

Проблемы лечения и специфической профилактики ВИЧ-инфекции

До настоящего времени не разработаны эффективные средства этиотропной химиотерапии, которые могли бы удалить ВИЧ из организма. Наиболее перспективны препараты, нарушающие

репродукцию ВИЧ. По механизму действия они делятся на два класса. К *первому классу* относятся препараты, подавляющие активность обратной транскриптазы, – тимидиновые (азитотимидин, ставудин) и нетимидиновые (диданозин, зальцитабин, ламивудин) являются аналогами нуклеозидов. Они имитируют естественные нуклеотиды, встраиваются в нить ДНК на этапе обратной транскрипции, что приводит к нарушению процесса репродукции вируса. К этому же классу относятся ненуклеозидные препараты (невирапин, делавиридин и др.), обладающие способностью непосредственно связываться с обратной транскриптазой и блокировать её.

Второй класс – препараты (саквинавир и др.), которые взаимодействуют с активным центром ВИЧ-протеазы, приводят к образованию незрелых неинфекционных вирусных частиц.

В настоящее время препараты обоих классов используют как компоненты комбинированной тритерапии, которая пришла на смену моно- и дитерапии. Оптимальным является сочетание препаратов, подавляющих протеазу и обратную транскриптазу. Такая терапия позволяет снизить количество вирусов в крови до уровня ниже, чем 500 копий/мкл. Это не только улучшает иммунитет, но даже возвращает работоспособность. При этом важна непрерывность лечения, поскольку при его отмене активная репликация вируса возобновляется. Кроме того, после длительного использования одной и той же схемы терапии, через несколько лет, вирус мутирует, приобретая резистентность к применяемым препаратам, и для дальнейшего контроля над прогрессированием ВИЧ-инфекции необходимо применять новые схемы лечения другими препаратами. На сегодняшний день применяемая высокоактивная антиретровирусная терапия лишь замедляет прогрессирование ВИЧ-инфекции и её переход в стадию СПИДа, позволяя ВИЧ-инфицированному человеку хотя бы какое-то время жить полноценной жизнью. Этому же способствует использование для лечения ВИЧ-инфекции иммуномодулирующих средств: цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-12), ингибиторов фактора некроза опухоли, а также тщательное лечение и профилактика оппортунистических инфекций.

Профилактика ВИЧ-инфекции. Пандемия ВИЧ-инфекции продолжается, при этом 90 % из числа всех случаев инфицирования связаны со странами развивающегося мира, где по экономическим причинам применение дорогостоящего лечения недоступно. В связи с этим, однако, с самого начала было очевидно, что ВИЧ-инфекция не похожа на другие вирусные заболевания, контролируемые вакцинацией. Хроническое течение, состояние вирусоносительства, интеграция провирусной ДНК в геном клетки, высокая изменчивость вируса – это неполный перечень проблем, которые затрудняют создание вакцины. Интенсивные поиски безвредной эффективной вакцины ведутся постоянно. К настоящему времени на основе классических подходов созданы более 50 препаратов, предлагаемых в качестве профилактических вакцин. Более 20 из них (субъединичные) рекомбинантные, пептидные, живые векторные, ДНК-вакцины и вирусоподобные частички) прошли первичные испытания на добровольцах. К единому мнению об эффективности вакцин ещё не пришли, поэтому Программа ООН/ВОЗ поддерживает фундаментальные исследования по разработке вакцин.

Пока ВОЗ выделяет основные виды деятельности, направленные на борьбу с эпидемией ВИЧ-инфекции и её последствиями:

1. Предупреждение половой передачи ВИЧ, включающее обучение безопасному половому поведению, распространение презервативов, лечение других ИППП (факторы заражения ВИЧ).
2. Предупреждение передачи ВИЧ через кровь путём снабжения безопасными препаратами, приготовленными из крови.
3. Предупреждение трансплацентарной передачи ВИЧ путём обеспечения медицинской помощи, включая консультирование женщин, инфицированных ВИЧ, и проведение химио профилактики.
4. Организация медицинской помощи и социальной поддержки больным ВИЧ-инфекцией, их семьям и окружающим. Внимание к проблеме на государственном уровне.
5. Профилактическая работа среди наркоманов, разъяснение механизмов заражения при парентеральном введении наркотиков.

Своевременное обследование и выявление ВИЧ-инфицированных, борьба с проституцией, наркоманией, безнравственностью.

Важное значение имеет механическая защита от инфицирования (одноразовые шприцы, иглы, системы для переливания крови, обеззараживание материалов и т. д.).

VI. ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 30

Темы: Возбудители парентеральных вирусных гепатитов В, С, D. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)

План занятия:

1. Семейство *Hepadnaviridae*. Классификация, свойства. Заболевания, вызываемые вирусами данного семейства.
2. Семейство *Retroviridae*. Свойства ВИЧ и особенности заболевания.
3. Особенности работы ВИЧ-лаборатории и принципы забора материала при ВИЧ-инфекции.
4. Методы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции.
5. Препараты, применяемые для диагностики и лечения ВИЧ-инфекции и парентеральных вирусных гепатитов.

Цель занятия:

1. Изучить биологические свойства возбудителей парентеральных вирусных гепатитов.
2. Выработать чёткое представление о патогенезе микробиологической диагностики вирусных гепатитов.
3. Выработать представление о биологических свойствах и роли ретровирусов в возникновении ВИЧ-инфекции.
4. Изучить принципы микробиологической диагностики ВИЧ-инфекции.
5. Научить обосновывать подбор препаратов для идентификации лечения и профилактики вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции.

Учебно-целевые задачи:

Знать:

1. Классификацию и биологические свойства ретровирусов, их роль в возникновении ВИЧ-инфекции.
2. Эпидемиологию, патогенез, про восприимчивость, иммунитет, механизмы передачи ВИЧ-инфекции.
3. Методы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции.
4. Основы профилактики ВИЧ-инфекции. Препараты для диагностики и лечения.

5. Характеристику, биологические свойства возбудителей парентеральных гепатитов.

6. Про патогенез, клинику, эпидемиологию, восприимчивость, иммунитет, механизмы передачи при парентеральных гепатитах.

Уметь:

1. Составить алгоритм вирусологического обследования при подозрении на вирусные гепатиты и ВИЧ-инфекцию.

2. Идентифицировать и дифференцировать выделенные вирусы на куриных эмбрионах и культуре клеток.

3. Классифицировать диагностические и лечебные препараты при вирусных гепатитах и ВИЧ-инфекции в соответствии с их назначением.

Владеть:

1. Способами идентификации и дифференциации выделенных возбудителей болезней по антигенным свойствам.

2. Интерпретацией результатов серологических реакций при диагностике гепатитов В, С, D, ВИЧ-инфекции.

3. Подбором препаратов для диагностики, лечения и специфической профилактики гепатитов В, С, D, ВИЧ-инфекции.

Демонстрация:

1. Схемы строения возбудителей парентеральных гепатитов и ВИЧ-инфекции.

2. Схемы постановки ИФА при ВИЧ-инфекции и гепатите.

3. Тест-системы для постановки ИФА при диагностике гепатитов В и С.

4. Препаратов, применяемых для специфической профилактики гепатита В.

Самостоятельная работа:

1. Ознакомиться с инструкцией для постановки ИФА при ВИЧ-инфекции и гепатитах.

2. Учесть результаты ИФА с сывороткой, содержащей антигена против ВИЧ-инфекции.

3. Решение ситуационных задач.

Контрольные вопросы:

1. Вирус гепатита В, таксономическое положение, морфология вириона.

2. Структура, антигены, их локализация, свойства, роль обратной транскриптазы, интегразы.
3. Особенности репродукции вируса гепатита В и связанные с ними пути развития инфекционного процесса.
4. Источник инфекции, пути заражения, патогенез заболеваний парентеральными гепатитами.
5. Иммунологические реакции, применяемые для обнаружения австралийского (НВs) антигена вируса гепатита В у больных и вирусоносителей.
6. Ингредиенты, необходимые для постановки иммуноферментного анализа (ИФА) с целью определения иммуноглобулинов класса М, G у больных гепатитом В.
7. Результаты каких микробиологических исследований позволяют подтвердить диагноз гепатит В?
8. Вакцина, применяемая для создания иммунитета против гепатита В, и способ её получения, сроки вакцинации и ревакцинации.
9. Вирус гепатита D (дельта-вирус), структура, свойства, особенности генома, патогенез, клиническая картина.
10. Вирус гепатита С, структура, свойства, особенности генома.
11. Тесты, применяемые для дифференциальной диагностики парентеральных гепатитов В, С, D.
12. Профилактика и лечение гепатитов В, С, D.
13. Особенности строения ВИЧ, биологические свойства.
14. Стадии репродукции ВИЧ, культивирование.
15. Способы заражения ВИЧ-инфекцией, группы риска заболевания ВИЧ-инфекцией и особенности патогенеза.
16. Непосредственные причины гибели больных ВИЧ-инфекцией.
17. Механизм развития иммунодефицита человека в результате заражения.
18. Стадии ВИЧ-инфекции, особенности клинического проявления, прогноз.
19. Методы микробиологической диагностики ВИЧ-инфекции.

20. Реакции, применяемые для серодиагностики ВИЧ-инфекции.

21. В каких случаях и как проводится иммуноблотинг при диагностике ВИЧ-инфекции?

22. Назовите ВИЧ-ассоциированные инфекции.

23. Лечение и профилактика ВИЧ-инфекции.

24. В чём трудность создания вакцины против ВИЧ-инфекции?

VII. ВОЗБУДИТЕЛИ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

7.1. Арбовирусы

Арбовирусы (от лат. *arthropoda* – членистоногие и англ. *borne* – передающийся) вызывают большую часть вирусных природно-очаговых инфекций. Это многочисленная экологическая группа вирусов, циркулирующих в природных очагах между восприимчивыми позвоночными животными и кровососущими членистоногими. Арбовирусы включают представителей из разных семейств. Наибольшее число арбовирусов относится к семействам *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Bunyaviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae*.

В семейство *тогавирусы* входят альфавирусные лихорадки, распространенные в странах Африки, Южной Америки и др. Основными представителями, патогенными для человека, являются вирусы *Синдбис*, *Чикунгунья*, *О Ньонг-Ньонг*, *венесуэльского энцефаломиелиита* лошадей.

В семейство *буньявирусы* (местность Буньямвера в Уганде) включены вирусы Конго-Крымской геморрагической лихорадки, вирусы геморрагической лихорадки с почечным синдромом и много других.

В семейство *флавивирусы* (от лат. *flavus* – жёлтый) – вирусы клещевого энцефалита, омской геморрагической лихорадки, японского энцефалита, желтой лихорадки, лихорадки денге.

Заболевания, вызываемые арбовирусами, проявляются в виде трёх клинических синдромов:

- системные лихорадки, иногда с сыпью и поражением суставов, протекают доброкачественно;
- геморрагические лихорадки;
- энцефалиты с тяжелым течением и высокой летальностью.

Семейство *флавивирусы*. Типичным представителем является вирус желтой лихорадки, отсюда название семейства. Флави-

вирусы включают 4 подгруппы антигенно родственных вирусов: клещевого энцефалита, японского энцефалита, денге, желтой лихорадки и омской геморрагической лихорадки.

7.1.1. Клещевой энцефалит

Клещевой энцефалит называют весенне-летним энцефалитом таежным, русским, дальневосточным. Это заболевание стало отмечаться с 1932 года в некоторых таежных районах Дальнего Востока и оставалось не распознанным и диагностировалось как токсический грипп. В мае 1937 года на Дальний Восток была направлена первая научная экспедиция, руководимая Л.А. Зильбером. Уже в первый год была выявлена новая форма энцефалита, выделен ее возбудитель в количестве 29 штаммов, установлена природная очаговость болезни.

Клещевой энцефалит – острая вирусная природно-очаговая, трансмиссивная, инфекционная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и нередко признаками поражения центральной нервной системы.

Возбудитель клещевого энцефалита относится к **семейству Flaviviridae**, роду *Flavivirus*.

Морфология, химический состав, антигенная структура. Возбудитель клещевого энцефалита – сложноорганизованный вирус сферической формы диаметром 25–40 нм. Геном представлен линейной однонитевой плюс-РНК, окруженной белковым капсидом и наружной липопротеидной оболочкой, на поверхности которой имеются шипики, образованные гликопротеидами. Вирусы имеют группоспецифические антигены, связанные с нуклеокапсидом, и видоспецифические антигены гликопротеидной природы.

Культивирование вируса производится в организме новорожденных белых мышей, в первичных и перевиваемых культурах клеток и в оболочках куриного эмбриона. У мышей-сосунков при интрацеребральном заражении развивается острая инфекция с поражением ЦНС, которая заканчивается параличами конечностей и гибелью животных. В культуре клеток наблюдается слабо-выраженное ЦПД.

Резистентность. Вирусы клещевого энцефалита чувствительны к эфиру и другим жирорастворителям, формалину, низким значениям рН, УФ-облучению. Инактивируются при 56–60°C в течение 30 минут. Длительно сохраняются в замороженном и лиофилизированном состоянии.

Эпидемиология. Клещевой весенне-летний энцефалит – трансмиссивное природно-очаговое заболевание, распространено в таежных зонах Дальнего Востока, в лесных районах Сибири, Урала, Восточного Казахстана и в горных районах Кыргызстана. Очаговость заболевания обусловлена распространением переносчика. Циркуляция вирусов в природе осуществляется между кровососущими членистоногими и дикими позвоночными животными (ежи, кроты, белки, бурундуки, полевки; из птиц – рябчики, дрозды, зяблики).

Клещи передают вирус не только через укус позвоночным, но также трансвариально своему потомству. В круговорот вирусов в природе человек попадает как случайное звено, если подвергается укусу зараженного переносчика. Помимо передачи через членистоногих, имеются и другие пути распространения. Доказан алиментарный путь заражения человека через сырое молоко коз, реже коров, овец.

Заболеемость клещевым энцефалитом носит сезонный характер. Первые случаи появляются в апреле, максимума достигают в мае, июне. Сезонность обусловлена численностью и активностью иксодовых клещей в природе. Максимальная активность наблюдается в весенние месяцы. К клещевому энцефалиту восприимчивы все возрастные группы людей. Наиболее подвержены заболеваниям лица, связанные по роду своей профессии с лесом или посещающие лес в целях сбора ягод, грибов и др. В природных очагах инфицируются преимущественно вновь прибывшие контингенты. У населения, длительно проживающего на территории очагов, отмечается естественная иммунизация.

Патогенез. Входными воротами инфекции при трансмиссивном заражении служит кожа, при алиментарном – слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта. Вирусы размножаются в подкожной клетчатке, затем проникают в лимфатические узлы

и кровь. С кровью вирус достигает центральной нервной системы. В патологический процесс вовлекается серое вещество головного и спинного мозга. Особенно сильно страдают крупные двигательные нейроны спинного мозга и ствола головного мозга. Гибель нервной ткани может наблюдаться также в среднем мозге, зрительном бугре, гипоталамической области, коре головного мозга и мозжечка.

После инкубационного периода продолжительностью от 1 до 40 дней развивается лихорадка. Затем заболевание может протекать с преобладанием менингеального или энцефалитического синдрома. Возникают вялые парезы мышц шеи, плечевого пояса, верхних конечностей и туловища. Часто к исходу заболевания, наряду с парезами, наблюдается мышечная атрофия трапециевидных, двуглавых и грудных мышц. При этом голова не удерживается в вертикальном положении и пассивно свисает, движения плеч и верхних конечностей резко ограничены или полностью утрачиваются. Известны молниеносные формы клещевого энцефалита, завершающиеся летальным исходом в течение суток, до развития основных клинических признаков болезни. Описаны хронические формы клещевого энцефалита. Среди жителей природных очагов нередко встречается бессимптомная инфекция, сопровождающаяся носительством и приводящая к развитию стойкого иммунитета.

Иммунитет. После перенесения клещевого энцефалита остается стойкий постинфекционный гуморальный и клеточный иммунитет. Повторные случаи заболевания не встречаются.

Микробиологическая диагностика клещевого энцефалита

Исследуемые материалы: кровь, ликвор, реже носоглоточный смыв, испражнения. В летальных случаях – ткани из различных отделов головного мозга (коры, аммонового рога, продолговатого мозга).

Методы исследования: вирусологический, биологический, серологический, иммунофлюоресцентный и молекулярно-генетический.

Вирусологический метод диагностики основан на выделении вируса из инфекционного материала путем заражения культур клеток (фибробласты куриных эмбрионов, почек эмбриона свиньи). Вирусы клещевого энцефалита вызывают ЦПД через 4–6 дней после заражения в виде круглоклеточной дегенерации с отслоением клеток от стекла. Хорошо размножаются вирусы в куриных эмбрионах при заражении в хориоаллантоисную оболочку или желточный мешок. Идентификация возбудителя проводится в РТГА и РСК с наборами иммунных диагностических сывороток. Окончательную дифференциацию вирусов осуществляют в реакции нейтрализации.

Биологический метод основан на выделении вируса из инфекционного материала путем интрацеребрального заражения белых мышей. Заболевание у мышей сопровождается параличами, особенно часто задних лап.

Серологический метод направлен на выявление антител против вируса клещевого энцефалита. Проводится с помощью РНГА, РСК, РТГА, ИФА. Серологические реакции ставят с парными сыворотками: первую берут сразу после начала заболевания, вторую – через 10–14 дней после первой. Диагноз считается подтвержденным при 4-кратном повышении титров специфических антител.

Молекулярно-генетический метод направлен на выявление в исследуемом материале геномной РНК или и-РНК с помощью ПЦР.

Профилактика. Специфическая профилактика основана на вакцинации населения эндемичных очагов по эпидемическим показаниям. Для вакцинации используется тканевая инактивированная вакцина. При обнаружении у человека присосавшихся клещей вводят специфический донорский или лошадиный иммуноглобулин.

В очагах заболевания проводятся мероприятия по уничтожению грызунов, истреблению иксодовых клещей. Основные меры личной профилактики – ношение специальных противоклещевых комбинезонов, проведение самоосмотров и взаимных осмотров одежды и тела с удалением и уничтожением обнаруженных

клещей. Рекомендуется употреблять в пищу только кипяченое молоко.

Специфическая профилактика. Применяется культуральная вакцина, состоящая из вируса клещевого энцефалита, инактивированного формалином. Обязательной вакцинации подлежат лица, работающие в природных очагах. При укусе клеща профилактически вводят специфический иммуноглобулин.

Лечение. Кроме симптоматической и патогенетической терапии, в первые дни болезни показано применение специфического иммуноглобулина, препаратов рекомбинантного интерферона (виферон и др.) и индукторов интерферона (амиксин и др.); химиопрепаратов – азидотимидина, ганцикловира, арбидола.

7.1.2. Вирус японского энцефалита

Возбудитель впервые выявил японский вирусолог М. Хаяши (1924 г.), на территории СССР вирус обнаружили А.К. Шубладзе, А.А. Смородинцев и В.Д. Неустроев (1940–1944 гг.).

Вирус относится к *семейству Flaviviridae*, роду *Flavivirus*. Форма вириона сферическая, диаметр – 45–75 нм. Геном образует однонитевая молекула плюс-РНК, заключенная в капсид с кубическим типом симметрии. Снаружи капсид покрыт суперкапсидом, содержащим на поверхности гликопротеиновые шипы.

Культивируются вирусы в куриных эмбрионах, культурах клеток и организме многих лабораторных животных. При внутримозговом заражении обезьян, мышей, белых крыс, хомяков, котят возникает поражение центральной нервной системы по типу энцефалита, сопровождающееся вирусемией.

В культурах клеток вирус японского энцефалита вызывает цитопатогенные действия, сопровождающиеся образованием гигантских многоядерных клеток (симпластов). Характерно, что на поверхности этих клеток эритроциты не адсорбируются.

Эпидемиология, патогенез, клиническая картина. Заболевание распространено в Японии, Китае, Корее, Индии, на юге Приморья, на Филиппинах и в Тайване. Резервуар возбудителя: дикie птицы, грызуны, крупный рогатый скот, лошади, свиньи, птицы.

Переносчики – комары. Человек – тупиковый хозяин, эпидемиологической опасности не представляет. Пик заболеваемости приходится на июнь–август. Вирусы при укусе комаров проникают в кровь в результате кровососания. Патогенетической особенностью японского энцефалита является значительное поражение сосудистой системы с резко выраженными нарушениями микроциркуляции, определяемыми во всех органах, но особенно в центральной нервной системе. Вирус японского энцефалита обладает нейротропностью, преодолевает гематоэнцефалический барьер, размножается в нейронах центральной нервной системы, что ведет к гибели клеток. Особенно часто поражаются ядра гипоталамической области, подкорковые образования, двигательные ядра ствола и шейного отдела спинного мозга, где наблюдается наибольшая концентрация вируса. Помимо нервной ткани, вирус размножается в клетках паренхиматозных органов (печень, селезенка, костный мозг), что обуславливает высокий уровень вирусемии.

