

## Тема 26

### Микробиологическая диагностика энтеровирусных (полиомиелит, Коксаки, ЕСНО) и ротавирусных инфекций.

#### **План занятия:**

1. Семейство *Picornaviridae*, общие свойства (классификация, морфология, культивирование, антигены).
- Вирус полиомиелита, морфо-биологические особенности, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика полиомиелита.
- Вирусы Коксаки и ЕСНО, морфо-биологические особенности, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение вызываемых ими заболеваний.
3. Род *Rotavirus*, морфо-биологические особенности, культуральные свойства, патогенность, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика ротавирусных инфекций.

*Picornaviridae* (от исп. *pico* — малый, *na* — рибонуклеиновая кислота) — семейство безоболочечных вирусов, содержащих однонитевую плюс-РНК. Семейство насчитывает более 230 представителей и включает роды: *Enterovirus* (260 серотипов), *Aphtovirus* (7 серотипов), *Hepatovirus* (два серотипа — 1 человека, 1 обезьяны), *Cardiovirus* (2 серотипа); *Parechovirus*, *Erbovirus*, *Kobuvirus*, *Teschovirus* — названия новых родов.

**Структура.** Пикорнавирусы относятся к мелким просто организованным вирусам. Диаметр вируса — около 30 нм. Вирион состоит из икосаэдрического капсида, окружающего инфекционную однонитевую плюс-РНК с протеином VPg.

Капсид состоит из 12 пятиугольников (пентамеров), каждый из которых, в свою очередь, состоит из пяти белковых субъединиц — протомеров. Протомеры образованы четырьмя вирусными полипептидами: VP1, VP2, VP3, VP4.

**Репродукция** пикорнавирусов происходит в цитоплазме клеток и сопровождается цитопатическим действием. В культуре клеток под агаровым покрытием вирусы образуют бляшки.

**Энтеровирусы** (от греч. *enteron* — кишка) — группа вирусов, обитающая преимущественно в кишечнике человека и вызывающая у него разнообразные по клиническим проявлениям болезни.

Энтеровирусы — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*. Род включает вирусы полиомиелита, Коксаки А и В (по названию населенного пункта в США, где они были впервые выделены), ЕСНО (аббревиатура от англ. Enteric cytopathogenic human orphan viruses — кишечные цито- патогенные человеческие вирусы-сироты), энтеровирусы серотипов 68, 69, 70, 71 и др. В настоящее время имеются другие варианты классификации рода *Enterovirus*: например, энтеровирусы человека представлены видами энтеровируса А, В, С и D, состоящими из серотипов.

**Структура и антигенные свойства.** Энтеровирусы — мелкие и наиболее просто организованные вирусы, имеют сферическую форму, диаметр 20–30 нм, состоят из одноцепочечной плюс-нитевой РНК и капсида с кубическим типом симметрии. Вирусы не имеют липопротеиновой оболочки. В их составе нет углеводов и липидов, поэтому они нечувствительны к эфиру и другим растворителям жира. Энтеровирусы имеют общие для всего рода группо- и типоспецифические антигены.

**Культивирование.** Большинство энтеровирусов (за исключением вируса Коксаки А) хорошо репродуцируется в первичных и перевиваемых культурах клеток из тканей человека и сопровождается цитопатическим эффектом. В культурах клеток под агаровым покрытием энтеровирусы образуют бляшки.

**Резистентность.** Энтеровирусы устойчивы к факторам окружающей среды в широком диапазоне рН — от 2,5 до 11, поэтому они длительно (месяцами) сохраняются в воде, почве, некоторых пищевых продуктах и на предметах обихода. Многие дезинфектанты (спирт, фенол, поверхностно-активные вещества) малоэффективны в отношении энтеровирусов, однако последние погибают

при высушивании, действии УФ-лучей, окислителей, формалина, температуре  $-50^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин, а при кипячении — в течение нескольких секунд.

**Эпидемиология и патогенез.** Заболевания, вызываемые энтеровирусами, распространены повсеместно, отличаются массовым характером с преимущественным поражением детей.

