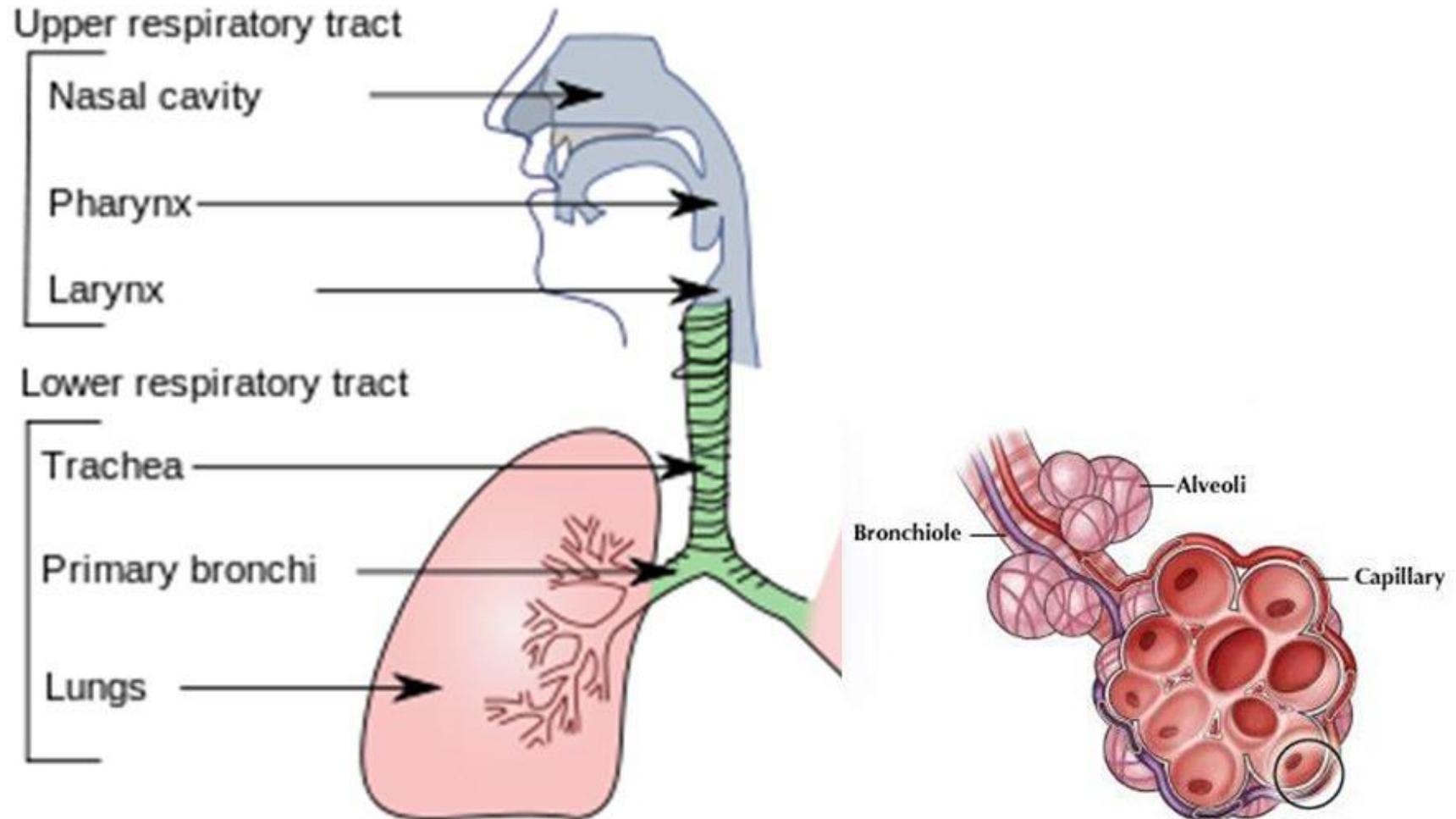


Занятие 20

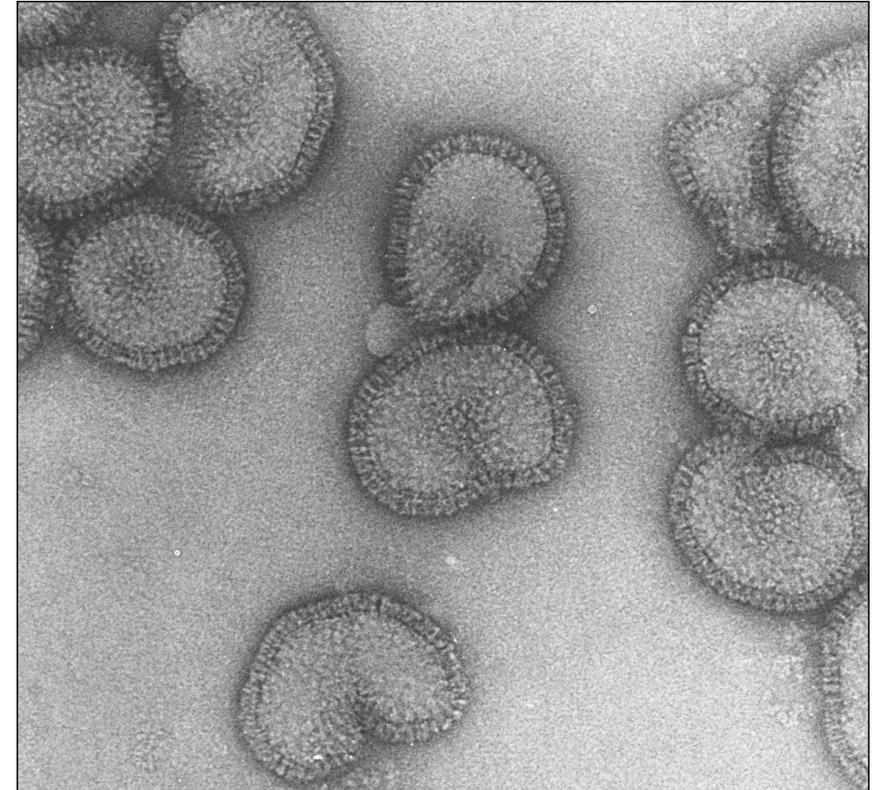
**Введение в частную вирусологию.
Микробиологическая диагностика острых
респираторных вирусных инфекций
Микробиологическая диагностика инфекций,
вызываемых *Roxviridae*.**