Инкубационный период – 8–14 дней, у человека японский энцефалит может протекать в различных клинических формах, от легких случаев заболевания с наличием признаков общетоксического синдрома до картины тяжело протекающего энцефалита или менингоэнцефалита, характеризующихся высокой летальностью, – 90 % и выше. После перенесенного заболевания остается длительный и напряженный иммунитет.

Микробиологическая диагностика основана на: выделении вируса из крови (в первые 7 дней заболевания), цереброспинальной жидкости (в течение 15 дней) и кусочков мозга умерших путем заражения новорожденных белых мышей, культуры клеток и куриных эмбрионов, а также определении антител в парных сыворотках крови больных и цереброспинальной жидкости с помощью РН, РСК, РТГА, РНГА, ИФА. Для обнаружения антигена используют РИФ и ИФА. В ряде случаев применяют постановку аллергической пробы.

Специфическое лечение. В первые дни заболевания эффективны повторные введения иммуноглобулина против японского энцефалита, выделенного из сыворотки крови лошадей, иммуни-

зированных вирусом. Препарат предупреждает дальнейшее развитие заболевания, но не излечивает уже развившиеся параличи. С профилактической целью препарат назначают и в случаях лабораторного заражения вирусом или массовых укусов комарами в очагах заболеваемости при наличии неблагоприятной эпидситуации.

Вакцинопрофилактику японского энцефалита осуществляют убитыми или живыми вакцинами. В эндемичных очагах вакцинация должна охватывать не только население, но и домашних животных, являющихся резервуарами вирусом.

7.1.3. Вирус омской геморрагической лихорадки (ОГЛ)

Вирус ОГЛ относится к антигенному комплексу вирусов клещевого энцефалита. Открыт в 1947 г. М.П. Чумаковым.

Патогенез и иммунитет. Заболевание протекает с высокой лихорадкой, выраженной интоксикацией и геморрагическим синдромом. В отличие от клещевого энцефалита вирус ОГЛ не проявляет выраженных нейротропных свойств, несмотря на антигенную близость между ними. Вирус ОГЛ поражает эндотелий кровеносных капилляров кожи и внутренних органов. Прогноз обычно благоприятный, смертность не превышает 0,5–3 %. После перенесенного заболевания формируется пожизненный гуморальный иммунитет, связанный с синтезом вируснейтрализующих антител.

Эпидемиология. Естественными резервуарами вируса в природе являются грызуны и птицы, у которых заболевание обычно протекает бессимптомно. Переносчиками и основными хозяевами вируса являются клещи. Заражение человека происходит при укусе инфицированных клещей, при прямом контакте с больными животными (например, при снятии шкуры), а также алиментарным путем – через инфицированную воду.

Специфическая профилактика. Для специфической профилактики используют инактивированную вакцину, приготовленную из мозга заражённых белых мышей. Для экстренной профилактики вводят специфический иммуноглобулин.

7.1.4. Вирус желтой лихорадки

Жёлтая лихорадка – тропическая геморрагическая лихорадка. Вирусную природу заболевания и основы эпидемиологии установили сотрудники американской военной миссии на Кубе под руководством У. Рида (1901 г.).

Жёлтая лихорадка входит в группу особо опасных карантинных инфекций. Ареалы заболевания – Южная и Центральная Америка, некоторые страны Африки. Известны зоонозная инфекция (джунглевая или сельская, резервуар – приматы) и антропонозная (городская, резервуар – человек). Переносчики – комары и москиты. Возбудитель жёлтой лихорадки представлен одним сероваром. Инкубационный период длится трое–семеро суток.

Патогенез. Вирус репродуцируется преимущественно в клетках печени, что приводит к нарушению их функций. Кроме печени, тяжело поражаются почки вследствие их жирового перерождения. Дегенеративные изменения наблюдаются в мышце сердца. Заболевание развивается остро.

Клинические проявления – озноб, высокая температура тела, сильная головная боль, фотофобия, мышечные боли, тошнота и рвота; характерна яркая гиперемия лица, шеи, кровоизлияния склер и конъюнктивы, кровоточивость десен. На третьи – четвертые сутки развивается желтуха, затем наступает кратковременный (до одних суток) период снижения температуры тела. Последующий ее подъем сопровождается обильными кровотечениями из различных органов. Возможно коллаптоидное состояние. Летальность при тяжелых формах достигает 85–100 %. В более легких случаях желтуха и геморрагический симптом могут отсутствовать. После выздоровления развивается стойкая пожизненная невосприимчивость к повторному заболеванию.

Желтая лихорадка существует в Западной и Центральной Африке с незапамятных времен. Коренное население обладает высокой устойчивостью к этой инфекции. Впервые весь ужас желтой лихорадки испытали на себе европейцы, прибывшие в Западную Африку. Нередко болезнь ошибочно диагностировалась как злокачественная малярия; из-за этих болезней Западную Африку стали называть могилой белого человека.

Специфическая профилактика. В настоящее время для специфической профилактики используются живые вакцины. Лица, выезжающие в неблагополучные по жёлтой лихорадке районы, должны обязательно вакцинироваться.

7.1.5. Вирус лихорадки денге

Вирусная природа заболевания доказана в 1907 г. Возбудитель был выделен и детально изучен А. Сэбиным в 1944 г. Известны 4 антигенных типа возбудителя.

Патогенез и иммунитет. Заболевание характеризуется лихорадочным состоянием, сыпью, болезненностью суставов и мышц, вынужденно изменённой («щеголеватой») походкой. Отсюда название (от англ. *dandy* – франт). Нередко встречается геморрагическая форма лихорадки денге, которая в отличие от классической протекает более тяжело. Вирус денге репродуцируется в различных органах – в печени, костном мозге, соединительной ткани, мышцах, клетках ЦНС. В крови вирус обнаруживается в первые дни заболевания. Полагают, что геморрагическая форма развивается при повторном инфицировании организма человека через несколько месяцев или лет после перенесения первой атаки вируса. При этом образуются иммунные комплексы, активируется комплемент, повышается проницаемость сосудов. В некоторых случаях геморрагическая форма заболевания возникает уже при первичном заражении.

Эпидемиология и профилактика. Заболевание распространено в странах с тропическим и субтропическим климатом. Резервуарами инфекции являются больные люди и обезьяны, у которых болезнь протекает бессимптомно. Переносчики – комары. Для специфической профилактики заболевания предложены убитые вакцины 1-го и 2-го типов, однако их эффективность невысока.

7.1.6. Вирус крымской геморрагической лихорадки (КГЛ)

Как самостоятельное заболевание вирус был впервые описан в 1944 г во время эпидемии в Крыму. В 1945 г. М.П. Чумаков выделил из крови больных, а также из клещей вирус-возбудитель.

Патогенез и иммунитет. При КГЛ наблюдаются вирусемия и множественные кровоизлияния (геморрагии) в полость желудка, кишечника, очаговые кровоизлияния в лёгких и геморрагические высыпания.

Вируснейтрализующие антитела появляются после перенесения заболевания и сохраняются во многих случаях в течение многих лет.

Эпидемиология и профилактика. Природные очаги инфекции зарегистрированы в Крыму, степной зоне Украины и других местах. Ближким по биологическим и антигенным свойствам является вирус Конго, вызывающий заболевания в Центральной Африке, поэтому болезнь называют крымско-конголезской геморрагической лихорадкой.

Основными носителями вируса являются пастбищные клещи. Из диких животных циркуляцию вируса поддерживают зайцы и ежи, из домашних – коровы и овцы, у которых заболевание протекает бессимптомно.

Человек обычно инфицируется при укусе клещей. Возможен контактный путь заражения, когда вирус попадает через микроповреждения кожных покровов и слизистых оболочек.

Для **специфической профилактики** применяется инактивированная формалином вакцина из мозга инфицированных новорожденных мышей.

Для **экстренной профилактики и лечения** применяют специфический иммуноглобулин.

7.1.7. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом

Вирус относится к роду Hantavirus, включающему несколько видов: Хантан, Сеул и др.

Многочисленные очаги заболевания зарегистрированы в следующих регионах: Дальний Восток, Предуралье, Среднее Поволжье, Белоруссия, Западная Украина. Антигенные разновидности вируса встречаются в разных странах.

Основной резервуар вируса в природе – многочисленные виды мышевидных грызунов, в особенности рыжая полёвка,

а также синантропные крысы. Участие кровососущих насекомых в передаче инфекции не доказано.

Человек заражается при контакте с экскрементами инфицированных грызунов.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом – тяжёлое вирусное заболевание человека, характеризующееся природной очаговостью. В патогенезе заболевания важная роль принадлежит повреждению Т-супрессоров и поликлональной активации В-лимфоцитов. Характерно образование инфекционных иммунных комплексов, которые откладываются в клубочках и извитых канальцах почек, нарушая их функцию. Репродукция вируса происходит в клетках лёгких, почек, селезёнки и эндотелии сосудов.

Иммунитет – гуморальный, вируснейтрализующие протективные антитела сохраняются после перенесенного заболевания пожизненно.

VIII. ВИРУС КРАСНУХИ

Вирус краснухи относится к *семейству Togaviridae*, роду *Rubivirus*. Геном вируса представлен нефрагментированной однонитевой плюс-нитью РНК. Вирионы имеют сферическую форму диаметром 60–70 нм. Нуклеокапсид с симметрией кубического типа окружен суперкапсидной оболочкой, содержащей липиды. Шиповидные выросты гликопротеидной природы на поверхности суперкапсидной оболочки обладают гемагглютинирующей, гемолитической и нейраминидазной активностью.

Антигены. Известны три структурных белка вируса: белок капсидной оболочки С и два гликопротеида суперкапсидной оболочки Е1 и Е2. Вирус представлен одним серотипом.

Резистентность. Наличие на поверхности вирионов белков делает их чувствительными к температуре, а наличие липидов – к эфиру. При замораживании вирус сохраняет инфекционную активность годами.

Культивирование. Вирус культивируют в развивающихся куриных эмбрионах, в первичной культуре клеток амниона человека, перевиваемых культурах клеток почек кролика и почек обезьян Vero, где вирус обладает цитопатическим действием. В других клеточных культурах вирус может размножаться без видимых изменений, но индуцирует развитие интерференции, защищающей клетки от цитопатического действия других вирусов (например, ЕСНО).

Эпидемиология и патогенез краснухи. Краснуха – это преимущественно детская инфекционная болезнь, но могут болеть и взрослые. Источник инфекции – больной. Пути передачи – воздушно-капельный, контактно-бытовой, вертикальный. После заражения вирус попадает в лимфатические клетки шейных лимфоузлов, в которых начинается первичная репродукция. Примерно через неделю после заражения вирус поступает в кровь. Через 2–3 недели появляется сыпь.

За 5–7 дней до появления сыпи вирус можно обнаружить в отделяемом носоглотки, при появлении сыпи – в моче и кале, в течение недели после появления сыпи – в крови.

Пик заболеваемости наблюдается весной. Эпидемии регистрируются каждые 6 – 9 лет. У взрослых инфекция приобретает более тяжёлое течение с развитием артритов, энцефалитов и тромбоцитопении.

У инфицированных беременных вирус в период вирусемии проходит через плаценту и проникает в ткани плода, приводя к его гибели или тяжёлым уродствам. Тератогенное действие вируса, характеризующееся триадой симптомов – пороки сердца, поражение органов зрения, органов слуха, – обусловлено подавлением митотической активности клеток плода, цитодеструктивным действием вируса, поражением сосудов плаценты.

Методы микробиологической диагностики. Обычно клинический диагноз коревой краснухи не требует лабораторного подтверждения. Если же в этом возникает необходимость, то используют серологическое и вирусологическое исследования.

Материалами для вирусологического исследования служат отделяемое носоглотки и кровь (до появления сыпи), кровь, моча и фекалии (после появления сыпи), которыми заражают перевиваемые культуры клеток почек кролика, где легко выявляется цитопатическое действие вируса. Через 5–7 дней в культуре ткани образуются очаги дегенерации, а также многоядерные гигантские клетки с цитоплазматическими включениями.

Для идентификации выделенного в ходе *вирусологического исследования* вируса краснухи могут быть использованы методы иммунофлюоресценции, реакция торможения гемагглютинации, реакция нейтрализации вируса.

Серологическая диагностика краснухи заключается в обнаружении вирусспецифических антител. Используют реакцию торможения гемагглютинации, реакцию нейтрализации, иммуноферментного и радиоиммунного анализа для выявления нарастания титра антител в парных сыворотках больного.

Профилактика. После перенесённой инфекции формируется стойкий пожизненный иммунитет.

Специфическая профилактика. Противопоказанием к вакцинации у женщин детородного возраста является беременность. Плановая иммунопрофилактика для создания активного имму-

нитета проводится с трёхмесячного возраста с использованием ассоциированных вакцин против кори, коревой краснухи и эпидемического паротита.

Профилактика живыми или убитыми вакцинами Рубивакс может проводиться выборочно девочкам 12–14 лет и женщинам детородного возраста.

IX. РАБДОВИРУСЫ

Рабдовирусы – вирусы бешенства, относятся к семейству вирусов с широким кругом естественных хозяев среди животных и только два вируса – представители этого семейства – патогенны для человека: вирус бешенства и вирус везикулярного стоматита. Но если везикулярный стоматит не представляет опасности для больного, то бешенство является одной из наиболее тяжелых летальных инфекций.

Бешенство (синонимы: *rabies*, *lyssa*, *hydrophobia* – водобоязнь) – опасная инфекционная болезнь человека и теплокровных животных, передающаяся при контакте с инфицированным животным (через укус, ослушение микроповреждений), сопровождающаяся необратимым поражением нейронов ЦНС и смертельным исходом.

Вирусная этиология бешенства доказана в 1903 г. П. Ремленже.

Таксономия. Возбудитель бешенства – РНК-содержащий вирус, относится к **семейству *Rhabdoviridae*** (от греч. *rhabdos* – прут), роду *Lyssavirus*.

Морфология и химический состав. Вирионы пулевидной формы, размером 170x70 нм, состоят из сердцевины, окруженной липопротеидной оболочкой с шипиками гликопротеидной природы. РНК – однонитчатая, минус-нитевая.

Культивирование. Вирус бешенства культивируют в мозговой ткани белых мышей, сирийских хомячков, кроликов, крыс, морских свинок, овец и др. У зараженных животных развиваются параличи конечностей, затем они погибают. Вирус бешенства может быть адаптирован к первичным и перевиваемым культурам клеток и куриным эмбрионам. В цитоплазме пораженных вирусом клеток головного мозга животных или культур ткани образуются специфические включения, впервые описанные В. Бабешем (1892 г.) и А. Негри (1903 г.) и названные тельцами Бабеша-Негри. Включения сферической или овальной формы, величиной от 0,5 до 20 мкм, хорошо окрашиваются кислыми красителями, содержат вирусный антиген, имеют диагностическое значение.

Антигенная структура. В составе вируса бешенства обнаружены сердцевинные и поверхностные антигены. Гликопротеидный антиген (белок шипиков) обладает выраженными иммуногенными свойствами.

Существуют два вируса бешенства, идентичных по антигенным свойствам: дикий, циркулирующий среди животных, патогенный для человека, названный уличным вирусом, и фиксированный вирус (*virus fixe*), полученный Л. Пастером в лабораторных условиях путем длительных пассажей уличного вируса через мозг кроликов. В связи с утратой последним вирулентности для человека Л. Пастер использовал этот вирус в качестве антирабической вакцины.

Резистентность. Вирус бешенства малоустойчив в окружающей среде: быстро погибает под действием солнечных и УФ-лучей, дезинфицирующих средств (фенол, хлорамин, формалин), чувствителен к жирорастворителям и щелочным растворам. Длительно сохраняется при низкой температуре (-20°C).

Эпидемиология. Бешенство известно с древних времен. Это типичная зоонозная инфекция, широко распространенная на земном шаре. Многочисленные очаги заболевания зарегистрированы в следующих регионах: Дальний Восток, Предуралье, Среднее Поволжье, Белоруссия, Западная Украина. Антигенные разновидности вируса встречаются в разных странах.

Основные резервуары вируса в природе – многочисленные виды мышевидных грызунов, в особенности рыжая полёвка, а также синантропные крысы. Участие кровососущих насекомых в передаче инфекции не доказано.

Все теплокровные животные могут болеть бешенством. Однако в силу особенностей механизма передачи циркуляцию вируса в природе обеспечивают дикие и домашние плотоядные животные, главным образом собаки, волки, лисицы, енотовидные собаки, шакалы, кошки. Природные очаги бешенства имеются повсеместно. Человек является случайным звеном в эпидемическом процессе и не принимает участия в циркуляции вируса в природе.

Вирус бешенства накапливается и выделяется через слюнные железы животного во время болезни и в последние дни инкубационного периода. Механизм передачи возбудителя – прямой контактный, в основном при укусах, в меньшей степени при обильном ослюнении кожи, имеющей царапины и ссадины, также возможно заражение при контакте с экскрементами инфицированных грызунов, при нахождении в пещерах, где обитают летучие мыши. Роль больного человека как источника инфекции минимальна, хотя слюна его и содержит вирус бешенства. Имеются лишь единичные случаи заражения человека человеком.

Патогенез и клиническая картина. Вирус бешенства обладает выраженными нейротропными свойствами. Из места внедрения вирусы по периферическим нервным волокнам поступают в клетки ЦНС, размножаются, а затем распространяются центробежно, поражая всю нервную систему, в том числе нервные узлы некоторых железистых органов, особенно слюнных желез. В последних вирусы размножаются и выделяются со слюной в окружающую среду.

Инкубационный период при бешенстве у человека варьирует от семи дней до одного года и более в зависимости от локализации и характера повреждения, а также вирулентности штамма. Наиболее короткая инкубация наблюдается при обширных укусах головы, шеи, лица и т. д.

В клинической картине бешенства у человека различают следующие периоды: продромальный (предвестников), возбуждения, параличей.

Начальный (депрессивный, продромальный период) продолжается 2–3 дня и характеризуется болями в области укуса и по ходу нервных путей. Заболевание начинается с появления чувства страха, тревоги, подавленности, развития бессонницы и общего недомогания.

Период возбуждения (2–3 дня). Больной сильно возбужден, агрессивен, наблюдаются мучительные судороги лицевых мышц, болезненные спазмы глоточной мускулатуры, обуславливающие гидрофобию (водобоязнь). Больной испытывает жажду, при этом не только при попытке пить, но даже при мысли о воде усилива-

ются боли, иногда до помрачения сознания. Судороги возникают также от движения воздуха, громкого звука, яркого света. Развиваются галлюцинации. Отмечаются высокая температура, обильное слюноотечение. Во время приступа больной может погибнуть от паралича дыхательного центра или сосудодвигательного центра.

Паралитический период («зловещее успокоение»). Сначала больной успокаивается, может пить и есть. Вскоре развиваются параличи мышц конечностей, лица, дыхательной мускулатуры, резко учащается сердцебиение, падает артериальное давление. Смерть наступает в течение одного–двух дней от паралича дыхательного центра или остановки сердца.

Иммунитет. Естественно приобретенный иммунитет не изучен, так как обычно заболевание заканчивается смертью. Искусственно приобретенный иммунитет возникает после проведения вакцинации людям, укушенным бешеными животными. Он обусловлен выработкой антител, сохраняющихся в течение года, образованием интерферона, а также клеточными факторами иммунитета.

Микробиологическая диагностика. Основная цель – возможно быстрее подтвердить или исключить опасность заражения бешенством человека, укушенного или ослюенного животным. Поэтому лабораторному исследованию подвергается аутопсийный материал (мозг, слюнные железы), полученный от животного, нанесшего укус. Домашних животных без признаков бешенства помещают на 10 дней на карантин. Иногда у них исследуют слюну.

Микробиологический диагноз бешенства у человека, как правило, устанавливается посмертно.

Исследуемые материалы: аммонов рог, мозжечок, продолговатый мозг, слюнные железы и др.

Для прижизненного диагноза исследуют слюну, спинномозговую жидкость, слезную жидкость, сыворотку крови, биоптаты кожи, отпечатки роговицы. Применяют вирусоскопический, иммунофлюоресцентный, вирусологический и серологический методы лабораторной диагностики. Вся работа с возбудителем бешенства и инфицированными животными проводится в рабо-

лаборатории с соблюдением режима, установленного для возбудителей особо опасных инфекций.

Вирусоскопический (микроскопический) метод диагностики. Применяется для постмортального исследования, заключается в выявлении в нейронах аммонова рога (где наблюдается наиболее высокая концентрация вируса), зрительных бугров, мозжечка и коры головного мозга, а также в нейронах спинного мозга и подчелюстных слюнных железах телец Бабеша-Негри: эти цитоплазматические включения, содержащие рибонуклеопротеид вируса, имеют овальную или округлую форму и размеры 1,0–15 мкм. Их можно обнаружить уже во время последних трех–четырёх дней инкубационного периода, используя окраску по Муромцеву, Туревичу или Манну.