Источником инфекции являются больные и носители. Из организма больного возбудители выделяются с носоглоточной слизью и фекалиями, из организма вирусоносителя — с фекалиями. Энтеровирусы передаются через воду, почву, пищевые продукты, предметы обихода, загрязненные руки, через мух.

Водные и пищевые эпидемические вспышки энтеровирусных инфекций регистрируются в течение всего года, но наиболее часто в летние месяцы. В первые 1–2 нед. болезни энтеровирусы выделяются из носоглотки, обуславливая воздушно-капельный путь передачи.

Возбудители инфекции проникают в организм человека через слизистые оболочки носоглотки и тонкой кишки, размножаются в их эпителиальных клетках и регионарных лимфатических узлах, затем попадают в кровь. Последующее распространение вирусов определяется их свойствами и состоянием больного.

**Клиника.** Энтеровирусы вызывают заболевания, характеризующиеся многообразием клинических проявлений, так как могут поражать различные органы и ткани: ЦНС (полиомиелит, полиомиелитоподобные заболевания (миалгия, миокардит), органы дыхания (острые респираторные заболевания), пищеварительный тракт (гастроэнтерит, диарея), кожные и слизистые покровы (конъюнктивит, лихорадочные заболевания с сыпью и без нее) и др.

**Иммунитет.** После перенесенной энтеровирусной инфекции формируется стойкий, но типоспецифический иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Методы диагностики — вирусологический и серологический с парными сыворотками больного. Вирусы выделяют из носоглоточной слизи в первые дни болезни, из кала, цереброспинальной жидкости. У погибших больных вирусы выделяют из пораженных органов. При серодиагностике характерно нарастание титров антител к энтеровирусам в 4 раза и более с 4–5-го до 14-го дня болезни.

**Лечение** патогенетическое. Применяют препараты интерферона в первые дни заболевания и другие противовирусные препараты.

**Профилактика.** Для профилактики энтеровирусных инфекций (за исключением полиомиелита) специфические средства не применяют. Большое значение имеет неспецифическая профилактика: своевременное выявление и изоляция больных, санитарный надзор за работой пищевых предприятий, водоснабжением, удалением нечистот и отходов. Детям, общавшимся с больными, рекомендуют интерфероновые препараты.

**Полиомиелит** — острое лихорадочное заболевание, которое иногда сопровождается поражением серого вещества (от греч. *polios* — серый) спинного мозга и ствола головного мозга, в результате чего развиваются вялые параличи и парезы мышц ног, туловища, рук.

**Структура и антигенные свойства.** Различают три серотипа полиовирусов: 1, 2, 3, не вызывающие перекрестного иммунитета. Все серотипы патогенны для обезьян, у которых возникает заболевание, сходное по клиническим проявлениям с полиомиелитом человека.

**Патогенез и клиника.** Естественная восприимчивость человека к вирусам полиомиелита высокая. Входными воротами служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей и пищеварительного тракта. Первичная репродукция вирусов происходит в лимфатических узлах глоточного кольца и тонкой кишки. Это обуславливает обильное выделение вирусов из носоглотки и с фекалиями еще до появления клинических симптомов болезни. Из лимфатической системы вирусы проникают в кровь (виремия), а затем в ЦНС, где избирательно поражают клетки передних рогов спинного мозга (двигательные нейроны). В результате этого возникают параличи мышц. В случае накопления в крови вируснейтрализующих антител, блокирующих проникновение вируса в ЦНС, ее поражения не наблюдается.

Инкубационный период продолжается в среднем 7–14 дней. Различают три клинические формы полиомиелита: паралитическую (1% случаев), менингеальную (без параличей), abortивную

(легкая форма). Заболевание начинается с повышения температуры тела, общего недомогания, головных болей, рвоты, болей в горле. Полиомиелит нередко имеет двухволновое течение, когда после легкой формы и наступившего значительного улучшения развивается тяжелая форма болезни. Паралитическую форму чаще вызывает вирус полиомиелита серотипа 1.