Иммунофлюоресцентный метод занимает лишь несколько часов и является экспресс-методом. Применяется для прижизненной и посмертной диагностики бешенства: с помощью прямой иммунофлюоресценции возможно обнаружить антигены возбудителя и включения Бабеша-Негри в отпечатках роговицы, биоптатах кожи больного с места укуса, постмортально – в тканях мозга и подчелюстных желез. Для типирования вируса бешенства применяют моноклональные антитела.

Вирусологический метод. Вирус выделяют прижизненно из слюны, слезной и цереброспинальной жидкости путем интрацеребрального заражения новорожденных мышей. При наличии в исследуемом материале вирусов бешенства мышцы-сосунки гибнут через 6–7 дней. Для идентификации ставят реакцию нейтрализации на мышах с антирабическим и нормальным иммуноглобулином.

Серологический метод подтверждает бешенство в случае увеличения титра антирабических антител в четыре и более раз в парных сыворотках или в серии проб сыворотки в ИФА или РИА.

Профилактика экстренная – пострадавшему промывают рану водой с мылом, обрабатывают спиртом или препаратами йода. Края раны иссекают и в течение трех дней не зашивают.

Общие профилактические мероприятия по борьбе с бешенством направлены на выявление, изоляцию или уничтожение животных – возможных источников инфекции: бродячих собак, кошек и др. Большое значение имеет иммунизация антирабической вакциной служебных и домашних собак. Животное, покусавшее людей или животных, необходимо наблюдать в течение 10 дней.

Специфическая профилактика и лечение. Основана на экстренной вакцинации людей, укушенных, ослоненных, оцарапанных любимыми животными, а также тех лиц, которые участвовали в снятии шкур, разделке туш и вскрытии павших от бешенства или больных животных. Обязательно должна проводиться ежегодная профилактическая вакцинация домашних животных, в первую очередь собак, кошек.

Первую вакцину против бешенства получил Л. Пастер из фиксированного вируса бешенства. Последовательно пассируя уличный вирус бешенства через мозг кролика, ему удалось (на 133 пассаже-заражении от кролика к кролику) снизить первоначальный инкубационный период с 15–20 дней до семи дней. В последующем инкубационный период не изменялся. Для большего снижения вирулентности полученного вируса Л. Пастер высушивал инфицированный мозг над едким калием. Полученный вирус с постоянным инкубационным периодом, утратившим вирулентность для других видов животных и способность образовывать внутрицитоплазматические включения, Л. Пастер назвал *фиксированным* в отличие от *уличного*. Первая вакцинация была проведена в 1885 г. мальчику, укушенному бешеной собакой.

В настоящее время для специфической профилактики применяют инактивированную ультрафиолетовыми или гамма-лучами культуральную вакцину. Например, такие вакцины, как «КОКАВ» (Россия), «Рабинур» (Германия), в отличие от выращенных на мозге овец или крыс лишены побочных эффектов (в виде развития энцефалита, паралича в результате перекрестных реакций с антигенами нейронов), более иммуногенны и не требуют многократного введения. Вакцинировать необходимо начинать как можно раньше после укуса или ослонения больными или подозрительными на бешенство животными в 1-е, 3-и, 14-е и 28-е сутки.

Вакцину можно рассматривать как лечебно-профилактическое средство, так как специфические защитные реакции успевают развиться во время инкубационного периода. В тяжелых случаях применяют комбинированное введение антирабического иммуноглобулина и вакцины.

При появлении клинических симптомов спасти больных не удастся, поэтому проводят симптоматическое лечение для облегчения страданий больного.

Х. ВИРУС ВЕЗИКУЛЯРНОГО СТОМАТИТА

Везикулярный стоматит – вирусная инфекционная болезнь животных (домашний скот и др.), иногда поражающая человека и протекающая в виде гриппоподобной инфекции. Характеризуется везикулярными высыпаниями на слизистой оболочке рта, гортани, языка, кожи.

Структура и химический состав. Возбудитель – вирус из рода *Vesiculovirus*, семейства *Rhabdoviridae*. Вирион вируса имеет пулевидную форму, один конец закруглён, другой плоский. Размер – 80–180 нм. Геном представлен однонитевой нефрагментированной линейной минус-РНК, покрытой капсидной белковой оболочкой. Суперкапсидная оболочка содержит гликопротеиды и гликолипиды, имеет шиповидные образования гемагглютини-на. У вируса есть два иммунологически различных серотипа.

Вирусы *культивируют* в оболочках развивающегося куриного эмбриона; в культуре клеток почек новорождённых хомячков; в диплоидных клетках лёгких человека (индикация по ЦПД и бляшкообразованию).

Антигены: S-антиген представлен РНК и белком капсида; V-антиген – поверхностным гемагглютинином, расположенным на суперкапсиде.

Эпидемиология и патогенез. Источники инфекции: домашние и дикие млекопитающие (кабаны, крупный рогатый скот, свиньи, еноты, олени, антилопы) и хладнокровные (лягушки). Путь передачи: трансмиссивный – через укусы комаров.

Везикулярный стоматит напоминает гриппозную инфекцию. Инкубационный период – от одних до пяти суток. Заболевание начинается с внезапного подъема температуры, появления болей в суставах, мышцах, головной боли. На 3-й день от начала заболевания на слизистой оболочке ротовой полости, носа и губах образуются пузырьки (везикулы), которые сохраняются 10–15 дней и в последующем превращаются в эрозии. Лихорадка продолжается около недели, заканчивается полным выздоровлением. Прогноз благоприятный. Вирус индуцирует интенсивное образование интерферона и высокочувствителен к нему.

Микробиологическая диагностика. *Исследуемые материалы:* содержимое везикул, смывы, соскобы с поверхности эрозий.

Проводится *вирусологическое исследование* с индикацией по ЦПД и бляшкообразованию; с идентификацией вируса везикулярного стоматита по РИФ, РСК, ИФА.

Лечение: симптоматическое, обезболивающие и жаропонижающие препараты, витамины, полоскание антисептическими растворами.

Специфическая профилактика не разработана.

XI. ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 31

Тема: Природно-очаговые нейровирусные инфекции

План занятия:

1. Арбовирусы, классификация, структура, биологические свойства, заболевания, вызываемые ими.
2. Рабдовирусы, свойства, заболевания.
3. Правила забора материала при нейровирусных инфекциях. Методы микробиологической диагностики.
4. Биопрепараты, применяемые для диагностики, профилактики и лечения нейровирусных заболеваний.

Цель занятия:

1. Изучить биологические свойства арбовирусов и вирусов краснухи и бешенства.
2. Выработать четкое представление о патогенезе и микробиологической диагностике арбовирусных инфекций, краснухи и бешенства.
3. Изучить критерии подбора препаратов для идентификации, лечения, профилактики.

Учебно-целевые задачи:

Знать:

1. Классификацию, характеристику, биологические свойства возбудителей арбовирусных инфекций, краснухи и бешенства.
2. Клинику, патогенез, эпидемиологию, восприимчивость, иммунитет, механизмы передачи возбудителей.
3. Особенности забора материала при диагностике арбовирусных инфекций, краснухи и бешенства. Методы микробиологической диагностики.
4. Особенности профилактики, лечения указанных инфекций.
5. Препараты для диагностики, лечения и профилактики.

Уметь:

1. Составить схему вирусологического обследования пациентов с подозрением на арбовирусную инфекцию и бешенство.
2. Классифицировать препараты в соответствии с их назначением для диагностики, лечения и профилактики указанных инфекций.

Владеть:

1. Способами идентификации и дифференциации выделенных вирусов на культуре клеток и курином эмбрионе.
2. Интерпретацией результатов серологических реакций с целью диагностики арбовирусных инфекций и бешенства.
3. Методами подбора противовирусных и иммунологических препаратов для лечения и профилактики.

Демонстрация:

1. Тельца Бабеша-Негри при бешенстве.
2. Схемы диагностики арбовирусных инфекций и бешенства.
3. Вакцины против весенне-летнего энцефалита.
4. Антирабической вакцины и антирабического иммуноглобулина.

Самостоятельная работа:

1. Ознакомиться с инструкцией по применению антирабической вакцины и антирабического иммуноглобулина.

Контрольные вопросы:

1. Арбовирусные инфекции, почему они так называются?
2. Форма, ультраструктура, химический состав и основные биологические свойства арбовирусов.
3. Природный резервуар арбовирусов.
4. Способы заражения и патогенез весенне-летнего клещевого энцефалита.
5. Микробиологические методы лабораторной диагностики клещевых энцефалитов.
6. Диагностические, лечебные и профилактические препараты, применяемые при энцефалитах.
7. Вирус японского энцефалита, способы заражения, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.
8. Вирус омской геморрагической лихорадки, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.
9. Вирус крымской геморрагической лихорадки, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.
10. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

11. Вирус желтой лихорадки, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

12. Вирус лихорадки денге, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

13. Вирус краснухи, его свойства, тератогенное действие, патогенез заболевания, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

14. Форма, величина, ультраструктура, тип симметрии вируса бешенства. Биологические свойства вируса.

15. Природный резервуар, способы заражения и патогенез бешенства, основные признаки заболевания.

16. Методы индикации вируса бешенства в исследуемом материале.

17. Микробиологическая диагностика и специфическая профилактика бешенства.

18. Кто и как получил фиксированный вирус бешенства, его свойства и для чего применяется?

19. Отличительные признаки фиксированного вируса бешенства от уличного.

20. Принципы активной и пассивной профилактики бешенства, механизмы образования поствакцинального иммунитета.

ХII. ГЕРПЕСВИРУСЫ

Герпесвирусы (от греч. *herpes* – ползучий) представлены группой крупных ДНК-геномных вирусов, включенных в семейство *Herpesviridae*. Вызывают заразные болезни с разнообразными клиническими проявлениями. Семейство *Herpesviridae* содержит 3 подсемейства, которые различаются по ряду признаков: структуре генома, тканевому тропизму, цитопатическому действию (ЦПД) на поражённую клетку и локализации латентной инфекции.

Морфология. Вирионы имеют овальную форму, диаметр – 140–210 мкм. В центральной части вириона находится ДНК, окруженная икосаэдрическим капсидом, состоящим из 162 капсомеров. Снаружи вирус окружает суперкапсид с гликопротеиновыми шипами, сформированными из внутреннего слоя ядерной мембраны клетки. Пространство между капсидом и суперкапсидом тегумент содержит вирусные белки и ферменты, необходимые для репликации. Геном – двунитевая линейная ДНК, состоящая из двух фрагментов – короткого и длинного.

Антигены. Гликопротеины суперкапсидной оболочки являются типоспецифическими антигенами, позволяющими дифференцировать отдельные серотипы вирусов герпеса в реакциях нейтрализации, иммунофлюоресценции, связывания комплекмента. Белки нуклеокапсида несут группоспецифические антигены. Их выявляют в реакциях преципитации в иммунодиффузии.

Культивирование. Вирусы герпеса культивируют в культурах клеток разного происхождения, при этом ЦПД у представителей семейства широко варьирует. Характерно образование гигантских многоядерных клеток. Некоторые серотипы репродуцируются в оболочках развивающегося куриного эмбриона.

Репродукция. После прикрепления к рецепторам клетки внешняя оболочка вириона сливается с клеточной мембраной. Освободившийся нуклеокапсид осуществляет доставку ДНК вируса в ядро клетки. Далее происходит транскрипция части вирусного генома с помощью клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы. Образовавшиеся и-РНК проникают в цитоплазму, где происходит

синтез (трансляция) ранних белков, обладающих регулирующей активностью, синтезируются ферменты ДНК-зависимая полимеразы и тимидинкиназа, участвующие в репликации геномной ДНК. Поздние структурные белки транспортируются в ядро, где образуются нуклеокапсиды. Формирование вируса заканчивается в процессе почкования через модифицированные участки ядерной мембраны, когда нуклеокапсид покрывается внешней оболочкой и выходит из клетки путем экзоцитоза или лизиса клетки.

Патогенез. Вирусы герпеса характеризуются полиорганным тропизмом. Общим в патогенезе всех инфекций, вызываемых вирусами герпеса, является их способность длительно персистировать в организме, обуславливая хронические и латентные формы инфекции с периодическими обострениями. При этом вирус может сохраняться в виде провируса, интегрированного в геном клетки. Некоторые вирусы герпеса передаются трансплацентарно, вызывая внутриутробную и неонатальную патологию.

Все представители *семейства Herpesviridae* обладают выраженным иммуносупрессивным действием, подавлением клеточных и гуморальных реакций иммунитета. Доказано формирование инфекционных комплексов с повреждающим ткани действием и развитие алергизации организма.

Иммунитет к возбудителю носит преимущественно клеточный характер, рецидивы заболевания могут возникать на фоне высоких титров противовирусных антител в сыворотке крови больных.

Современная систематика разделяет семейство *Herpesviridae* на 3 подсемейства *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae*, *Gammaherpesvirinae* (таблица 3).

Альфа-герпесвирусы проявляют высокую цитопатическую активность и патогенность для большого числа хозяев. Патогенные для человека виды включены в состав рода *Simplex* (вирус простого герпеса первого и второго типов – ВПГ-1, ВПГ-2) и *Varicella-Zoster-virus* (вирус герпеса 3-го типа – ветряной оспы и опоясывающего лишая). Для этой группы характерен быстрый рост. Репродукция вирусов осуществляется в эпителиальных клетках и сопровождается цитолитическим действием, в нейронах развивается латентная персистирующая инфекция.

Таблица 3 – Характеристика герпесвирусов человека (семейство *Herpesviridae*)

Подсемейство	Название вируса		Цито патология	Латентная инфекция	Заболевание
Alphaherpesvirinae	<i>Herpes simplex</i> – тип 1 (вирус простого герпеса)	ГВЧ-1	Цитоллиз эпители	В нейронах	Оральный герпес, энцефалит
		<i>Herpes simplex</i> – тип 2 (вирус простого герпеса)			
	<i>Varicella-Zoster-virus</i> (вирус ветряной оспы, опоясывающего герпеса)	ГВЧ-3			
Betaherpesvirinae	Цитомегаловирус		Цитомегалия	В моноцитах, лимфоцитах	Цитомегалия, рак предстательной железы
	<i>Herpes lymphotropic virus</i>	ГВЧ-6	Лимфо-пролиферативное действие	В Т-клетках	Экзантема младенцев, синдром хронической усталости
	Герпесвирус человека – тип 7	ГВЧ-7			
Gammaherpesvirinae	Вирус Эпштейна-Барра		Лимфо-пролиферативное действие	В лимфоидной ткани, В-клетках	Инфекционный мононуклеоз, лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома
	Герпесвирус человека – тип 8				

Морфология. Вирус герпеса (ВПГ-1 и ВПГ-2) является крупным сложным ДНК-геномным вирусом сферической формы, диаметром 150–200 нм. Геном – линейная двунитевая ДНК, окруженная капсидом и суперкапсидом.

Культивирование. Вирусы простого герпеса культивируются в куриных эмбрионах и культурах клеток. При заражении куриного эмбриона на хорионаллантоисной оболочке вирус образует мелкие белые плотные узелки, в культурах клеток вызывает цитопатический эффект с образованием гигантских многоядерных клеток с внутриядерными включениями Каудри.

Антигенная структура. Вирус содержит ряд антигенов, связанных как с внутренними белками, так и с гликопротеинами суперкапсида, которые являются основными иммуногенами, индуцирующими выработку антител и клеточный иммунитет.

Резистентность. Вирус термолабилен, может выживать на поверхности предметов при комнатной температуре в течение нескольких часов, чувствителен к ультрафиолетовым лучам, обычным дезинфицирующим средствам, жирорастворителям.

Эпидемиология. Простой герпес – одна из самых распространенных инфекций, поражающих различные возрастные группы людей, чаще в осенне-зимний период. Отмечаются спорадические случаи заболевания, иногда небольшие вспышки в семьях, больницах, детских коллективах. Эпидемий не наблюдается. Источниками инфекции являются больные и вирусоносители. Механизмы передачи для ВПГ-1 – контактный и воздушно-капельный, для ВПГ-2 – половой и трансплацентарный.

Патогенез и клиническая картина. По клиническим проявлениям различают первичный и рецидивирующий герпес. Входные ворота для возбудителя при первичной герпетической инфекции – поврежденные участки кожи и слизистых оболочек рта, глаз, носа, мочеполового тракта, где вирусы репродуцируются. Затем по лимфатическим сосудам попадают в кровь и заносятся в различные органы и ткани. Вирус проникает в чувствительные нервные окончания и встраивается в геном нервных клеток, расположенных в ганглиях тройничного нерва для ВПГ-1 и крестцового – для ВПГ-2, и сохраняются в них в виде провируса. После

этого удалить вирус из организма невозможно, он остается с человеком на всю жизнь.

Инкубационный период при первичном герпесе составляет в среднем 6–7 дней. Заболевание начинается с жжения, зуда, покраснения, отека на ограниченных участках кожи и слизистых оболочек, позже на этом месте появляются пузырьковые высыпания, заполненные жидкостью. Иногда заболевание сопровождается повышением температуры тела и нарушением общего состояния. При подсыхании пузырьков рубцов не остается.

Первичный герпес у новорожденных протекает тяжело и нередко заканчивается смертью. Однако у большинства людей первичная инфекция остается нераспознанной, так как протекает бессимптомно.

После первичной инфекции (явной или бессимптомной) 70–90 % людей становятся пожизненными носителями вируса, который сохраняется в латентном состоянии в нервных клетках чувствительных ганглиев у носителей вирусов в результате переохлаждения, перегревания, интоксикации, различных инфекционных заболеваний, стрессов, нервно-психических расстройств. Для рецидивирующего герпеса характерны повторные высыпания на коже и слизистых оболочках, нередко в тех же местах. Наиболее частой локализацией рецидивирующего герпеса, вызванного ВПГ-1, являются губы, крылья носа, веки, полость рта (гингивит, стоматит), глаза (конъюнктивит, кератит, неврит зрительного нерва).

Предполагается, что ВПГ-1 является стимулирующим фактором развития болезни Альцгеймера, в подтверждение этого в мозге таких пациентов обнаружены бляшки, содержащие ДНК вируса простого герпеса.

ВПГ-2 поражает мочеполовую систему (генитальный герпес, цервицит, уретрит) и вызывает герпес новорожденных. Доказана роль ВПГ-2 в развитии рака шейки матки. Сравнительно редко встречаются генерализованные формы рецидивирующего герпеса, в частности, поражение нервной системы (энцефалиты, миелиты) и внутренних органов (гепатиты, пневмонии и др.).

Иммунитет после перенесённой первичной инфекции формируется клеточный и гуморальный с накоплением антитела класса IgM, а также местный иммунитет, обусловленный секреторными IgA на поверхности слизистых оболочек. Однако антитела не могут обеспечить защиту от последующих рецидивов инфекции, так как вирус персистирует в нейронах, куда гуморальным факторам защиты нет доступа, и при возникновении условий вновь возникает рецидив на фоне высокого уровня антител к вирусу герпеса. Основное значение в развитии рецидивирующего герпеса имеет состояние клеточного иммунитета.

Микробиологическая диагностика. *Материалами для исследования* служат содержимое герпетических пузырьков, слюна, соскобы с роговой оболочки глаза, кровь, ликвор, моча, сперма. В летальных случаях – ткань головного и спинного мозга.

Вирусоскопический метод. Экспресс-диагностика заключается в обнаружении гигантских многоядерных клеток с внутриядерными включениями Каудри в мазках-отпечатках из высыпаний, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Для дифференциации от других вирусов, принадлежащих к этому семейству, используют РИФ, ИФА, РИА, ПЦР.

Вирусологический метод. Выделение вируса проводят на куриных эмбрионах, в культуре клеток Hela, Нер-2, фибробластов эмбриона человека. Вирусы герпеса вызывают ЦПД в культурах клеток через 2 – 4 дня после заражения в виде синцития с включениями Каудри. Идентификация выделенного вируса осуществляется с помощью реакции нейтрализации со специфическими сыворотками с высоким титром антител к вирусам простого герпеса, а в куриных эмбрионах – по образованию на хорионаллантоисной оболочке бляшек.

Экспериментальный метод применяют редко. При заражении мозга белых мышей развивается специфический энцефалит, при заражении роговицы глаза кроликов – герпетический кератит.

Серологический метод. Выявление антител в сыворотке крови больных проводится с помощью серологических реакций РНГА, РСК, ИФА, РИА. Антитела появляются на 4–7-й день после начала развития инфекции и достигают максимального титра

через 2–4 недели, поэтому серологические реакции ставят с парными сыворотками. Первая проба берется в начале заболевания, а вторая – через две недели после первой. Диагноз считают подтвержденным при четырехкратном возрастании титров специфических антигерпетических антител.

Иммунофлюоресцентный метод (РИФ) с моноклональными антителами против вируса герпеса применяют для быстрого обнаружения вирусных антигенов в инфицированных клетках и определения серотипа вируса.

Молекулярно-генетический метод позволяет выявить в исследуемом материале ДНК вируса герпеса с помощью ПЦР.

Кожная аллергическая проба ставится с герпетическим антигеном, вводимым внутрикожно.

Лечение. В остром периоде с лечебной целью используют химиотерапевтические препараты ацикловир, ганцикловир, ви-зарабин, алпизарин, бонафтон и др. Высоким терапевтическим эффектом обладают препараты альфа- и бета-интерферона, индукторы интерферонов, иммуномодуляторы, а также донорский противогерпетический иммуноглобулин и инактивированная герпетическая вакцина.

Специфическая профилактика. Для профилактики рецидивирующих форм герпеса применяют многократные введения инактивированной культуральной герпетической вакцины. Вакцинация, а также применение иммуномодуляторов, например ре-аферона, удлиняют межрецидивный период и облегчают течение последующих рецидивов.

12.1. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса вызывает два типа заболеваний – ветряную оспу *varicella* и опоясывающий герпес (синоним опоясывающий лишай) *zoster*. Первичная инфекция протекает как ветряная оспа, а ее рецидив – как опоясывающий герпес (лишай). Возбудитель открыт бразильским врачом Э. Арагао в 1911 г. и получил название *Varicella-Zoster virus* (VZV).

VZV относится к **семейству Herpesviridae**, роду *Varicellavirus*. Структура VZV и биологические свойства аналогичны вирусу простого герпеса.

Ветряная оспа (*Varicella*) поражает в основном детей, протекает с лихорадкой, интоксикацией, сыпью в виде везикул с прозрачным содержимым.

Эпидемиология. Ветряная оспа распространена повсеместно, восприимчивость к возбудителю очень высокая. Эпидемические вспышки отмечаются в осенне-зимний период, главным образом в организованных коллективах среди детей дошкольного возраста. Могут болеть и взрослые. Источник инфекции – только больной человек, который начинает выделять вирус за сутки до высыпаний и продолжает – до пятого дня после появления последних высыпаний. Механизм передачи возбудителя – аэрогенный, реже – контактный. Выделение вирусов в окружающую среду происходит при нарушении целостности пузырьковых высыпаний. Доказана и вертикальная –трансплацентарная – передача от матери к плоду, что является риском возникновения у ребенка врождённых дефектов.

Патогенез. Первичная репродукция происходит в эпителии слизистых оболочек верхних дыхательных путей с образованием пузырьковой сыпи, в содержимом которых высока концентрация вируса, легко передающегося при кашле, чихании, разговоре. Со слизистых оболочек дыхательных путей вирус по лимфатическим путям попадает в кровоток, разносится по всему организму и вследствие своей дерматотропности накапливается в коже, вызывает поражение эпителия. После первичной инфекции вирус длительно персистирует в нервных клетках, обуславливая латентную инфекцию.

Клиническая картина. Инкубационный период при ветряной оспе –11–23 дня. Болезнь характеризуется лихорадкой, появлением папуло-везикулярной сыпи на коже туловища, шеи, лица, конечностей, полости рта. Сыпь похожа на высыпания при натуральной оспе (отсюда произошло название болезни).

Образовавшиеся пузырьки через 1–3 дня лопаются и подсыхают. После отпадения корок рубцы не остаются (в отличие от натуральной оспы). У детей в возрасте от двух месяцев до одного года и у взрослых ветряная оспа протекает тяжело, с развитием иммунодефицита; как осложнения возможны пневмонии, гепати-

ты, энцефалиты, отиты, пиодермии и др. Летальность при ветряной оспе составляет 0,01–0,05 %.

Иммунитет. После перенесенной ветряной оспы формируется пожизненный иммунитет, который, однако, не препятствует сохранению вируса в организме и возникновению у некоторых людей рецидивов в виде опоясывающего герпеса.

Опоясывающий герпес (*Herpes Zoster*) обусловлен реактивацией латентного вируса, находящегося в организме после перенесенной в детстве ветряной оспы. При снижении реактивности организма вследствие какого-либо неблагоприятного воздействия (переохлаждение, перегревание, стресс, травмы и др.) возникает рецидив, характеризующийся болью по ходу нервов, появлением высыпаний в виде сгруппированных пузырьков вокруг туловища по ходу пораженных, чаще межреберных нервов. Возможно развитие одностороннего процесса с поражением кожи головы, шеи, грудной клетки, но могут также располагаться по ходу любого чувствительного нерва. При этом увеличиваются лимфатические узлы, повышается температура, ухудшается общее состояние. Мучительные невралгические боли могут держаться до нескольких месяцев.

Иммунитет. После перенесенной инфекции формируется клеточный и гуморальный иммунитет. Антитела не могут обеспечить защиту от рецидивов инфекции, так как вирус персистирует в нейронах, куда антителам нет доступа.

Микробиологическая диагностика. Применяют те же методы диагностики, что и при простом герпесе.

Лечение герпетических инфекций. Высоким терапевтическим эффектом обладают специфический донорский иммуноглобулин и инактивированная герпетическая вакцина. Применяются противовирусные препараты ацикловир, ганцикловир, ампираин и другие, препараты альфа- и бета-интерферонов, индукторы интерферонов, иммуномодуляторы. Однако способов гарантированного излечения нет. Перечисленные препараты при регулярном приеме способны подавлять симптомы заражения вирусом.

Элементы сыпи смазывают 1–2 %-м раствором перманганата калия или 1–2 %-м водным или спиртовым раствором бриллиантового зеленого.

Бета-герпесвирусы. Патогенные для человека виды включены в состав рода *Cytomegalovirus* (вирус герпеса 5-го типа), впервые выделенного К. Смитом (1956 г.).

12.2. Вирус цитомегалии или цитомегаловирус – ЦМВ (от греч. *cytos* – клетка, *megas* – большой) – вызывает инфекцию человека, характеризующуюся поражением многих органов и тканей с образованием в них гигантских клеток с внутриядерными включениями, протекающую в различных формах – от бессимптомного носительства до тяжелой генерализованной формы, заканчивающейся летальным исходом.

Возбудитель цитомегалии – ДНК-геномный вирус. Морфология и химический состав типичны для семейства герпесвирусов, но имеется ряд отличий:

- у ЦМВ самый большой геном среди герпесвирусов;
- наиболее продолжительный цикл репродукции (от 48–96 часов);
- при культивировании в культуре клеток фибробластов вирус оказывает характерное ЦПД, проявляющееся образованием цитомегалических клеток с внутриядерными включениями, представляющими собой компактные скопления незрелых вирионов;
- ЦМВ по сравнению с другими вирусами менее чувствителен к химиопрепаратам.

Культивирование: наиболее чувствительными культурами являются фибробласты эмбриона человека, диплоидные клетки легких человека (ДКЛЧ). Вирус вызывает характерное цитопатическое действие, заключающееся в возникновении гигантских клеток вследствие увеличения цитоплазмы и ядра. В клетках содержатся внутриядерные включения размером 25 – 40 мкм, состоящие из вирусных частиц и ядерного хроматина, окруженные светлым ободком, – симптом «совиный глаз».

Резистентность. Вирус термолабилен (при 50°C сохраняет жизнеспособность в течение 30 минут); инактивируется под воздействием ультрафиолетовых лучей, ультразвука, ионизирующего излучения, этанола, эфира, различных детергентов. Хорошо сохраняется при –70°C и в высушенном состоянии.

Эпидемиология. Цитомегаловирусная инфекция широко распространена в разных странах. Более 60 % населения имеют антитела против цитомегаловируса.

Источник инфекции – человек больной острой или латентной формой. Механизм передачи вируса контактно-бытовой, воздушно-капельный, фекально-оральный, половой, вертикальный, парентеральный – при переливании крови или её препаратов, трансплантации органов. Наиболее опасна вертикальная передача вируса от матери к плоду – внутриутробное заражение (может привести к рождению ребенка с врожденной цитомегалией), а также при прохождении плода через родовые пути; или после рождения – через грудное молоко.

Входными воротами инфекции являются: кожа, слизистые оболочки дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, половых органов, плацента.

Развитие инфекции связано с длительным носительством вируса, который в латентном состоянии сохраняется в слюнных железах, почках и других органах. Заражение здорового человека происходит через слюну, кровь, мочу, сперму, грудное молоко и др.

Патогенез. ЦМВ способен поражать все органы и ткани, вызывая бессимптомное носительство либо клинически выраженное заболевание. Болезнь развивается в результате первичного инфицирования цитомегаловирусом, но чаще активацией латентного персистирования, происходящего при нарушении иммунитета, множественной гемотрансфузии, беременности. ЦМВ вызывает разнообразные патологические проявления: латентную инфекцию в почках и слюнных железах, иммунодефицит, нарушение зрения, слуха, умственной деятельности, пневмонию, гепатит. ЦМВ-инфекция может осложнять течение ряда сопутствующих заболеваний.

Наиболее опасна вертикальная передача вируса от матери плоду. На ранних сроках беременности плод часто погибает или у него развиваются различные пороки вследствие тератогенного действия. Развиваются ЦМВ-микроцефалия, гидроцефалия, гипоплазия легких, пороки сердца и аорты, аномалии в строении почек и др.

При подостром и хроническом течении врожденной цитомегалии дети отстают в физическом и умственном развитии, возможны патология различных внутренних органов, развитие глухоты, поражения глаз и центральной нервной системы со снижением интеллекта, двигательными и другими неврологическими симптомами.

Иммунитет. В процессе ЦМВ-инфекции формируется клеточный и гуморальный иммунитет, который ограничивает распространение возбудителя по организму, но не уничтожает персистирующий внутриклеточный вирус.

Микробиологическая диагностика ЦМВ-инфекции основана на цитоскопических, вирусологических, серологических, молекулярно-генетических методах.

Материалы для исследований – центрифугат мочи, слюна, ликвор, кровь, грудное молоко, биоптаты различных органов и секционный материал.

При *микроскопии мазков*, окрашенных по Романовскому-Гимзе, выявляют гигантские клетки, содержащие темные тельца, окруженные светлой полоской «совиные глаза».

Культивирование: выделение ЦМВ проводят заражением культур фибробластов и диплоидных культур легких человека. Идентифицируют с помощью ПЦР, а также в РИФ и ИФА с использованием моноклональных антител.

Серодиагностика: определение циркулирующих антител проводят с помощью РСК, РНГА, РН и ИФА с парными сыворотками. ИФА позволяет определить наличие IgM и IgG. Присутствие только IgM указывает на первичную острую ЦМВ-инфекцию. Обнаружение IgM и IgG – свидетельство рецидива и обострения болезни, а если выявляют только IgM, – это латентная хроническая инфекция.

Вирус-специфическую ДНК в исследуемом материале определяют с помощью ПЦР.

Лечение. Ни один из современных методов лечения не позволяет полностью избавиться от цитомегаловируса, который при попадании в организм человека остается в нём навсегда. Поэтому цель лечения ЦМВ-инфекции состоит в устранении симптомов

острой формы заболевания и удерживании цитомегаловируса в пассивном, неактивном состоянии.

Рекомендуется проводить комбинированное лечение, сочетая различные типы препаратов: иммуноглобулин, интерферон, индукторы интерферона, иммуномодуляторы и противовирусные химиопрепараты: ацикловир, ганцикловир, фоскарнет и др.

Профилактика. Имеющиеся живые и убитые вакцины не получили практического применения.

12.3. Гамма-герпесвирусы (Эпштейна-Барра). К данному подсемейству относится вирус 4-го типа, впервые выделенный вирусологами английским – М. Эпштейном и канадским – И. Барром из биоптатов пациентов с лимфомой Беркитта (1964 г.).

По основным свойствам вирус Эпштейна-Барра (ВЭБ) не отличается от других представителей семейства вирусов герпеса, однако уникален по своей способности вызывать не цитолиз, а размножение пораженных клеток. Обладает онкогенностью и может длительно персистировать в пораженных клетках. Инфицирование ВЭБ регистрируют повсеместно, специфические антитела выявляют у 90 % лиц старше 40 лет.

Источник инфекции – человек. Основной путь передачи – воздушно-капельный, реже трансмиссивный или половой. В раннем возрасте инфекцию сопровождают стертые проявления либо она бывает вообще бессимптомной. Первичное инфицирование в подростковом или более старшем возрасте может вызывать заболевание, известное как инфекционный мононуклеоз.

Патогенез поражений. При инфекционном мононуклеозе вирус размножается в лимфатической ткани верхних отделов дыхательных путей с развитием местных воспалительных реакций. Возбудитель может гематогенно диссеминировать в периферические лимфатические узлы, селезенку, печень и другие органы, формируя лимфоидные инфильтраты. Заражение макрофагов и лимфоидных клеток приводит к появлению крупных мононуклеарных клеток и вызывает поликлональную активацию В-лимфоцитов. Подобные поражения типичны у большинства лиц. Реже наблюдают развитие злокачественных трансформаций, связанных с нарушениями дифференцирования В-клеток.

Клинические проявления. Продолжительность инкубационного периода инфекционного мононуклеоза составляет 30–50 суток у взрослых и 10–40 суток у детей. Заболевание проявляется лихорадкой, общей разбитостью, ангинозными поражениями и лимфангоитами с гепато-спленомегалией. Очень редко наблюдают поражения в форме гепатита или менингита. Развитие злокачественных превращений инфицированных клеток дает основание предполагать участие вируса Эпштейна-Барра как канцерогена в развитии болезни злокачественного роста, таких как лимфомы Беркитта, назофарингиальной карциномы, а также саркомы Капоши у пациентов со СПИДом.

12.4. Злокачественная лимфома Беркитта часто встречается среди местного населения в определенных районах Восточной и Центральной Африки; **назофарингиальная карцинома** поражает в основном мужское население в некоторых районах Китая. Клетки опухолей таких больных всегда содержат признаки ВЭБ-инфекции. В ядрах клеток выявляются множественные копии кольцевой ДНК, находящихся в плазмидной форме. Единичные копии генома ВЭБ могут быть интегрированы с клеточным геном, что обуславливает синтез вирусспецифических белков и реже полных инфекционных вирионов.

Вакцины против ВЭБ-инфекции для профилактики инфекционного мононуклеоза и онкологических заболеваний, ассоциированных с ВЭБ, пока не существует, хотя работы по ее созданию ведутся с использованием генно-инженерных методов.

12.5. Герпес-вирус 8-го типа *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus* (KSHV), или герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши, относится к подсемейству гамма-герпесвирусы. Саркома Капоши – ангиосаркома – является наиболее частым (в 40–60 %) проявлением ВИЧ-инфекции. При саркоме Капоши в 100 % случаев обнаруживают KSHV. Заболевание развивается на фоне ослабления клеточного иммунитета.

ХІІІ. ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ

Вирус натуральной оспы вызывает особо опасное высококонтагиозное инфекционное заболевание, характеризующееся общим поражением организма и обильной сыпью на коже и слизистых оболочках. В прошлом отмечались эпидемии и пандемии заболевания, сопровождающиеся высокой летальностью.

В 1892 г. Г. Гварниери, исследуя под микроскопом срезы роговицы зараженного кролика, обнаружил специфические включения, впоследствии названные тельцами Гварниери, представляющие скопления вирусов натуральной оспы. Вирусы оспы впервые обнаружил в световом микроскопе Е. Пашен (1906 г.).

Таксономия. Вирус натуральной оспы – ДНК-содержащий, относится к *семейству Poxviridae* (от англ. *pox* – язва), роду *Orthopoxvirus*.

Морфология, химический состав, антигенная структура. Вирус натуральной оспы является самым крупным вирусом размером 250–400 нм, при электронной микроскопии имеет кирпичеобразную форму с закругленными углами. Вирион состоит из сердцевины, имеющей форму гантели, двух боковых тел, расположенных по обе стороны от сердцевины, трехслойной наружной оболочки. Вирус содержит линейную двунигчатую ДНК, более 30 структурных белков, включая ферменты, а также липиды и углеводы.

В составе вируса обнаружено несколько антигенов: нуклеопротеидный, растворимые и гемагглютинин. Вирус натуральной оспы имеет общие антигены с вирусом осповакцины (коровьей оспы).

Культивирование. Вирусы хорошо размножаются в куриных эмбрионах, образуя белые плотные бляшки на хорионаллантоисной оболочке. Репродукция вируса в культуре клеток сопровождается цитопатическим эффектом и образованием характерных цитоплазматических включений (тельца Гварниери), имеющих диагностическое значение.

Резистентность. Вирусы оспы обладают высокой устойчивостью в окружающей среде. На различных предметах при

комнатной температуре сохраняют инфекционную активность в течение нескольких недель и месяцев, не чувствительны к эфиру и другим жирорастворителям. При температуре 100°C вирусы погибают моментально, при 60°C – в течение 15 минут, при обработке дезинфицирующим раствором (фенол, хлорамин) – в течение нескольких часов. Длительно сохраняются в 50%-м растворе глицерина, в лиофилизированном состоянии и при низких температурах.

Восприимчивость животных. Заболевание, сходное по клиническим проявлениям с болезнью человека, можно воспроизвести только у обезьян. Для большинства лабораторных животных вирус оспы малопатогенен.

Эпидемиология. Натуральная оспа известна с глубокой древности. В XVII–XVIII вв. в Европе оспой ежегодно болело около 10 млн человек, из них умирало около 1,5 млн. Оспа являлась также главной причиной слепоты. На основании высокой контагиозности, тяжести течения и значительной летальности натуральная оспа относится к особо опасным карантинным инфекциям.

Источником инфекции является больной человек, который заразен в течение всего периода болезни. Вирус передается воздушно-капельным и воздушно-пылевым путем. Возможен контактно-бытовой механизм передачи – через поврежденные кожные покровы.

В начале 20-х годов XX столетия в результате применения оспенной вакцины удалось ликвидировать натуральную оспу в Европе, Северной Америке, а также в СССР (1936 г.). Советские учёные В.М. Жданов, М.А. Морозов и др. обосновали возможность осуществления глобальной ликвидации оспы. В 1958 г. по предложению СССР Всемирная организация здравоохранения приняла резолюцию и разработала Программу по ликвидации оспы во всем мире, которая была успешно выполнена благодаря глобальной противооспенной вакцинации людей. В 1977 г. в Сомали был зарегистрирован последний случай оспы в мире. Таким образом, оспа исчезла как нозологическая форма. Возбудитель натуральной оспы по решению ВОЗ хранится в специальных лабораториях США и России.

Патогенез и клиническая картина. Вирус оспы проникает в организм через слизистую оболочку дыхательных путей, реже – через поврежденную кожу. Размножившись в регионарных лимфатических узлах, вирусы попадают в кровь, обуславливая кратковременную первичную вирусемию. Дальнейшее размножение вирусов происходит в лимфоидной ткани селезенки, лимфатических узлов, сопровождается повторным массивным выходом вирусов в кровь и поражением различных систем организма, а также эпидермиса кожи, так как вирус обладает выраженным дерматотропным свойством.

Инкубационный период составляет 8–18 дней. Заболевание начинается остро, характеризуется высокой температурой, головной и поясничной болью, появлением сыпи. Для высыпаний характерна последовательность превращения: из макулы (пятна) в папулу (узелок), затем в везикулу (пузырек) и пустулу (гнойничок), которые подсыхают с образованием корок. После отпадения корок на коже остаются рубцы (рябины).

По тяжести течения различают тяжелую форму – «чёрная» и сливная оспа со 100%-й летальностью, среднюю – с летальностью 20–40 % и легкую – с летальностью 1–2 %. К числу легких форм натуральной оспы относится вариолоид – оспа привитых, которая характеризуется отсутствием лихорадки, малым количеством оспенных элементов, полным отсутствием пустул или сыпи.

Иммунитет. У переболевших людей формируется стойкий пожизненный иммунитет, обусловленный выработкой антител, интерферона, а также клеточными факторами иммунитета. Прочный иммунитет возникает также в результате вакцинации.

Микробиологическая диагностика. Работа с вирусом натуральной оспы проводится в строго режимных условиях по правилам, предусмотренным для особо опасных инфекций.

Материалы для исследования: содержимое элементов сыпи на коже и слизистых оболочках, отделяемое носоглотки, кровь, в летальных случаях – кусочки пораженной кожи, легкого, селезенки, кровь.

Экспресс-диагностика натуральной оспы включает обнаружение:

- вирусных частиц под электронным микроскопом;
- телец Гварниери в пораженных клетках;
- вирусного антигена с помощью РИФ, РСК, РПГА, ИФА и других специфических реакций.

Выделение вируса проводят в куриных эмбрионах или клеточных культурах. Идентифицируют вирусы, выделенные из куриного эмбриона, с помощью РН на куриных эмбрионах, РСК или РТГА. Вирус, выделенный на культуре клеток, обладает гемадсорбирующей активностью по отношению к эритроцитам кур, поэтому для его идентификации используют реакцию торможения гемадсорбции и РИФ.

Серологическую диагностику осуществляют с помощью РТГА, РСК, РН в куриных эмбрионах и на культуре клеток.

Специфическая профилактика и лечение. Живые оспенные вакцины готовят накожным заражением телят или куриных эмбрионов вирусом вакцины (осповакцины). Повсеместная вакцинация населения привела к ликвидации натуральной оспы на земном шаре и отмене с 1980 г. обязательного оспопрививания. Поэтому оспенные вакцины необходимо использовать только по эпидемическим показаниям с целью экстренной массовой профилактики. Методы введения вакцин – накожно или через рот (таблетированная форма). После вакцинации формируется прочный иммунитет.