**Иммунитет.** После перенесенной болезни остается пожизненный типоспецифический иммунитет. Иммунитет определяется в основном наличием вируснейтрализующих антител, среди которых важная роль принадлежит местным секреторным антителам слизистой оболочки глотки и кишечника (местный иммунитет). Эффективный местный иммунитет играет важнейшую роль в прерывании передачи «диких» вирусов и способствует вытеснению их из циркуляции. Пассивный естественный иммунитет сохраняется в течение 3–5 нед. после рождения ребенка.

**Микробиологическая диагностика.** Материалом для исследования служат кал, отделяемое носоглотки, при летальных исходах — кусочки головного и спинного мозга, лимфатические узлы.

Вирусы полиомиелита выделяют путем заражения исследуемым материалом первичных и перевиваемых культур клеток. О репродукции вирусов судят по цитопатическому действию. Идентифицируют (типировать) выделенный вирус с помощью типоспецифических сывороток в реакции нейтрализации в культуре клеток. Важное значение имеет внутривидовая дифференциация вирусов, которая позволяет отличить «дикие» патогенные штаммы от вакцинных штаммов, выделяющихся от людей, иммунизированных живой полиомиелитной вакциной. Различия между «дикими» и вакцинными штаммами выявляют с помощью ИФА, реакции нейтрализации цитопатического действия вируса в культуре клеток со штаммоспецифической иммунной сывороткой, а также ПЦР.

Серологический метод основан на использовании парных сывороток больных с применением эталонных штаммов вируса в качестве диагностикума. Содержание сывороточных иммуноглобулинов классов IgG, IgA, IgM определяют методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

**Лечение.** Патогенетическое. Применение гомологичного иммуноглобулина для предупреждения развития паралитических форм весьма ограничено.

**Эпидемиология и специфическая профилактика.** Основной мерой профилактики полиомиелита является иммунизация. Массовое применение вакцины против полиомиелита привело к резкому снижению заболеваемости. Первая инактивированная вакцина для профилактики полиомиелита была разработана американским ученым Дж. Солком в 1953 г. Однако парентеральная вакцинация этим препаратом создавала лишь общий гуморальный иммунитет, не формировала местной резистентности слизистых оболочек ЖКТ и не обеспечивала надежной специфической защиты.

Естественно аттенуированные штаммы вирусов полиомиелита всех трех типов получил в 1956 г. А. Сэбин, а в 1958 г. М.П. Чумаков и А.А. Смородинцев разработали первую пероральную живую культуральную вакцину из трех серотипов штаммов Сэбина. Вакцину используют для массовой иммунизации детей, она создает стойкий общий и местный иммунитет.

У живой полиомиелитной вакцины имеются некоторые недостатки, наиболее серьезным из которых является возникновение случаев вакциноассоциированного полиомиелита у привитых и у контактных лиц, инфицированных вирусами, выделяемыми привитыми детьми. Контактное инфицирование происходит обычно вирусом одного серотипа.

Неспецифическая профилактика сводится к санитарно-гигиеническим мероприятиям: обеспечение населения доброкачественными водой, пищевыми продуктами, соблюдение личной гигиены; выявление больных и подозрительных на заболевание.

**Вирусы Коксаки** — РНК-содержащие вирусы семейства Picornaviridae рода Enterovirus. Вирусы названы по населенному пункту в США, где они были впервые выделены. По патогенности для новорожденных мышей вирусы разделены на группы А и В (более 30 серотипов): вирусы Коксаки А вызывают диффузный миозит и очаговый некроз поперечно-полосатых мышц; вирусы Коксаки В — поражение ЦНС, развитие параличей, некроз скелетной мускулатуры и иногда миокарда и др.

Вирусы Коксаки А вызывают у человека герпангину (герпетиформные высыпания на задней стенке глотки, дисфагия, лихорадка), пузырчатку в полости рта и конечностей, полиомиелитоподобные заболевания, диарею у детей; возможна сыпь.

Вирусы Коксаки В вызывают полиомиелитоподобные заболевания, энцефалит, миокардит, плевродинию (болезненные приступы в области груди, лихорадка, иногда плеврит).