Для лечения натуральной оспы, помимо симптоматической терапии, ранее применяли химиотерапевтический препарат – метисазон.

XIV. ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 32

Темы: Вирусы герпеса. Вирус натуральной оспы

План занятий:

1. Вирусы герпеса, натуральной оспы: классификация, свойства. Заболевания, вызываемые этими вирусами.
2. Принципы забора материала при герпетических инфекциях и натуральной оспе.
3. Методы микробиологической диагностики герпетических инфекций и натуральной оспы.
4. Биопрепараты, применяемые для диагностики, профилактики и лечения герпетических инфекций и натуральной оспы.

Цель занятия:

1. Изучить биологические свойства возбудителей герпетических инфекций и натуральной оспы.
2. Выработать чёткое представление о патогенезе и лабораторной диагностике герпетических инфекций и натуральной оспы.
3. Изучить критерии подбора препаратов для идентификации, лечения и профилактики герпетических инфекций и натуральной оспы.

Учебно-целевые задачи:

Знать:

1. Классификацию, характеристику биологических свойств возбудителей герпетических инфекций и натуральной оспы.
2. Клинику, патогенез, эпидемиологию, восприимчивость, иммунитет, механизмы передачи возбудителей герпетических инфекций и натуральной оспы.
3. Методы микробиологической диагностики герпетических инфекций и натуральной оспы.
4. Особенности профилактики и лечения герпетических инфекций и натуральной оспы.
5. Препараты для диагностики, лечения и профилактики указанных инфекций.

Уметь:

1. Определять алгоритм вирусологического обследования

пациентов с подозрением на герпетическую инфекцию и натуральную оспу.

2. Классифицировать препараты в соответствии с их назначением для указанных инфекций.

Владеть:

1. Способами оценки результатов микробиологических исследований с целью диагностики герпетических инфекций и натуральной оспы.

2. Способами идентификации и дифференциации выделенных вирусов в культуре клеток и курином эмбрионе.

3. Навыками постановки окончательного диагноза при герпетической инфекции.

4. Способами интерпретации результатов серологических реакций при обследовании перечисленных инфекций.

Демонстрация:

1. Схемы строения вируса герпеса и натуральной оспы.

2. Схемы вирусологической диагностики герпетических инфекций и натуральной оспы.

3. Схемы постановки ИФА при герпетической инфекции.

Самостоятельная работа:

1. Ознакомиться с инструкцией для постановки ИФА при герпетической инфекции.

2. Учесть результат ИФА с сывороткой, содержащей антитела против цитомегаловирусной инфекции.

Контрольные вопросы:

1. Герпесвирусы, классификация, характеристика, биологические свойства.

2. Последствия инфицирования людей герпетическими вирусами.

3. Особенность заболеваний, вызываемых герпетическими вирусами.

4. Источники и пути заражения вирусом простого герпеса 1-го и 2-го типов.

5. Назовите заболевания, вызываемые вирусом простого герпеса 1-го и 2-го типов.

6. Осложнения, возникающие при заболеваниях вирусами простого герпеса.

7. Назовите возбудителя ветряной оспы, патогенез заболевания, иммунитет, лечение, профилактику. С чем связаны рецидивы герпеса, где сохраняется вирус в межрецидивный период?

8. Назовите возбудителя опоясывающего лишая, когда возникает это заболевание, особенности патогенеза, лечение, меры профилактики.

9. Цитомегаловирус, источники, пути передачи инфекции, его роль в патологии человека, лечение, профилактика.

10. Вирус Эпштейна-Барра, какие злокачественные опухоли могут возникнуть у людей, инфицированных этим вирусом, роль вируса в этих процессах.

11. Особенности иммунитета при герпетических инфекциях.

12. Основные принципы микробиологической диагностики герпетических инфекций.

13. Назовите химиопрепараты и специфические препараты, применяемые для лечения и профилактики герпетических заболеваний.

14. Структура и химический состав вируса натуральной оспы.

15. Методы культивирования и резистентность вируса оспы.

16. Патогенез натуральной оспы.

17. Вирусоскопические, вирусологические, серологические и экспресс-методы диагностики оспы.

18. Дифференциация вирусов натуральной и ветряной оспы.

19. Природа иммунитета при оспе.

20. Лечение и профилактика оспы.

XV. ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

Во всем мире отмечается рост заболеваемости злокачественными опухолями. *Злокачественная опухоль* – это нарушение регулирующих механизмов клетки, сдерживающих скорость ее размножения. Нормальная клетка размножается до тех пор, пока это необходимо для нормальной функции органа, частицей которого она является. Ее размножение не бывает настолько интенсивным, чтобы «отнимать» место у других клеток, составляющих данный орган или ткань. Кроме того, клетки здоровых тканей никогда не заносятся током крови в другой участок организма, чтобы там продолжать размножение, заняв чужое место и нарушив тем самым функции того или иного органа. Опухоль возникает из одной клетки, которая после своего злокачественного перерождения приобретает способность неограниченно размножаться, подавлять другие клетки, переноситься кровью, обуславливая метастазы.

Опухоли могут развиваться под влиянием трех факторов, называемых канцерогенными, это:

- химические вещества (дым, копоть, табак, бензопирены);
- радиоактивное излучение;
- биологические агенты.

Канцерогенные факторы в результате дестабилизирующего воздействия на клеточный геном приводят к развитию опухолей. Среди биологических канцерогенов выделяют группу вирусов, которые представляют собой не инфекционные, а интеграционные агенты. Они встраиваются в ДНК хромосом клеточных ядер и реплицируются только вместе с хромосомой клетки-хозяина.

Впервые этиологическая роль вирусов была доказана в 1910 году на примере саркомы кур П. Раусом, который из саркомы приготовил фильтрат, ввел его здоровым курам и наблюдал развитие опухоли – саркомы. Предположения о вирусной этиологии опухолей высказывались и ранее, среди которых были лейкозы и саркомы кур, рак молочных желез мышей, лимфомы цыплят и др. В 1946 году советский вирусолог Л.А. Зильбер на основании своих данных и других исследователей изложил вирусно-ге-

нетическую теорию происхождения злокачественных новообразований, согласно которой геномы вирусов в виде провирусов встраиваются в хромосомный аппарат клетки, вызывая ее трансформацию (превращение) в опухолевую. Такие вирусы, проявляющие интеграционные свойства, известны как онкогенные (от греч. *onkos* – объемная масса). Основное свойство онкогенных вирусов – способность вызывать развитие опухолей у животных и трансформировать клетки в культуре тканей. В настоящее время выявлено более 200 онкогенных вирусов, входящих в состав различных семейств. Они способны вызывать развитие опухолей у различных позвоночных – птиц, животных и у беспозвоночных. Роль вирусов в онкогенезе у человека на протяжении многих лет оставалась предметом дискуссий. В настоящий момент получены веские доказательства того, что причиной возникновения некоторых типов опухолей человека являются вирусы. Большую их часть составляют ДНК-геномные вирусы, среди РНК-геномных вирусов эти свойства установлены только у ретровирусов (лат. *retro* – обратный, т. е. обратная направленность потока генетической информации не от ДНК к РНК, а, наоборот, от РНК к ДНК).

15.1. РНК-содержащие онковирусы

Семейство ретровирусы – *Retroviridae*. Ретровирусы содержат в своем составе уникальный фермент – обратную транскриптазу, с помощью которой синтезируется ДНК на матрице вирионной РНК. Обратный синтез играет важную роль в репродукции вирусов, обуславливая интеграцию ДНК провируса с клеточным геномом. Основные представители этого семейства относятся к опухолеродным вирусам подсемейства *Oncovirinae*. На основании морфологических свойств вирусы этого подсемейства разделяют на 4 рода, обозначенные буквами латинского алфавита А, В, С, D. Наибольшее значение имеют онковирусы типа С. Они распространены среди рыб, пресмыкающихся, птиц и млекопитающих, включая человека. Онковирусы типа В обнаружены у мышей и морских свинок, типа D – у обезьян, типа А – предшественники других вирусов.

Морфология. Онковирусы являются сложноорганизованными вирусами. Вирионы построены из сердцевины (нуклеокапсид) диаметром 70–80 нм, окруженной суперкапсидом липопротеиновой природы с гликопротеидными шипами. Капсид онковирусов построен по кубическому типу симметрии. В капсид заключены геном и фермент обратная транскриптаза (ревертаза).

Геном представлен двумя идентичными цепями плюс-РНК и содержит 3 структурных гена:

- *gag* кодирует синтез группспецифических антигенов капсида, основными из которых являются белки р-27, р-30;
- *pol* кодирует обратную транскриптазу;
- *env* кодирует гликопротеидные антигены шипов суперкапсида.

Структурные гены с двух сторон ограничены длинными концевыми повторами, получившими название LTR (*Long Terminal Repeat*), которые выполняют регуляторные функции, обеспечивая осуществление процессов репродукции.

Культивирование. Онкогенные вирусы культивируются в организме чувствительных лабораторных животных, а также в культуре клеток. Не культивируются на куриных эмбрионах.

Репродукция. Адсорбция онковирусов на специфических клеточных рецепторах обуславливается гликопротеидными шипами суперкапсида. Проникновение происходит путем эндоцитоза. В процессе проникновения в клетку сердцевина вириона освобождается от оболочки и начинает функционировать обратная транскриптаза, обеспечивающая образование из вирусной РНК ДНК-геномного провируса. Первоначально в цитоплазме клетки под контролем обратной транскриптазы происходит превращение вирусного РНК-генома в линейную ДНК. Благодаря наличию на LTR инвертированных повторов линейная двухцепочечная ДНК принимает кольцевую форму и интегрирует в ДНК клетки. После интеграции в хромосому клетки вирусная ДНК становится матрицей для синтеза вирусного РНК-генома и его белков. Формирование нуклеопротеидов из сердцевины происходит в результате процессов самосборки. Высвобождение вновь образованных

вирионов осуществляется путем почкования на клеточной мембране. После отделения от клетки происходит внеклеточное дозревание вирионов.

По характеру распространения среди хозяев выделяют эндогенные и экзогенные ретровирусы. *Эндогенные онковирусы* в виде ДНК-провирусов являются составными элементами генома всех клеток и тканей организма человека и животных и передаются потомству от одного поколения другому «вертикально», подобно обычным клеточным генам. Эндогенные онковирусы не являются онкогенными для представителей того вида животного, в клетках которого они находятся в виде постоянного генетического элемента, и способны заражать только клетки другого биологического вида. *Экзогенные онковирусы* распространяются «горизонтально» от одной особи к другой в форме вирионов. К экзогенным относят вирус саркомы Рауса, Т-лимфоцитарные вирусы человека.

По степени онкогенности различают вирусы высокоонкогенные и низкоонкогенные. Высокой онкогенностью обладают дефектные, лейкозные и саркоматозные вирусы; у недефектных вирусов онкогенный потенциал значительно ниже.

Высокоонкогенные вирусы способны трансформировать культивируемые клетки в течение нескольких дней и индуцировать опухоли у инфицированных животных с коротким латентным периодом в течение двух–трех дней. За злокачественную трансформацию отвечают входящие в состав вирусного генома вирусные онкогены (v-онк). Они не являются вирусспецифическими генами, а имеют своё происхождение от нормальных ядерных ДНК-структур, т. е. клеточных протоонкогенов. Захват клеточных протоонкогенов осуществляется в результате рекомбинационно-интегративных процессов, происходящих между клеточным и вирусным геномами. В этих процессах участвует вирусный фермент обратная транскриптаза, которая синтезирует ДНК-копии вирусной РНК. Таким образом, вирусные онкогены не участвуют в процессах размножения вирусов и, более того, часто делают вирус дефектным по репликации за счёт замены онкогенной части необходимых вирусных генов.

Низкоонкогенные ретровирусы в природных популяциях встречаются значительно чаще по сравнению с высокоонкогенными. Они не несут трансформирующих генов, т. е. онкогенов, не вызывают злокачественной трансформации при размножении в культуре клеток и способны индуцировать опухоли у части инфицированных животных лишь после длительного латентного периода от 4 до 12 месяцев. Это означает, чтостройка провирусной ДНК внутри или вблизи клеточного протоонкогена со временем превращает его в онкоген, главным образом благодаря повышению его активности и увеличению количества вырабатываемого продукта, ответственного за пролиферацию клеток.

Низкоонкогенные вирусы типа С вызывают развитие многочисленных опухолей у животных, птиц, и только два вида вызывают опухоли у человека HTLV-I и HTLV-II (от англ. *Human T-lymphotropic virus*). Т-лимфотропные вирусы человека получили свое название из-за избирательной тропности к субпопуляции CD4-лимфоцитов. HTLV стали первыми вирусами, участие которых в развитии опухолей человека было достоверно доказано. HTLV-I вызывает Т-клеточный лейкоз, лимфосаркому и миелопатию. HTLV-II – волосисто-клеточный лейкоз. Отличаются эти вирусы по группоспецифическим антигенам. Оба вируса передаются половым, трансфузионным и трансплацентарным путями. Заболевания, вызываемые этими вирусами, характеризуются медленным развитием (инкубационный период – до 20 лет с момента заражения) и летальным исходом.

Эпидемиология. Источником инфекции является человек, механизм передачи – контактный (половой, трансфузионный) и трансплацентарный. Восприимчивость не изучена.

Патогенез и течение инфекции напоминают таковые ВИЧ-инфекции, так как при обеих поражается иммунная система. В крови у больных обнаруживаются антитела к вирусам. Заболевания встречаются среди представителей населения определенных географических регионов. В Сахаре, на Антильских островах, островах юга Японии, а также в России (Восточная Сибирь, Дальний Восток).

Лабораторная диагностика. *Вирусологический метод* имеет ограниченное использование в практических лабораториях. Используется, преимущественно, ПЦР.

Специфическая профилактика и лечение не разработаны.

Вирусы типа С, вызывающие Т-клеточный лейкоз и лимфому у человека (HTLV-I и HTLV-II), обладают низким онкогенным потенциалом, однако эти вирусы передаются половым путём и парентерально, а поэтому число инфицированных лиц постепенно увеличивается. Человечество впервые поставлено перед очевидным и тревожным фактом горизонтального распространения ретровирусной онкогенной инфекции.

Механизм онкогенеза связан с функционированием онкогенов, содержащихся в геноме РНК-вирусов. Они не являются вирусспецифическими генами, а происходят от нормальных клеточных генов. В геноме любой клетки (человека, животного) содержатся онкогены, находящиеся в неактивном состоянии, называемые протоонкогенами. Захват клеточных протоонкогенов осуществляется в результате рекомбинационно-интеграционных процессов, происходящих между клеточным и вирусным геномами. Протоонкогены в составе вирусного генома превращаются в вирусные онкогены (v-onc), отвечающие за злокачественную трансформацию клетки. В настоящее время идентифицированы более 40 клеточных онкогенов (c-onc) и, соответственно, гомологичных вирусных онкогенов (v-onc), функционирование которых приводит к трансформации клетки.

Среди клеточных генов, играющих особую роль в канцерогенезе, открыты клеточные гены-супрессоры, подавляющие опухолевое перерождение нормальной клетки. Продукты этих клеток участвуют в контроле клеточного деления, препятствуя опухолевой трансформации клеток. В настоящее время известно более десятка таких генов. Если они нормально функционируют в клетке, тогда она становится устойчивой к различным факторам, вызывающим опухолевую трансформацию.

15.2. ДНК-содержащие онковирусы

ДНК-содержащие онкогенные вирусы обладают способностью трансформировать инфицированные клетки. Трансформированные клетки сохраняют один или несколько вирусных геномов, встроенных в геном клетки хозяина. В трансформированных клетках вирусная ДНК, интегрированная в клеточную, экспрессирует Т-антиген (*t-tumor* – опухоль), которому отводится существенная роль в осуществлении онкогенеза ДНК-содержащими вирусами. Т-антиген способствует интеграции вирусной ДНК в геном клетки. Для многих ДНК-содержащих онкогенных вирусов механизмы вызываемого ими онкогенеза схожи.

Семейство Papovaviridae

Название «папова» происходит от сочетания первых слогов наименования трех онкогенных вирусов – *Papillomavirus*, *Poliovirus* и вакулизирующий *Simian virus* (от англ. *SV-40* – обезьяний вирус-40).

Семейство Papillomaviridae

Название происходит от лат. *papilla* – сосок, *oma* – опухоль.

Вирусы папилломы. Насчитывается более 100 типов вирусов папилломы человека, большинство из которых вызывают образование доброкачественных бородавок, папиллом и кондилом в области половых органов, ануса, на слизистых оболочках дыхательных путей и пищеварительного тракта, а также на коже. Определенные типы вируса папилломы человека 2, 3, 8 способны вызывать рак кожи, злокачественные опухоли в полости рта, гортани. Типы 16,18 почти в 100 % случаев являются возбудителями рака шейки матки. В раковых клетках вирусная ДНК интегрирована в клеточную ДНК.

Семейство Polyomaviridae

Название вируса происходит от лат. *poli* – много, *oma* – опухоль. Полиомавирусы и SV-40 отличаются по антигенным свойствам, имеют одинаковый механизм онкогенеза и вызывают продуктивную инфекцию в клетках природных хозяев (мыши, кролики). При инфицировании этими вирусами новорождённых мышей, хомяков, крыс, кроликов и других возникают саркомы

или эпителиоидные опухоли в различных органах. В трансформированных клетках вирусная ДНК встраивается в ДНК чувствительных клеток животных.

У человека известны 2 вируса полиомы ВК и JC, получившие название по инициалам пациентов, от которых они были выделены. Вирус ВК изолирован из мочи больного с трансплантированной почкой, JC – из мозга человека, страдавшего прогрессирующей многоочаговой лейкоэнцефалопатией, характеризующейся демиелинизацией белого вещества мозга и встречающегося лишь у лиц с иммунодефицитами.

Когда была обнаружена опухолеродная активность у вирусов SV-40, это вызвало много волнений, так как ими были контаминированы культуры клеток почки макак-резус, в которых получали вакцинный штамм вируса полиомиелита. С полиомиелитной вакциной, содержащей инфекционный вирус SV-40, произошло массовое инфицирование детей, в том числе новорожденных, но вирус в человеческой популяции не закрепился и не вызвал каких-либо вредных последствий у привитых. Об этом свидетельствуют наблюдения за десятками миллионов лиц, которым в первые годы массовых прививок против полиомиелита был введен этот вирус. Тщательные наблюдения за этим контингентом, а также добровольцами, которые были инфицированы SV-40, показали, что вирус у человека вызывает бессимптомное носительство, стимулирует образование антител, но не вызывает опухолеродного эффекта. С начала 60-х годов вакцина изготавливается в клетках почки зеленой мартышки и полностью свободна от SV-40.

Семейство Adenoviridae

Аденовирусы широко распространены среди людей и животных, являясь возбудителями респираторных, кишечных и глазных заболеваний. Поэтому громкой сенсацией стало открытие онкогенности некоторых аденовирусов человека в опытах на хомячках. По онкогенности для этих животных аденовирусы человека были разделены на:

- высокоонкогенные аденовирусы, типы 12, 18, 31;
- низкоонкогенные типы 3, 7, 8, 11 и др.;
- неонкогенные типы 1, 2, 4, 5.

В трансформированных клетках вирусная ДНК, интегрированная в клеточную, экспрессирует Т-антиген. Было установлено, что аденовирусы, подобно полиомавирусам, не играют существенной роли в этиологии опухоли у своих естественных хозяев, в том числе у человека: попытки обнаружить аденовирусные ДНК и опухолевые антигены в каких-либо опухолях человека неизменно дают отрицательные результаты.

Семейство Hepadnoviridae

Вирус гепатита В вызывает развитие первичного рака печени. Опухоль развивается у хронических носителей вируса, у которых вирусная ДНК, интегрированная в геном гепатоцита, обуславливает синтез и накопление НВ-х антигена, связывающего супрессор опухолевого роста.

Семейство Herpesviridae

Онкогены обнаружены у всех представителей этого семейства, исключая вирус герпеса 3-го типа (*Varicella Zoster Virus*). Вирусы простого герпеса ВПГ 1 и 2-го типов трансформируют многие клетки человека, а их геномы выявляют в различных опухолевых клетках. ВПГ-2 связывают с развитием рака шейки матки, которому, как правило, предшествует генитальный герпес, и у таких больных обнаруживаются антитела к ВПГ-2.

Повышенной онкогенностью обладает вирус герпеса 4-го типа Эпштейна–Барра (ВЭБ). Вирус уникален в семействе вирусов герпеса по своей способности вызывать не цитолиз, а размножение пораженных клеток и латентно персистировать в них. Вирус ВЭБ в странах умеренного климата вызывает инфекционный мононуклеоз, поражающий обычно детей и молодых людей; в странах Африки развитие лимфомы Беркитта – опухоли верхней челюсти у детей и юношей; в некоторых районах Китая – карциному носоглотки, поражающую в основном мужское население. Клетки из опухолевой ткани таких больных содержат множественные копии интегрированных кольцевой ДНК вируса ВЭБ. Вирусы ВЭБ не культивируются в культуре клеток, поэтому их выявляют по способности трансформировать В-лимфоциты из пуповинной крови новорождённых; по образованию вирусспецифических антигенов в заражённых клетках с помощью полиме-

разной цепной реакции. В крови переболевших появляются антитела к антигенам вируса ВЭБ.

Семейство Poxviridae

К онкогенным поксвирусам относятся возбудители фибромы и миксомы кроликов и ряд других вирусов, вызывающих опухоли у животных. Онкогенность для человека установлена только у одного вируса данного семейства – вируса контагиозного моллюска. Заболевание характеризуется развитием мелких плотных узлов, локализующихся у взрослых на коже половых органов, у детей на лице, веках и шее. При надавливании из узелков выделяется кашицеобразная масса, содержащая овоидные тельца, названные моллюсками. Заражение происходит при прямом и половом контактах.

XVI. ВОЗБУДИТЕЛИ МЕДЛЕННЫХ ИНФЕКЦИЙ

Термин «медленная инфекция» указывает на затяжной характер заболеваний, растягивающихся на месяцы и годы.

Особенности медленных инфекций:

1. Длительный инкубационный период в течение нескольких месяцев или лет.
2. Своеобразные и необратимые поражения тканей, часто – центральной нервной системы.
3. Медленное, но неуклонное прогрессирование заболевания.
4. Неизбежный летальный исход.

Медленные инфекции разделяют на две группы: первую группу вызывают **вирусы**, вторую – **прионы**.

Медленные вирусные инфекции. В основе патогенеза медленных вирусных инфекций – длительное персистирование возбудителя в организме и замедленное повреждающее действие на клетки и ткани. Причинами их могут быть те же вирусы, что вызывают острые инфекции, например:

- вирус кори – подострый склерозирующий панэнцефалит;
- вирус краснухи – прогрессирующая врожденная краснуха и прогрессирующий краснушный панэнцефалит;
- вирусы герпеса – подострый герпетический энцефалит и цитомегаловирусное поражение мозга.

Многие вирусные инфекции, ранее считавшиеся острыми, можно расценивать как медленные – клещевой энцефалит, бешенство, ВИЧ, гепатиты В, С, D, Т-клеточные лимфомы, вызываемые лимфотропными вирусами человека I и II типов.

Наиболее типичной медленной вирусной инфекцией является подострый склерозирующий панэнцефалит ПСПЭ – прогрессирующее дегенеративное заболевание нервной системы с характерной клинической картиной, включающей умственные и двигательные нарушения, миоклонические судороги, электроэнцефалографические дизритмии. Заболевание наблюдается у лиц в возрасте 2–30 лет, обычно заканчивается смертью больного в течение года. Возбудитель подострого склерозирующего панэнцефалита – вирус кори с измененными свойствами, что спо-

способствует длительному персистированию в организме. Репродукция вируса в клетках нейроглии происходит с образованием РНК и вирусных белков без формирования дочерних популяций. Репродукция заканчивается гибелью нейронов и олигодендроцитов.

Диагностика основана на выявлении противокоревых антител в сыворотке крови и спинномозговой жидкости.

Прионные медленные инфекции. Особую группу медленных инфекций человека и животных составляет патология, проявляющаяся в глубоких поражениях только центральной нервной системы. На основе первично-дегенеративных (без признаков воспаления) процессов в мозговой ткани головного, а иногда и спинного мозга медленно развивается характерная картина вакуолизации серого или белого вещества, которая становится столь выраженной, что на гистологических срезах мозговая ткань напоминает вид губки. Отсюда и название – губкообразное состояние, или спонгиоз (от лат. *spongia* – губка). Развитие губкообразного состояния мозговой ткани, как правило, сопровождается образованием амилоидных бляшек (амилоидоз) в мозге и разрастанием глиозной ткани (глиоз). Подобное своеобразие патоморфологической картины определило название всей группы этих заболеваний как трансмиссивные губкообразные энцефалопатии (ТГЭ).

Возбудителем наиболее распространенной в природе ТГЭ-скрепи (заболевание, встречающееся в природе среди овец, коз) – является безнуклеиновый низкомолекулярный белок – прион. Термин «прион» образован как анаграмма английских слов *proteinaceous infectious particle* – белковая инфекционная частица. Прион как инфекционная единица состоит из молекул инфекционного прионного белка.

PrP (англ. *prion protein*) – так обозначается прионный белок;

PrPC – неинфекционный прионный белок, который носит наименование «клеточный», и в этом случае *C* – начальная буква английского слова *cell* (клетка). Неинфекционный (клеточный) прионный белок является жизненно необходимым белком, обнаруживаемым в организме всех млекопитающих, включая и человека. Одной из отличительных черт клеточного прионного белка является его высокая чувствительность к переваривающему действию протеазы, под действием которой PrPC полностью разрушается.

PrPSc – инфекционный прионный белок, который вызывает скрепи (*scrapie*) у овец и коз и другие прионные болезни животных и человека. Учитывая, что скрепи является наиболее распространенной в природе прионной болезнью, для обозначения инфекционности прионного белка использованы первые буквы названия заболевания – «Sc».

Прионовый белок PrP может быть в двух изоформах: клеточной нормальной – PrPC и измененной патологической – PrPSc.

Нормальный прионный белок PrPC играет чрезвычайно важную роль в жизнедеятельности организма: он участвует в передаче нервных импульсов, и, самое главное, клеточный прионный белок играет определенную роль в поддержании циркадианных ритмов (от лат. *circa* – около и *dies* – день), регулируя суточные циклы активности и покоя в клетках, органах и в организме в целом.

В норме белки PrPC находятся в наружных мембранах клеток организма, их особенно много в нейронах. Патологические прионные белки PrPSc отличаются от нормальных PrPC изменением пространственной конфигурации и являются их изомерами.

Резистентность. Прионы обладают чрезвычайной устойчивостью к действию физических и химических факторов. Для их уничтожения необходимо автоклавирование при 134°C в течение одного часа или обработка 90%-м раствором фенола.

Патогенез прионных инфекций. Проникнув в нейрон или глиальную клетку, молекула приона PrPSc контактирует с молекулой нормального белка PrPC и изменяет его конфигурацию, передавая ему своё патогенное состояние. Таким образом, нормальный белок превращается в патологический прион. Этот процесс нарастает в геометрической прогрессии. Патологические прионные белки устойчивы к действию клеточных протеаз, не чувствительны к интерферону. Они накапливаются в большом количестве, поражая всё новые клетки, вызывая дегенерацию, вакуолизацию и массовую гибель нейронов. Развивается характерная губчатая энцефалопатия мозга с образованием амилоидных бляшек.

Измененная, патологическая форма прионного белка PrPSc обнаруживается в организме людей и животных, страдающих

прионными болезнями. Превращение PrPC в PrPSc представляет собой посттрансляционный процесс, включающий глубокое пространственное изменение, которое лежит в основе размножения инфекционных прионов. Помимо преобразенной инфекционности, измененные прионы (PrPSc) в отличие от нормальной изоформы (PrPC) становятся устойчивыми к переваривающему действию протеазы, нагреванию, формальдегиду, ультрафиолетовому свету, проникающему действию радиации и не вызывают воспаления и иммунной реакции. Отличаются способностью к агрегации в амилоидные фибриллы, накапливаются в цитоплазме клеток, что приводит к развитию глубоких неврологических дефектов. Позднее PrPSc высвобождается во внеклеточное пространство и откладывается в амилоидных бляшках, вызывая все известные прионные заболевания (таблица 4).

Таблица 4 – Классификация прионных инфекций

Нозологическая форма	Естественный хозяин
Болезнь Крейтцфельдта–Якоба	Человек
Куру	Человек
Синдром Герстманна Штраусслера-Шейнкера	Человек
Фатальная семейная инсомния (смертельная семейная бессонница)	Человек
Скрепи	Овцы и козы
Трансмиссивная энцефалопатия норок	Норки
Хроническая изнуряющая болезнь	Олени и лоси
Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота	Коровы и быки

Характерными клиническими проявлениями прионных медленных инфекций являются:

- расстройство чувствительной сферы с выпадением функций органов чувств;
- нарушение двигательной сферы вплоть до развития параличей;
- различные нарушения психики – депрессия, сонливость, снижение интеллекта с развитием деменции.

Инкубационный период при прионных болезнях составляет от нескольких лет до 15–30 лет.

Болезнь Крейтцфельдта-Якоба (БКЯ) составляет около 85 % всех прионовых энцефалопатий человека, обнаруживается во всех странах мира. Инкубационный период – до 20 лет, начинается в возрасте 50–65 лет обычно исподволь: наступает быстрая утомляемость, появляются недомогание, головная боль, нарушается сон, снижается вес тела. При этом доминируют изменения психики: снижение внимания и памяти, замедленность ассоциативных процессов, апатия, депрессия, раздражительность, эмоциональная лабильность. Возникают зрительные расстройства в виде ограничения полей зрения, снижение остроты зрения. Развивается мозжечковая атаксия. Одно из характерных проявлений болезни – корковая миоклония с подергиванием различных групп мышц, которые бывают спонтанными и провоцируются ярким светом, громким звуком, прикосновением. Прогрессирует деменция в сочетании с паркинсонизмом и эпилептическими припадками. Подавляющее большинство больных умирают в течение года, иногда через несколько недель или месяцев после появления первых симптомов. Только у 5–10 % больных заболевание протекает медленнее и к летальному исходу приводит через 2 года и более. БКЯ может протекать по типу sporadических, наследственных или инфекционных (в том числе и ятрогенных) поражений.

Сporадические и наследственные случаи заболевания возникают при мутации гена, кодирующего синтез прионного белка PrP^C в организме. Болезнь может возникнуть как инфекционная в результате внешнего заражения, связанного с медицинскими манипуляциями или пересадками тканевых материалов от человека человеку, применением гормонов животного происхождения, с использованием недостаточно простерилизованных хирургических инструментов.

Инфицирование возможно при употреблении недостаточно проваренного мяса, мозга свиней и коров, особенно мозга и глазных яблок овец, а также сырых устриц и моллюсков. Источником инфекционного прионного белка при губкообразной энцефалопатии животных оказалась мясокостная мука, длительное время

употреблявшаяся для выкармливания молодняка. При производстве мясокостной муки использовались продукты убоя и головы овец и других больных животных.

Куру – наиболее типичный пример трансмиссивных прионовых заболеваний человека – губкообразных энцефалопатий. Болезнь эндемичная для горных районов Новой Гвинеи. Слово «куру» на языке племени форе имеет два значения – «дрожь» и «порча». Члены племени форе верили, что болезнь является результатом сглаза чужим шаманом. Заболевание распространялось среди папуасов через ритуальные каннибальские обряды – употребление в пищу мозгов умершего родственника (как дань уважения к нему). С искоренением каннибализма куру-болезнь практически исчезла. Однако все ещё появляются отдельные случаи, потому что инкубационный период может длиться более 30 лет.

Клинически основными признаками куру-заболевания являются сильная дрожь и порывистые движения головой, иногда сопровождаемые улыбкой, подобная той, которая появляется у больных столбняком (*risus sardonicus*), хотя это не является типичным признаком. Обозначение «смеющаяся смерть» для куру находится на совести создателей заголовков газетных статей. Члены племени форе так о болезни никогда не говорят. В начальной стадии болезнь проявляется головокружением и усталостью, потом добавляются головная боль, судороги и, в конце концов, типичная дрожь туловища, конечностей и головы. В течение нескольких месяцев ткани головного мозга дегенерируют, превращаясь в губчатую массу. Заболевание характеризуется прогрессирующей дегенерацией нервных клеток центральной нервной системы, особенно в той области головного мозга, которая контролирует осуществляемые человеком телодвижения. В результате происходит нарушение контроля мышечных движений и развивается тремор (дрожь), изменяются походка, координация движений. Это заболевание встречается преимущественно у женщин и детей и считается неизлечимым, через 9–12 месяцев заканчивается смертельным исходом.

Синдром Герстманна-Штраусслера-Шейнкера (СГШШ). СГШШ представляет собой доминантно наследуемую форму

прионного заболевания, клинически проявляющуюся прогрессирующей спинно-мозжечковой атаксией с деменцией, развитие которой обусловлено мутацией в гене, кодирующем синтез PrP^{sc}.

Наиболее характерным морфологическим признаком СГШШ является отложение мультицентрических амилоидных бляшек практически во всех отделах мозга. Характеризуется дегенеративными поражениями центральной нервной системы с формированием губкообразного состояния и проявляется развитием прогрессирующей атаксии, постепенной утратой рефлексов, нарушением глотания, мышечной гипотонией, дизартрией и слабумием. Заболевание медленно прогрессирует в течение четырех–пяти лет и заканчивается неизбежным смертельным исходом.

Фатальная семейная бессонница – наследственная прионная болезнь, описанная в 1986 г. как аутосомно-доминантная патология, и зарегистрирована у лиц в возрасте от 25 до 70 лет. Первое проявление – прогрессирующее нарушение сна, сопровождающееся повышенной утомляемостью и неподдающееся лечению. Далее присоединяются артериальная гипертензия, тахикардия, запоры, импотенция. Позднее появляются двигательные расстройства (атаксия, дизартрия, судороги), дистонические приступы и нарушения циркадных ритмов сердца. Смерть наступает в результате прогрессирующей легочно-сердечной недостаточности.

Скрепи (от англ. *scrape* – скрести (чесотка) – медленная инфекция овец и коз, характеризующаяся поражением центральной нервной системы с развитием губкообразного состояния и выражающаяся в появлении сильного зуда, нарушении координации движений, особенно походки, которые медленно прогрессируют, вплоть до гибели животного.

Микробиологическая диагностика. При прионной патологии характерны губкообразные изменения, астроцитоз (глиоз), отсутствие инфильтратов воспаления. Мозг окрашивают на амилоид. В цереброспинальной жидкости выявляют белковые маркеры прионных мозговых нарушений с помощью ИФА, ИБ с моноклональными антителами. Проводят генетический анализ прионного гена методом ПЦР.

XVII. ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 33

Тема: Онкогенные вирусы и медленные инфекции

План занятия:

1. Ретровирусы. Классификация, свойства, особенности репродукции, заболевания, вызываемые ретровирусами.
2. Онкогенные вирусы. Механизм вирусного онкогенеза.
3. Характерные особенности медленных вирусных инфекций и прионных болезней. Этиология, патогенез, клиническая картина, методы диагностики.

Цель занятия:

1. Выработать представление о биологических свойствах и роли ретровирусов в возникновении злокачественных опухолей.
2. Изучить классификацию онкогенных вирусов и выработать понятие о механизмах вирусного канцерогенеза.
3. Изучить биологические свойства возбудителей медленных инфекций, их отличительные особенности. Охарактеризовать возбудителей медленных инфекций.
4. Объяснить патогенез прионных медленных инфекций.

Учебно-целевые задачи:

Знать:

1. Классификацию и характеристику онкогенных РНК- и ДНК-геномных вирусов и их роль в возникновении злокачественных опухолей.
2. Механизмы вирусного онкогенеза, понятие о протоонкогенах и онкогенах.
3. Характеристику возбудителей двух групп медленных инфекций и их отличительные особенности.
4. Патогенез и клиническую картину прионных медленных инфекций.

Контрольные вопросы:

1. Современная классификация онкогенных вирусов.
2. Особенность строения ретровирусов и их биологические свойства, репродукция.
3. Понятие о протоонкогенах и онкогенах. Их роль в онкогенезе.

4. Роль онкогенов в возникновении опухолей.
5. Вирусные онкогены. Как они образуются?
6. Механизмы злокачественной трансформации у высокоонкогенных ретровирусов.
7. Механизмы злокачественной трансформации у низкоонкогенных ретровирусов.
8. Вирусы медленных инфекций. Характеристика возбудителей. Механизмы развития и формы проявления.
9. Прионы, общая характеристика. Этиология, патогенез, формы проявления прионных инфекций (куру, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, фатальная семейная бессонница, скрепи, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота и др.).
10. Принципы микробиологической диагностики, прионных инфекций (куру, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, фатальная семейная бессонница, скрепи, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота и др.).

ПРИЛОЖЕНИЕ

ХVIII. МОДУЛЬ 4 ПО РАЗДЕЛУ «ВИРУСЫ»

Контрольные вопросы:

1. Значение открытия вирусов Д.И. Ивановским. Этапы развития вирусологии. Роль отечественных ученых в развитии вирусологии.

2. Возбудители ОРВИ. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции.

3. Вирусы гриппа. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

4. Вирусы парагриппа. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

5. Вирус кори. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

6. Вирус паротита. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

7. Респираторно-синцитиальный вирус. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

8. Аденовирусы. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика, лечение, профилактика.

9. Коронавирусы. Вирус атипичной пневмонии – тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС). Таксономия. Характе-

ридика. Источники, пути передачи инфекции. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

10. Энтеровирусы. Коксаки, ЕСНО. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

11. Вирусы полиомиелита. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

12. Вирусы гепатитов А, В, С, D, E. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболеваний, основные клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика, лечение.

13. Арбовирусы. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболеваний. Общие принципы микробиологической диагностики арбовирусных инфекций. Основы специфической профилактики и лечения.

14. Вирусы желтой лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

15. Вирус москитной лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

16. Вирус лихорадки денге. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

17. Вирусы клещевого, японского энцефалитов. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

18. Вирус омской геморрагической лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез

заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

19. Вирус крымской геморрагической лихорадки. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

20. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

21. Вирус бешенства. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика.

22. Вирус натуральной оспы. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика оспы на современном этапе.

23. Вирус краснухи. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

24. Герпесвирусная инфекция – вирус простого герпеса 1-го, 2-го типов: таксономия, характеристика возбудителей. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

25. Вирус ветряной оспы и опоясывающего лишая. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

26. Цитомегаловирус. Таксономия. Характеристика. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания. Микробиологическая диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

27. Вирус Эпштейна–Барра. Таксономия. Характеристика возбудителей. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболеваний, основные клинические проявления. Микробиологическая диагностика. Профилактика и лечение.

28. ВИЧ-инфекция. Таксономия, характеристика возбудителя. Источники, пути передачи инфекции. Патогенез заболевания, клинические проявления. Микробиологическая диагностика, профилактика.

29. Классификация и характеристика онкогенных РНК- и ДНК-вирусов. Механизм онкогенеза.

30. Вирусы медленных инфекций. Характеристика возбудителей. Механизм развития и формы проявления. Принцип лабораторной диагностики.

31. Прионные болезни. Этиология, патогенез, формы проявления. Принципы лечения и профилактики.

XIX. БИЛЕТЫ К МОДУЛЮ

Билет 1

1. Структура вирусов гриппа, особенности генома, что собой представляют внутренние S-антигены и наружный V-антиген? Какова их роль в классификации вирусов на типы и подтипы? Методы культивирования вирусов гриппа.

2. На какие 2 группы разделяют все вирусные гепатиты по механизму передачи? Назовите эти механизмы и пути передачи, а также вирусы, относящиеся к каждой из этих групп.

3. Какие методы микробиологической диагностики применяются для подтверждения герпетической инфекции? Какой материал используется для вирусологического метода, на каких культурах клеток выделяют вирус герпеса, по каким характерным изменениям в культуре клеток распознают вирус? Какая реакция позволяет идентифицировать вирус герпеса? Перечислите ингредиенты, необходимые для постановки этой реакции.

4. Специфическая профилактика полиомиелита. Виды вакцин. Преимущества живых вакцин.

Тесты

1. Первичная репродукция вируса гепатита А происходит в клетках:

1. Слизистой оболочки тонкой кишки.
2. Печени.
3. Крови.
4. Головного мозга.
5. Кожи.

2. Живая полиомиелитная вакцина обеспечивает:

1. Местный иммунитет слизистых оболочек носоглотки и кишечника.

2. Формирование иммунологической толерантности.
3. Циркуляцию сывороточных иммуноглобулинов А.
4. Развитие гиперчувствительности замедленного типа.
5. Клеточно-опосредованный иммунный ответ.

3. Идентификацию выделенного вируса краснухи проводят в реакции торможения гемагглютинации. Отметьте необходимые ингредиенты:

1. Вирус, выделенный в культуре клеток.
2. Сыворотка крови больного.
3. Иммунная диагностическая противокраснушная сыворотка.
4. Среда 199.
5. Взвесь эритроцитов.

4. Для вируса паротита характерно:

1. Поражение слюнных, околоушных желез.
2. Формирование гиперчувствительности немедленного типа.
3. Отсутствие ЦПД в культуре клеток.
4. Культивирование на элективных питательных средах.
5. Возможность поражения репродуктивных желез.

5. Особенности патогенеза при ВИЧ-инфекции (верно все, кроме):

1. Длительная персистенция вируса.
2. Онкогенная трансформация клеток.
3. Прогрессирующее уменьшение CD4-клеток.
4. Глубокий вторичный иммунодефицит.
5. Развитие оппортунистических инфекций.