**Микробиологическая диагностика.** Вирусологический метод: вирус выделяют из фекалий, отделяемого носоглотки, заражают культуры клеток HeLa, почек обезьян (Коксаки В, отдельные серотипы Коксаки А) или мышей-сосунков. Учитывают характер патологических изменений у зараженных мышей. Вирусы идентифицируют с помощью РТГА, РСК, РН, ИФА.

**Вирусы группы ЕСНО** —вызывают ОРВИ, асептический менингит, полиомиелитоподобные заболевания; возможна сыпь.

**Микробиологическая диагностика.** Вирусологический метод: вирус выделяют из цереброспинальной жидкости, фекалий, отделяемого носоглотки; заражают культуры клеток почек обезьян. Вирусы идентифицируют с помощью РТГА, РСК, РН, ИФА. Серологический метод: в сыворотке крови выявляют нарастание титра антител, используя РТГА, РСК, РН, ИФА.

**Ротавирусы (род *Rotavirus*)** человека вызывают острый гастроэнтерит детей. Это РНК-содержащие вирусы семейства Reoviridae рода Rotavirus. Свое название получили из-за строения вириона, напоминающего зубчатое колесо (от лат. rota — колесо).

**Структура.** Вирион ротавирусов сферический (диаметр 80 нм), содержит двунитевую (плюс- и минус-нити) фрагментированную (11 сегментов) РНК. Трехслойный капсид имеет форму колеса с отходящими внутрь «спицами». Вирион имеет 12 белков. Внутренний капсид ротавирусов содержит VP-2, а промежуточный капсид — VP-6. Наружный капсид включает: 1) белки VP-4 (шипы, выступающие на вирионе, являющиеся гемагглютинином и прикрепительным белком); 2) белок VP-7 — основной компонент наружного капсида (типоспецифический антиген). VP-4 может расщепляться на VP-5 и VP-8, что активизирует инфекционность вируса. Имеются неструктурные белки: NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5, NSP6, из которых NSP4 — первый известный вирусный энтеротоксин, который вызывает секреторную диарею.

**Антигенные свойства.** По антигенной структуре различают семь серогрупп (А, В, С, D, E, F, G). У человека и животных обнаружены серогруппы А, В и С, а остальные — только у животных.

**Репродукция.** Ротавирус прикрепляется к клетке-мишени, связываясь с поверхностными сиаловыми кислотами через VP8 (образуется расщеплением VP4 на VP5 и VP8) вирионных шипов. После репродукции и сборки в цитоплазме вирионы выходят в результате лизиса вирусинфицированной клетки.

**Резистентность.** Ротавирусы устойчивы к факторам окружающей среды.

**Эпидемиология, патогенез и клиника.** Источник инфекции — больные или вирусоносители, выделяющие ротавирусы с фекалиями (фекально-оральный механизм передачи). Пути передачи — водный (основной), пищевой, контактно-бытовой. Инкубационный период 1–3 суток. Ротавирусы распространены повсеместно, вызывают гастроэнтериты, главным образом у детей (часто в возрасте от 6 мес. до 2 лет); являются причиной смерти около миллиона людей из-за диареи. Размножаются в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки, вызывая их гибель. Заболевание протекает с рвотой, болями в животе и диареей в течение 1–2 суток. Частота стула 10–15 раз в сутки. Секреторная диарея обусловлена действием вирусного неструктурного белка NSP4 (энтеротоксин).

**Микробиологическая диагностика.** 1. Вирус обнаруживают в фильтрате фекалий (на 3–8-й неделе болезни) с помощью иммунной электронной микроскопии, ИФА, иммунодиффузионной преципитации в агаре, РСК, РН, РИФ, реакции коаггутинации, клонированных РНК-зондов. 2. Серологический метод: в сыворотке крови определяют нарастание титра антител с помощью ИФА, РСК, РПГА, РН, РИФ. 3. Молекулярно-генетический метод: ОТ-ПЦР.

**Лечение** симптоматическое.

**Профилактика.** Основой неспецифической профилактики является соблюдение санитарно-гигиенических правил, санитарных норм водоснабжения и канализации. Для специфической профилактики разработаны живые пероральные вакцины из аттенуированных штаммов вируса.