Билет 2

1. Таксономическое положение вируса краснухи, строение вириона. Пути передачи возбудителя. Патогенез краснухи. Какие поражения новорожденных характерны при врожденной краснухе?

2. Какие вирусы относятся к ДНК-геномным онкогенным вирусам? Механизмы онкогенеза.

3. Энтеровирусы. Классификация. Структура. Вирус полиомиелита, патогенез заболевания, основные клинические формы полиомиелита. Назовите цель и методы лабораторной диагностики полиомиелита.

4. Назовите препараты, применяемые для специфической активной профилактики и иммунотерапии кори.

Тесты

1. Эндогенные ретровирусы:

1. Существуют в форме ДНК-провируса в геноме всех клеток организма.

2. Передаются вертикально, подобно обычным клеточным генам.

3. Не являются онкогенными для животных, в клетках которых они находятся в виде постоянного генетического элемента.

4. Способны заражать только клетки другого биологического вида.

5. Передаются горизонтально – от одного человека к другому.

2. Парамиксовирусы вызывают заболевания:

1. Полиомиелит.

2. Грипп.

3. Герпетическую ангину.

4. Паротит.

5. Корь.

3. Вирусный гепатит А характеризуется:

1. Наличием суперкапсида.

2. Фекально-оральным механизмом заражения.

3. Переходом в хроническую форму.

4. Выраженной осенне-зимней сезонностью.

5. Стойкой невосприимчивостью к повторным заражениям.

4. Необходимые ингредиенты для реакции торможения гемагглютинации (РТГА), позволяющие идентифицировать вирусы парагриппа:

1. Сыворотка крови больного.

2. Иммунная диагностическая сыворотка.

3. Взвесь эритроцитов.

4. Выделенный вирус в культуре клеток.

5. Среда Паркера (199).

5. Онкогенные вирусы:

1. Подразделяются на ДНК- и РНК-геномные.

2. Интегрируются в геном клетки в виде ДНК-провируса и реплицируются вместе с ним.

3. Способны вызывать эпидемии и пандемии.

4. Обуславливают неконтролируемую пролиферацию клеток.

5. Активизируются мутагенными, канцерогенными факторами.

Билет 3

1. Назовите семейство, род возбудителя ветряной оспы и опо-

ясывающего герпеса. Структура вируса, этапы вирусологического метода диагностики с указанием способов культивирования, индикации и идентификации вируса.

2. Вирусы гепатита В: структура, антигены. Патогенез инфекции, клиника. Цель и методы лабораторной диагностики. Лечение, специфическая профилактика.

3. Эндогенные и экзогенные онкорнавирусы. Механизм онкогенеза.

4. Какая вакцина применяется для активной профилактики краснухи, в каком возрасте и какому контингенту?

Тесты

1. Основные механизмы передачи ВИЧ:

1. Половой.
2. Парентеральный (укусы комаров, клещей).
3. Воздушно-капельный.
4. Парентеральный (препараты крови, шприцы).
5. Фекально-оральный.

2. Антигены вируса гриппа:

1. Фибринолизин.
2. Нейраминидаза.
3. Коллагеназа.
4. Гемагглютинин.
5. Обратная транскриптаза.

3. Культивирование вируса гриппа осуществляется путем заражения:

1. Культуры клеток.
2. Сред обогащения.
3. Куриных эмбрионов.
4. Хорьков (интраназально).
5. Элективных питательных сред.

4. При внутриутробном заражении плода вирусом краснухи в ранние сроки беременности характерно:

1. Легкое течение, заканчивающееся выздоровлением.
2. Поражение органов зрения – двусторонняя катаракта, глаукома.
3. Поражение органов слуха – глухота.

4. Отставание в физическом и умственном развитии.
5. Продолжительное до полугода–двух лет выделение вируса.

5. Возбудитель геморрагической лихорадки с почечным синдромом отличается от возбудителей геморрагических лихорадок, вызываемых арбовирусами:

1. Передачей через кровососущих насекомых.
2. Заражением через экскременты инфицированных грызунов.
3. Образованием иммунных комплексов в клубочках и извилинах канальцев.
4. Культивированием в оболочках куриного эмбриона и культуре клеток.
5. Выраженностью ЦПД в культуре клеток.

Билет 4

1. Что такое интерферон, механизмы его противовирусного действия?

2. Вирус полиомиелита, структура, свойства, культивирование. Определение серологического варианта вируса полиомиелита с помощью реакции нейтрализации. Какие ингредиенты необходимы для постановки этой реакции?

3. Экспресс-диагностика гриппа осуществляется реакцией иммунофлюоресценции. Какой материал для этого используется, какие ингредиенты необходимы?

4. Подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ), когда и после какого заболевания развивается, с чем связан? На основании обнаружения каких антител диагностируется?

Тесты

1. Рецидивирование герпетических инфекций обуславливает способность вируса:

1. Повторно размножаться в очаге первичного инфицирования.
2. Активизироваться инсоляцией, переохлаждением.
3. Длительно сохраняться в эпителиальных клетках.
4. Бессимптомно персистировать в нервных ганглиях.
5. Синтезировать антитела, обеспечивающие выведение возбудителя из организма.

2. Характерные клинические проявления заболеваний, вызванных

ВПГ 1:

1. Чередование обострений в виде высыпаний на губах и крыльях носа.

2. Клонические и тонические судороги.
3. Рецидивирующее течение.
4. Гингивостоматит, кератоконъюнктивит.
5. Продолжительная диарея.

3. Характерные свойства вирусов:

1. Клеточная структура.
2. Два типа нуклеиновой кислоты.
3. Размножение делением.
4. Паразитизм на генетическом уровне.
5. Возможность роста на кровяном агаре.

4. Особенности строения и биологических свойств ретро-вирусов:

1. Существование в виде эндогенных и экзогенных вирусов.
2. Геном вируса – две идентичные однонитевые линейные РНК.
3. Наличие обратной транскриптазы.
4. Способность вызывать неопластическую трансформацию в культуре клеток.
5. Возможность репродукции на кровяном или сывороточном агарах.

5. Фиксированный вирус бешенства:

1. Видоизмененный вирус уличного (собачьего) бешенства.
2. Обладает продолжительным – до одного года – инкубационным периодом.
3. Получен Пастером путем многократного пассирования через мозг кролика.
4. Вакцинный штамм вируса бешенства со стойко сниженной вирулентностью для человека и других животных (кроме кролика).
5. Используется для приготовления антирабических вакцин.

Билет 5

1. Вирусы герпеса, структура, свойства. Классификация вирусов герпеса человека и заболеваний, вызываемых ими.
2. Патогенез и стадии ВИЧ-инфекции.

3. Назовите семейство, род вируса гепатита А (ВГА). Структура ВГА, этапы репродукции. Механизмы, пути заражения и патогенез гепатита А.

4. Онкогенные вирусы. Классификация. Механизмы онкогенеза. Роль онкогенов в возникновении опухоли.

Тесты

1. Косвенным доказательством заражения ВИЧ-инфекцией являются показатели иммунного статуса:

1. Снижение количества Т4-лимфоцитов.
2. Коэффициент соотношения Т4/Т8 ниже 0,6.
3. Увеличение общего и относительного количества эритроцитов.

4. Резкое повышение количества Ig A, Ig G, Ig E.

5. Увеличение циркулирующих иммунных комплексов.

2. Интегративный тип взаимодействия (виrogenия) включает:

1. Цитопатическое действие вируса.
2. Биосинтез вирусных компонентов в клетке.
3. Встраивание нуклеиновой кислоты вируса в хромосому клетки.

4. Выход вируса из клетки.

5. Гибель клетки.

3. Установить репродукцию вируса в культуре клеток позволяет наличие:

1. Характерных колоний.
2. Специфических антител.
3. Патологических изменений в клетках.
4. Бляшкообразования.
5. Токсикообразования.

4. Диагностическая система реакции связывания компонента (РСК) включает:

1. Сыворотку крови больного.
2. Гемолитическую сыворотку.
3. Эритроциты барана.
4. Диагностикум (известный вирус).
5. Комплемент.

5. Индикаторная система реакции связывания комплемента (РСК) включает:

1. Сыворотку крови больного.
2. Гемолитическую сыворотку.
3. Эритроциты барана.
4. Диагностикум (известный вирус).
5. Комплемент.

Билет 6

1. Взаимодействие вируса и клетки, особенности репродукции ВИЧ.

2. Характеристика антигенов вируса гриппа А, их локализация. Механизмы антигенной изменчивости вируса гриппа А. Перечислите пандемии гриппа и их возбудителей.

3. Укажите связь между заболеваниями «ветряная оспа» и «опоясывающий герпес» (возбудитель, возраст больных, причины возникновения заболевания). Перечислите клетки и ткани организма, в которых вирус ветряной оспы может длительно персистировать.

4. Специфическая профилактика полиомиелита. В чем преимущество живой вакцины, модифицированной Смородинцевым-Чумаковым?

Тесты

1. Ингредиенты, необходимые для постановки реакции иммунофлюоресценции (РИФ) с целью выявления вирус-специфических антигенов в исследуемом материале:

1. Сыворотка крови больного.
2. Исследуемый материал.
3. Иммунные сыворотки с антителами, меченными флюорохромами.

4. Предметное стекло.
5. Микроскоп люминесцентный.

2. Для культивирования вирусов применяются:

1. Искусственные питательные среды.
2. Куриные эмбрионы.
3. Культуры клеток.
4. Организм экспериментальных животных.

5. Синтетические питательные среды.

3. Характерные особенности острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ):

1. Быстрое распространение.
2. Изменчивость возбудителей.
3. Типоспецифический иммунитет.
4. Невосприимчивость детей.
5. Частые осложнения в виде пневмонии.

4. Критерий принадлежности COVID-19 к особо опасным карантинным инфекциям:

1. Сложное строение.
2. Патогенность для человека.
3. Высокая контагиозность.
4. Наличие РНК-генома.
5. Патогенность для животных.

5. Куру характеризуется:

1. Пандемическим характером распространения.
2. Наличием иммунных сдвигов.
3. Непродолжительным инкубационным периодом.
4. Губкообразной энцефалопатией.
5. Связан с каннибализмом.

Билет 7

1. Источник, пути распространения полиомиелита, патогенез. Основные клинические формы полиомиелита. Вирусологический метод диагностики с указанием исследуемого материала индикации. Как идентифицировать типы вируса полиомиелита в реакции нейтрализации? Какие ингредиенты необходимы для этого?

2. Структура возбудителя эпидемического паротита. Этапы репродукции, патогенез и возможные осложнения. Перечислите цели и методы лабораторной диагностики.

3. Семейство, род и тип возбудителя ветряной оспы и опоясывающего герпеса. Эпидемиология, патогенез и клинические формы. Что значит тератогенное действие вируса ветряной оспы?

4. Специфическая профилактика и иммунотерапия кори.

Тесты

1. Дизъюнктивный способ размножения характерен для:

1. Бактерий.
2. Грибов.
3. Вирусов.
4. Простейших.
5. Всех перечисленных.

2. Проникшая в клетку вирусная нуклеиновая кислота:

1. Участвует в процессе деления клетки.
2. Несет новую генетическую информацию.
3. Дезорганизует работу клеточных систем.
4. Подавляет собственный метаболизм клетки.
5. Заставляет клетку синтезировать вирусные белки и нуклеиновые кислоты.

иновые кислоты.

3. Особенности патогенеза ВИЧ-инфекции:

1. Длительное персистирование.
2. Онкогенная трансформация клетки.
3. Прогрессирующее уменьшение количества CD4-клеток.
4. Глубокий вторичный иммунодефицит.
5. Развитие оппортунистических инфекций.

4. Вирусы Эпштейна – Барра, цитомегалии, варицелла-зостер относятся к семейству:

1. Poxviridae.
2. Togaviridae.
3. Rabdoviridae.
4. Herpesviridae.
5. Retroviridae.

5. При прогрессирующем склерозирующем панэнцефалите (ПСПЭ) обнаруживается высокий уровень антител к вирусу:

1. Краснухи.
2. Герпеса.
3. Кори.
4. Энцефалита.
5. Полиомиелита.

Билет 8

1. Назовите основные отличия в строении и биологических свойствах цитомегаловируса от других герпес-вирусов. Распространенность ЦМВ-инфекции и способы заражения. Патогенез и клинические формы ЦМВ-инфекции. Основная опасность ЦМВ-инфекции для плода.

2. Назовите биологические жидкости ВИЧ-инфицированного, содержащие высокие концентрации вируса. Перечислите возможные пути передачи ВИЧ. Стадии ВИЧ-инфекции, примерная их продолжительность и клинические признаки, характерные для каждой стадии.

3. Перечислите необходимые ингредиенты для ИФА с целью определения HBs- антигена в сыворотке крови больного.

4. Что собой представляет вакцина для специфической профилактики гепатита В? Для какого контингента людей эта прививка обязательна, а для какого – предпочтительна?

Тесты

1. Опоясывающий герпес возникает у человека, перенесшего:

1. Простой герпес.
2. Инфекционный мононуклеоз.
3. Натуральную оспу.
4. Ветряную оспу.
5. Лимфому Беркитта.

2. Болезнь Крейтцфельда -Якоба:

1. Острая бактериальная инфекция.
2. Медленная инфекция прионной природы.
3. Характеризуется развитием спонгиоза, амилоидоза и глиоза в мозговой ткани.
4. Встречается во всех странах мира.
5. Пути передачи: алиментарный; ятрогенный (инструменты, биопрепараты животного происхождения).

3. Индикация вирусов в культуре клеток осуществляется по:

1. Характеру ЦПД.
2. Виду колоний.

3. Реакции гемагглютинации.
4. Реакции торможения гемагглютинации.
5. Биохимическим реакциям.
- 4. Для вируса гепатита В характерны:**
 1. Двунитчатая РНК.
 2. Дефектность ДНК.
 3. Наличие ДНК-полимеразы.
 4. Отсутствие суперкапсида.
 5. Высокая устойчивость к факторам окружающей среды.
- 5. Стратегия глобальной ликвидации COVID-19:**
 1. Немедленная госпитализация.
 2. Химиопрофилактика.
 3. Массовая вакцинация.
 4. Закрытие границ.
 5. Химиотерапия.

Билет 9

1. Укажите семейство, род вируса иммунодефицита человека. Строение вириона. Процесс репродукции ВИЧ.

2. Какие сочетания вариантов Н- и N-антигенов формируют подтипы вируса типа А? Причиной каких пандемий они были? С чем связана антигенная изменчивость вируса гриппа типа А?

3. Что такое протоонкогены и онкогены? Роль онкогенов в возникновении опухолей.

4. Назовите природные очаги клещевого весенне-летнего энцефалита, источник инфекции, способы заражения и патогенез. Вирусологический метод исследования с указанием методов культивирования, индикации и идентификации вируса.

Тесты

1. Особенности патогенеза при гепатите Д (верно все, кроме):

1. Неспособность к самостоятельной репликации в гепатоцитах.
2. Дефектность вируса, связанная с необычайно малым геномом.
3. Необходимость участия вируса гепатита В в репликации.
4. Поражение дельта-вирусом СД4 -лимфоцитов.
5. Возможность возникновения гепатита только при суперин-

фицировании дельта-вирусом больного гепатитом В или одновременном заражении этими вирусами.

2. Пути ускользания ВИЧ от иммунного надзора:

1. Антигенная изменчивость.
2. Вирогения.
3. Репликация в макрофагах.
4. Быстрая смена хозяина.
5. Суперкапсид из мембраны клеток макроорганизма.

3. Лабораторная диагностика прионных болезней включает:

1. Выделение прионов в культуре клеток с идентификацией по антигенным свойствам.

2. Окраску препаратов мозга на глиоз, амилоидоз.

3. Определение специфических антител в сыворотке крови больного.

4. Выявление в цереброспинальной жидкости белковых маркеров мозговых нарушений с помощью ИФА, ИБ.

5. Обнаружение аллергического состояния внутрикожными пробами.

4. Протоонкогенами являются:

1. Подвижные генетические элементы (транспозоны, Is- последовательности).

2. Плазмиды.

3. Умеренные фаги.

4. Нормальные клеточные гены.

5. Эндогенные вирусы.

5. Микроскопически цитопатическое действие вирусов в культуре клеток проявляется:

1. Сохранением морфологии клеток.

2. Образованием гигантских многоядерных клеток (симпластов).

3. Полной деструкцией клеток.

4. Формированием цитоплазматических включений.

5. Изменением структуры вируса.

Билет 10

1. Вирус краснухи. Структура вируса, источники и пути передачи инфекции, патогенез. Этапы вирусологического исследования с указанием методов культивирования, индикации и идентификации вируса.

2. В составе каких вирусов обнаружена обратная транскриптаза, какова роль данного фермента в процессе репродукции вируса?

3. Прионы, общая характеристика. Этиология, патогенез, форма проявления болезней. Лабораторная диагностика прионных болезней.

4. Специфическая профилактика кори.

Тесты

1. ПЦР при вирусных гепатитах применяется для выявления:

1. Специфических антител.
2. Вирусных антигенов.
3. Обратной транскриптазы.
4. Нуклеиновых кислот.
5. Циркулирующих иммунных комплексов.

2. Для цитомегаловирусов характерны:

1. Высокая чувствительность к интерферону и химиотерапевтическим препаратам.
2. Образование гигантских клеток.
3. Персистенция в слюнных железах, почечной паренхиме.
4. Формирование внутриядерных включений.
5. Тератогенное действие.

3. Рецидив в виде локальной везикулярной сыпи по ходу нерва (опоясывающий герпес) возникает после перенесенной в детстве:

1. Натуральной оспы.
2. Генитального герпеса.
3. Ветряной оспы.
4. Цитомегаловирусной инфекции.
5. ВИЧ-инфекции.

4. Особенности патогенеза при гепатите Д (верно все, кроме):

1. Неспособность к самостоятельной репликации в гепатоцитах.
2. Дефектность вируса, связанная с необычайно малым геномом.
3. Необходимость участия вируса гепатита В в репликации.
4. Поражение дельта-вирусом СД4-лимфоцитов.
5. Возможность возникновения только при суперинфицировании или коинфекции с гепатитом В.

5. При аденовирусной инфекции:

1. Репродукция вируса происходит в клетках слизистых дыхательных путей, кишечника.
2. Развивается экссудативно-фибринозное воспаление слизистых с образованием пленки и некроза.
3. Вирус оказывает тератогенное действие.
4. Некоторые серотипы вызывают опухолевую трансформацию клеток.
5. Аллергизация организма сопровождается развитием астматического бронхита.

Билет 11

1. Аденовирусы. Структура, свойства. Патогенез. Серологический метод диагностики. Как определить нарастание титра антител в РТГА? Какие ингредиенты необходимы для этого?
2. Этапы взаимодействия ВИЧ с клеткой, особенности антигенной структуры и изменчивости ВИЧ.
3. Перечислите прионные болезни. Патогенез, клиника, профилактика, лабораторная диагностика.
4. Противовирусные препараты, применяемые для экстренной профилактики гриппа, механизмы их действия.

Тесты

1. Экзогенные ретровирусы:

1. Распространяются горизонтально от одной особи к другой, в форме вириона.
2. Являются возбудителями лимфоидных лейкозов, сарком, миелобластозов у птиц и животных.

3. Патогенными для человека являются: HTLV-1, HTLV-2.
4. Короткий инкубационный период и полное выздоровление.
5. Распространены повсеместно.

2. Снижение количества CD4-клеток при ВИЧ-инфекции происходит в результате (верно все, кроме):

1. Прямого ЦПД вируса.
2. Вирогении.
3. Образования синцитиев.
4. Апоптоза (запрограммированная смерть клетки).
5. Аутоиммунных реакций.

3. Приобретенная цитомегалия у взрослых и детей проявляется в виде:

1. Латентной инфекции, сохраняющейся на протяжении всей жизни.
2. Прогрессирующего иммунодефицита с развитием кахексии.
3. Инфекции почек и слюнных желез.
4. Пневмонии, гепатита.
5. Саркомы Капоши.

4. Для парентеральных вирусных гепатитов характерны (все верно, кроме):

1. Кратковременная вирусемия.
2. Постоянная вирусемия.
3. Вирусоносительство.
4. Хронизация заболевания.
5. Осложнения: цирроз и первичная карцинома печени.

5. Неспецифическая профилактика парентеральных гепатитов (все верно, кроме):

1. Уменьшение случаев прямого переливания крови.
2. Проверка донорской крови.
3. Плановая вакцинация.
4. Качественная стерилизация.
5. Борьба с наркоманией.

Билет 12

1. Назовите медленные болезни человека и животных, вызываемые прионами. Патогенез, характерные признаки.
2. Вирусы герпеса, структура, репродукция, современная

классификация. Вирусологический метод с указанием способов культивирования, характера ЦПД и идентификации в РН.

3. Какие результаты лабораторных исследований позволяют подтвердить диагноз гепатита В и отдифференцировать от других вирусных гепатитов?

4. Из каких основных этапов складывается процесс взаимодействия ВИЧ с клеткой?

Тесты

1. Какие микроорганизмы обладают онкогенными свойствами:

1. Вирусы.
2. Грибы.
3. Простейшие.
4. Хламидии.
5. Спирохеты.

2. Прионы:

1. Вызывают гнойно-воспалительный процесс.
2. Имеют клеточную структуру.
3. Чувствительны к антибиотикам.
4. Являются белковой инфекционной частицей.
5. Индуцируют напряженный гуморальный постинфекционный иммунитет.

3. Иммунитет при ВИЧ-инфекции (верно все, кроме);

1. Стерильный.
2. Пожизненный.
3. Клеточный.
4. Гуморальный.
5. Не формируется.

4. Необходимые ингредиенты для реакции биологической нейтрализации (РБН) с целью определения серотипа вируса полиомиелита:

1. Вирус, выделенный в культуре клеток.
2. Сыворотка крови больного.
3. Иммунные диагностические противополомиелитные сыворотки трех типов.
4. Культура клеток.

5. Спинномозговая жидкость.

5. Особенности патогенеза цитомегаловирусной инфекции (ЦМВ) определяются способностью вируса:

1. Поражать все органы и ткани.
2. Вызывать бессимптомное носительство.
3. Формировать напряженный постинфекционный иммунитет.
4. Инфицировать иммунокомпетентные клетки и персистировать в них.
5. Развивать иммунопатологические реакции.

Билет 13

1. Охарактеризуйте вакцину, применяемую для активной профилактики гепатита В, объясните принцип ее получения.

2. Источник и пути распространения полиомиелита, патогенез и основные клинические формы. Назовите цели и применяемые методы лабораторной диагностики полиомиелита, охарактеризуйте каждый из них.

3. Перечислите клинические формы, вызываемые ВПГ-1 и ВПГ-2. Где сохраняется вирус в межрецидивный период? Цели и методы лабораторной диагностики герпеса. Какой метод позволяет наиболее быстро поставить окончательный диагноз герпеса?

4. Специфическая профилактика эпидемического паротита. В чем отличие активной и пассивной специфической профилактики паротита?

Тесты

1. Куру – эндемическая медленная инфекция человека прионной природы характеризуется:

1. Тяжелым поражением иммунной системы.
2. Превращением головного мозга в губчатую массу.
3. Прогрессирующим нарушением координации движения, сильной дрожью.
4. Легким течением и полным выздоровлением.
5. Распространением через ритуальный каннибализм.

2. К прионным относятся болезни (все верно, кроме):

1. Куру.
2. Крейтцфельда-Якоба.
3. Семейная фатальная бессонница.

4. Саркома Капоши.
5. Губчатая энцефалопатия.

3. Свойства вируса ветряной оспы, определяющие патогенез болезни :

1. Дерматотропность.
2. Вирусемия.
3. Возможность трансплацентарной передачи вируса.
4. Способность персистировать в клетках ганглиев задних корешков спинного мозга.
5. Вызывать неконтролируемую пролиферацию клеток.

4. Уличный вирус бешенства:

1. Отличается высокой патогенностью для плотоядных животных и человека.
2. Получен Пастером путем многократного пассирования через мозг кролика.
3. Обуславливает образование телец Бабеша – Негри в нейронах головного мозга у больных животных и человека.
4. Не отличается по антигенному составу от фиксированного вируса.
5. Используется для приготовления антирабических вакцин.

5. Для микробиологической диагностики гриппа используются все методы, кроме:

1. Вирусоскопического (риноцитоскопия).
2. Вирусологического.
3. Аллергического.
4. Серологического.
5. Молекулярно-генетического.

Билет 14

1. Форма, величина, ультраструктура вируса бешенства. Природный резервуар, способы заражения, патогенез бешенства и периоды заболевания. Основной метод диагностики, подтверждающий посмертно диагноз бешенства.

2. К какому семейству и роду относится вирус кори? Структура, свойства, этапы репродукции, особенности ЦПД? Какие осложнения возможны через несколько лет после перенесенной кори? Патогенез этого осложнения и исход.

3. Опишите типы вакцин, применяемые для профилактики гриппа.

4. В чем заключается основная опасность ЦМВ-инфекции для плода?

Тесты

1. Структуры, содержащие инфекционные белки с низкой молекулярной массой, не имеющие нуклеиновых кислот, не вызывающие воспаление и иммунный ответ, являются:

1. Вирусами.
2. Хламидиями.
3. Прионами.
4. Риккетсиями.
5. Грибами.

2. К семейству Rabdoviridae, роду Lissavirus относятся вирусы:

1. Оспы.
2. Герпеса.
3. Кори.
4. Бешенства.
5. Желтой лихорадки.

3. Возможные исходы заболевания при гепатите В:

1. Выздоровление с формированием пожизненного иммунитета.

2. Хронический активный гепатит.
3. Цирроз печени.
4. Бесплодие.
5. Карцинома печени.

4. Методы, позволяющие определить стадию развития ВИЧ-инфекции:

1. Выявление специфических антигенов в крови.
2. Определение показателей соотношения Т4/Т8.
3. Внутрикожные пробы.
4. Выделение ВИЧ в культуре клеток.
5. Определение общего и относительного количества эритроцитов.

5. Для патогенеза гепатита Е (верно все, кроме):

1. Отсутствия хронизации.
2. Прямого ЦПД вируса на гепатоциты.
3. Избирательной тяжести течения у беременных.
4. Поражения плода.
5. Формирования вирусоносительства.

XX. СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Раздел I. Вирусы гриппа и ОРВИ

1. В лабораторию поступил материал (смыв из носоглотки) от больного с подозрением на респираторную вирусную инфекцию. Какие биологические объекты следует использовать для выделения вирусов? Какими способами можно идентифицировать вирус? Какие еще способы используются для постановки диагноза?

2. В инфекционной больнице находится больной с предварительным диагнозом «грипп». Смывом из носоглотки больного проведено заражение куриного эмбриона, который погиб. После вскрытия эмбриона идентифицируйте материал для определения вида вируса. Какая реакция ставится для этой цели?

3. В лабораторию поступили мазки-отпечатки из носовой полости от больного с подозрением на аденовирусную инфекцию. На основе каких лабораторных исследований и как можно подтвердить диагноз заболевания?

4. В лабораторию поступил материал: смыв из носоглотки от больного с подозрением на респираторно-синцитиальную инфекцию. Какие исследования необходимо провести для уточнения диагноза?

5. У больной С., 17 лет, внезапно поднялась температура, отмечаются слабость, головная боль, катаральные явления в дыхательных путях, слезотечение. При посеве носоглоточного отделяемого на культуру клеток – ЦПД в виде гигантских многоядерных клеток гроздьев винограда. О каком заболевании идет речь? Ваш план дальнейшего обследования.

6. У больного Д., 18 лет, высокая температура, слабость, обильная слизь из носа. Взяли смыв из носа и провели заражение культур клеток. В культуре клеток материал вызвал ЦПД в виде гигантских многоядерных клеток и синцития, содержащих цитоплазматические включения. О каком заболевании идет речь и ваш план дальнейшего исследования?

Раздел II. Энтеновирусы и вирусы гепатитов

1. У ребенка четырех лет появились умеренно повышенная температура, катаральные явления. Через несколько дней на фоне падения температуры у ребенка отмечаются боли и подергивание мышц нижней конечности, затем развился вялый паралич нижней конечности. Какой материал необходимо взять для исследования? Ваш план лабораторной диагностики?

2. Из испражнений больного выделена культура вирусов, обладающих цитопатическим свойством. Какие иммунологические тесты могут быть использованы для типирования выделенных вирусов?

3. В инфекционную больницу поступил больной с предположительным диагнозом: энтеровирусная инфекция. Какие вирусологические методы необходимо использовать для уточнения диагноза и идентификации возбудителя?

4. В лабораторию поступил материал от больного с подозрением на гепатит В (неделя заболевания). Какие методы используются для выделения HBS-антигена? Какие реакции можно дополнительно поставить в случае отрицательного результата исследования по идентификации HBS-антигена?

5. В детскую инфекционную больницу поступил больной ребенок шести лет с предварительным диагнозом «полиомиелит». Ребенок посещает детский сад. Укажите методы лабораторной диагностики и мероприятия для профилактики заболевания среди контактных.

6. Больной В., 27 лет. Жалобы на головную боль, повышение температуры, расстройство стула. Объективно: у больного положительные менингеальные симптомы, сыпь в области туловища и конечностей. При посеве крови на сывороточный агар – отсутствие роста. При посеве испражнений на культуру клеток почек обезьян – ЦПД. Ваш предположительный диагноз? Укажите методы лабораторной диагностики и тесты для идентификации возбудителя.

7. Больная А., 18 лет, жалуется на общую слабость, плохой аппетит, тошноту, рвоту, чувство тяжести в правом подреберье, кожный зуд. При осмотре: язык обложен серым налетом, скле-

ры глаз и кожа желтушны. В анамнезе – переливание крови при операции 4 месяца назад. Каков предположительно ваш диагноз? Что следует брать у больного для лабораторного исследования? Какие методы применить? От каких инфекций и как дифференцировать?

8. В инфекционную больницу поступил больной с температурой 38°, тошнотой, рвотой. В анамнезе – переливание крови три месяца назад. При осмотре склеры глаз и кожа желтушны. Укажите предположительный диагноз. Составьте план и методы дальнейшего исследования для подтверждения диагноза заболевания.

9. Поступила медсестра из Таласа С., 35 лет, с жалобами на слабость, вялость, боли в правом подреберье, снижение аппетита, кожа и склеры слегка желтушные, печень увеличена. В анамнезе – экстренное прямое переливание крови четыре месяца назад. Позднее выяснилось, что у донора в крови обнаружен вирус гепатита С. Ваш предположительный диагноз? Проведите дифференциацию с другими парентеральными гепатитами.

10. Больная Б., 4 года, поступила в больницу с жалобами на рвоту, тошноту, отсутствие аппетита, потемнение мочи, печень увеличена. Ребенок посещает детский сад, в котором в течение месяца были случаи гепатита. Ваш предположительный диагноз? Подтвердите диагноз лабораторными исследованиями. Какие профилактические мероприятия необходимо провести в детском саду?

11. Беременная П., 24 года, поступила в больницу в тяжелом состоянии с жалобами на тошноту, рвоту, слабость, отсутствие аппетита, тяжесть в правом подреберье. Печень увеличена, болезненна, моча темнее, чем пиво. Беременна, срок – 22 недели. Каков ваш предварительный диагноз? Какие лабораторные исследования нужно провести для дифференциации гепатитов и подтверждения диагноза?

Раздел III. Арбовирусы и вирус бешенства

1. В медицинское учреждение поступил больной с рваными ранами вследствие укуса бешеным животным. Какие мероприятия необходимо провести для предупреждения развития бешенства?

2. Ребенка 8 лет покусала собака. При осмотре: рваные раны правой икроножной мышцы и правой кисти. Со слов родителей потерпевшего, собака принадлежит соседям, содержится на привязи и внешне здорова. Ваша тактика?

3. В лабораторию поступила собака с подозрением на бешенство. Какой материал может быть использован для диагностики заболевания? Какие методы исследования необходимо применить для подтверждения диагноза?

4. В медицинское учреждение поступил больной с рваными ранами головы вследствие нападения собаки соседа. Какие мероприятия необходимо провести для проведения диагностики и профилактики заболевания?

5. Больной В., 42 года. Два дня назад вернулся из командировки в Африку. Жалобы на высокую температуру, озноб, слабость, желтушность склер, увеличение печени, геморрагические высыпания на слизистых оболочках. О каком заболевании может идти речь? Какие лабораторные тесты необходимы для диагностики заболевания?

6. Больной С., 27 лет. Три дня назад вернулся из Омской области, где работал на лесозаготовках. Жалобы на лихорадку с ознобом, кровотечение, геморрагические сыпи. Каков предположительно ваш диагноз? Какие лабораторные тесты необходимо использовать для уточнения диагноза заболевания?

7. Больной А., 24 года. Жалобы на лихорадку, развитие паралича правой верхней конечности, нарушение сна. В анамнезе – длительное пребывание в Ала-Арчинском ущелье, работал егерем в лесопарке. Объективно: расстройство психики, развитие энцефаломиелита, паралич верхней конечности. О каком заболевании идет речь? Какие лабораторные тесты необходимы для подтверждения диагноза?

8. Больной Д., 29 лет. Жалобы на резкий подъем температуры. Объективно: гиперемия кожи лица, глаз, геморрагическая сыпь и кровотечение из носа и кровохарканье. Несколько дней тому назад приехал из Крыма, где работает техником в лесу. Ваш диагноз? Какие лабораторные методы необходимы для уточнения диагноза заболевания?

9. Рабочий М., 20 лет, госпитализирован в инфекционную больницу с предположительным диагнозом «клещевой энцефалит». Проведите вирусологическую диагностику для подтверждения диагноза заболевания.

10. В инфекционную больницу поступил больной с подозрением на лихорадку денге. Как провести лабораторную диагностику для уточнения диагноза заболевания?

Раздел IV. Вирус кори, краснухи, герпеса, натуральной и ветряной оспы

1. Больная О., 6 лет. Жалобы на боль и припухлость шеи. При осмотре: увеличение обеих околоушных желез, без гноя. Ребёнок посещает детский сад, где неделю назад была вспышка инфекционного заболевания. Ваш диагноз и ход лабораторного исследования? Какие мероприятия необходимо провести в детском саду?

2. Больной М., 19 лет. Жалобы на припухлость шеи и воспаление яичка. Объективно: увеличение обеих околоушных желез и увеличение левого яичка. Ваш диагноз и ход лабораторного исследования?

3. В инфекционную клинику поступил больной с предположительным диагнозом «корь». Какие лабораторные тесты необходимо использовать для уточнения диагноза заболевания?

4. Больной Л., 8 лет. Жалобы на повышение температуры, насморк, кашель. Объективно: на коже и слизистых оболочках – геморрагическая сыпь, конъюнктивит, на слизистой оболочке щек – пятна Филатова-Коплика. Ваш диагноз? Методы подтверждения диагноза?

5. После перенесенного гриппа у больной М. на крыльях носа, губах появились высыпания в виде мелких пузырьков, наполненных мутноватой жидкостью. Ваш диагноз? Какие дополнительные исследования нужно провести для уточнения диагноза?

6. У больного М., 35 лет, поднялась температура 38° и появилось чувство покалывания, жжения, боли по ходу межреберных нервов. К вечеру на указанных местах стали образовываться тесно сгруппированные пузырьки с прозрачным содержимым. О каком заболевании идет речь? Как можно обнаружить вирусный антиген в исследуемом материале?

ЛИТЕРАТУРА

1. *Воробьев А.А.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. – М., 2004. – 690 с.
2. *Быков А.С.* Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / А.С. Быков, А.А. Воробьев, В.В. Зверев. – М., 2008. – 271 с.
3. *Борисов Л.Б.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. – М., 2016. – 785 с.
4. *Букринская А.Г.* Вирусология // Медицина. – 1980. – 336 с.
5. *Зверев В.В., Бойченко М.Н.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
6. *Поздеев О.К.* Медицинская микробиология. – М.: ГЭОТАР, 2002. – 768 с.
7. О совершенствовании мер борьбы и профилактики гриппа в республике (приказ) / С.Т. Абдикаримов, Н.Т. Усенбаев, Г.К. Садыбакасова и др. // Приказ МЗ КР № 27 от января 2002 года. ДГСЭН.
8. *Прудникова С.В.* Микробиология с основами вирусологии. – М., 2008. – 152 с.
9. Медицинская микробиология и иммунология: учебник / В. Мальцев, Е. Пашков. – М.: Практическая медицина, 2014. – 512 с.
10. *Садыбакасова Г.К.* Эпидемиология цитомегаловирусной инфекции в Кыргызской Республике: монография. – Бишкек, 2014. – 144 с.
11. *Широбокова В.П.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. – Винница: Нова Книга, 2015. – 855 с.
12. *Коротяев А.Б., Бабичев В.С.* Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. – М.: СпецЛит, 2015. – 1181 с.

СОДЕРЖАНИЕ

I. Основы общей вирусологии	3
1.1. Открытие вирусов	3
1.2. Свойства и происхождение вирусов	3
1.3. Морфология вирусов (вирионов)	5
1.4. Систематика вирусов	7
1.5. Взаимодействие вируса с клеткой	9
1.6. Методы культивирования, индикации и идентификации вирусов	12
2. Вирусы бактерий – бактериофаги	21
3. Генетика вирусов и взаимодействие вирусных геномов	26
4. <i>Практическое занятие № 9</i> (Темы: Основные свойства вирусов. Вирусоскопические и вирусологические методы исследования. Бактериофаг)	27
4.1. Особенности вирусных инфекций.	30
4.2. Этапы патогенеза вирусных инфекций	30
4.3. Типы вирусных инфекций	31
4.4. Особенности противовирусного иммунитета	33
4.5. Методы исследования в вирусологии	38
II. Частная вирусология	54
2.1. Возбудители острых респираторных вирусных инфекций	54
2.2. Семейство Orthomyxoviridae	54
2.3. Семейство Paramyxoviridae	64
2.4. Эпидемический паротит	67
2.5. Вирус кори и ПСПЭ	69
2.6. Респираторно-синцитиальный вирус (RS-вирус)	73
2.7. Коронавирусы	74
2.8. Семейство аденовирусов Adenoviridae	77
2.9. <i>Практическое занятие № 28</i> (Тема: Возбудители острых вирусных респираторных инфекций (ОРВИ)	81
III. Семейство Picornaviridae	85
3.1. Род – энтеровирусы	85
3.2. Вирусы Коксаки	89
3.3. Вирусы ЕСНО	91

IV. Возбудители вирусных гепатитов	93
4.1. Возбудители энтеральных гепатитов	93
4.1.1. Гепатит А – ВГА.....	93
4.1.2. Вирус гепатита Е (ВГЕ).....	97
4.1.3. Вирусы ящура	98
4.1.4. <i>Практическое занятие № 29</i> (Темы: Возбудители энтеровирусных инфекций – полиовирусных, Коксаки, ЕСНО. Возбудители энтеральных вирусных гепатитов А, Е)	99
4.2. Возбудители парентеральных гепатитов	101
4.2.1. Гепатит В (ВГВ).....	101
4.2.2. Вирус гепатита D (ВГД)	108
4.2.3. Вирус гепатита С (ВГС)	109
V. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)	113
VI. Практическое занятие № 30 (Темы: Возбудители парентеральных вирусных гепатитов В, С, D. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)).....	126
VII. Возбудители природно-очаговых вирусных инфекций	130
7.1. Арбовирусы	130
7.1.1. Клещевой энцефалит	131
7.1.2. Вирус японского энцефалита	135
7.1.3. Вирус омской геморрагической лихорадки (ОГЛ)....	137
7.1.4. Вирус желтой лихорадки.....	138
7.1.5. Вирус лихорадки денге.....	139
7.1.6. Вирус крымской геморрагической лихорадки (КГЛ)	139
7.1.7. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом	140
VIII. Вирус краснухи	142
IX. Рабдовирусы	145
X. Вирус везикулярного стоматита	152
XI. Практическое занятие № 31 (Тема: Природно- очаговые нейровирусные инфекции)	154
XII. Герпесвирусы	157
12.1. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса	163

12.2. Вирус цитомегалии или цитомегаловирус	166
12.3. Гамма-герпесвирусы (Эпштейна-Барра)	169
12.4. Злокачественная лимфома Беркитта	170
12.5. Герпес-вирус 8-го типа Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV).	170
XIII. Вирус натуральной оспы	171
XIV. Практическое занятие № 32 (Темы: Вирусы герпеса. Вирус натуральной оспы).....	175
XV. Онкогенные вирусы	178
15.1. РНК-содержащие онковирусы	179
15.2. ДНК-содержащие онковирусы	184
XVI. Возбудители медленных инфекций	188
XVII. Практическое занятие № 33 (Тема: Онкогенные вирусы и медленные инфекции).....	195
Приложение	197
XVIII. Модуль 4 по разделу: Вирусы».	
Контрольные вопросы	197
XIX. Билеты к модулю	201
XX. Ситуационные задачи	222
Литература	227

Под редакцией
Г.К. Садыбакасовой

Составители:
*Ф.С. Мустафина, М.А. Сабодаха,
Г.Р. Бестужева. Г.К. Садыбакасова*

ОСНОВЫ ОБЩЕЙ И ЧАСТНОЙ ВИРУСОЛОГИИ

Учебно-методическое пособие

Редактор *Р.Д. Мукамбетова*
Компьютерная верстка *А. Рахмановой*

Подписано в печать 23.12.2020
Печать офсетная. Формат 60 × 84 ¹/₁₆.
Объем 14,5 п. л. Тираж 100 экз. Заказ 23

Издательство КРСУ
720000, г. Бишкек, ул. Киевская, 44

Отпечатано в типографии КРСУ
720048, г. Бишкек, ул. Анкара, 2а