Верхние и нижние дыхательные пути



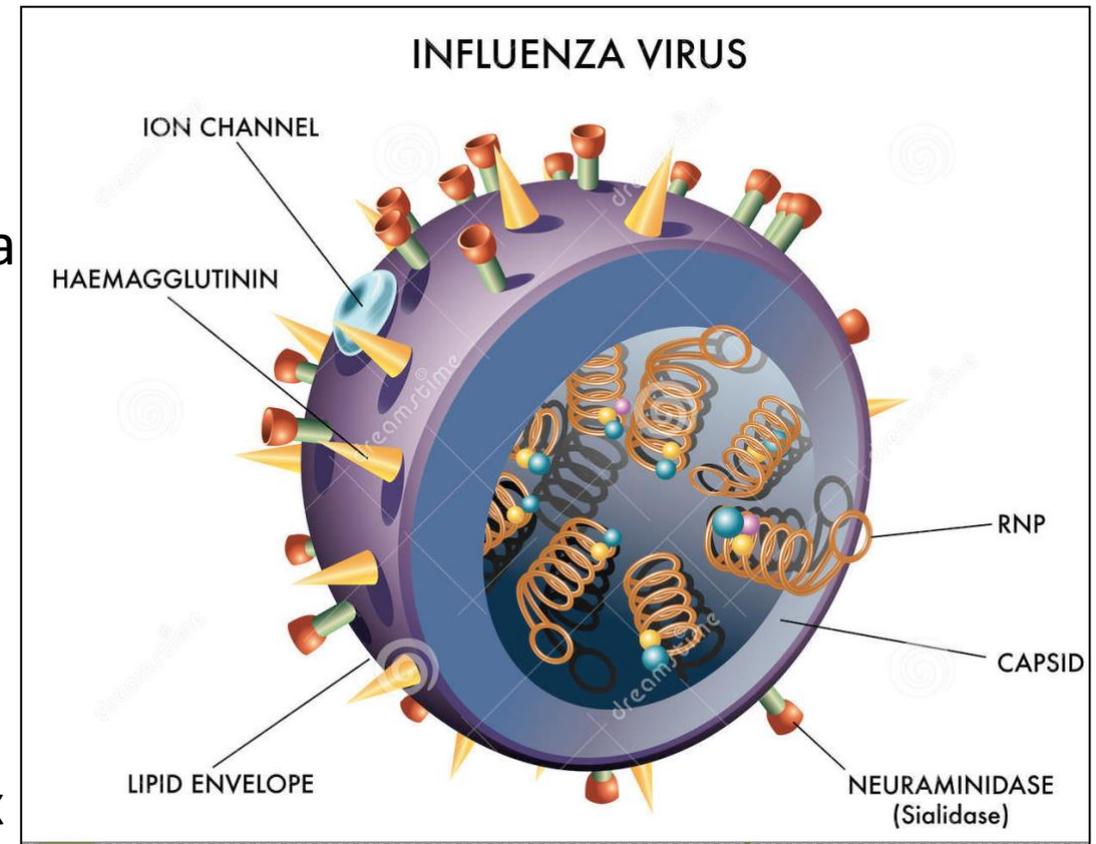
Семейство *Ortomyxoviridae* (вирус гриппа)

- Ортомиксовирусы (семейство *Ortomyxoviridae*) –это РНК-содержащие сложноорганизованные вирусы, вызывают в основном заболевания респираторного тракта, т.к. обладают высоким тропизмом к эпителию дыхательных путей(от греч. *orthos* – прямой; *муха* - слизь) .
- Семейство включает в себя род *Influenzavirus* , в который входят вирусы гриппа.



Вирус гриппа (структура)

- Вирион имеет сферическую форму, но могут встречаться нитевидные формы. Диаметр вирусной частицы приблизительно 100 – 120 нм.
- В центре сложноорганизованного вириона расположен нуклеокапсид, имеющий спиральный тип симметрии. Кроме рибонуклеопротеина, в состав нуклеокапсида входят три белка (Р1, Р2 и Р3), которые являются ферментами.
- Геном вирусов гриппа представляет собой спираль однонитевой сегментированной минус-нитевой РНК. Вирусы гриппа А и В имеют 8 сегментов, вирус типа С – 7. Нуклеокапсид окружен слоем матричных (M_1) и мембранных (M_2) белков.

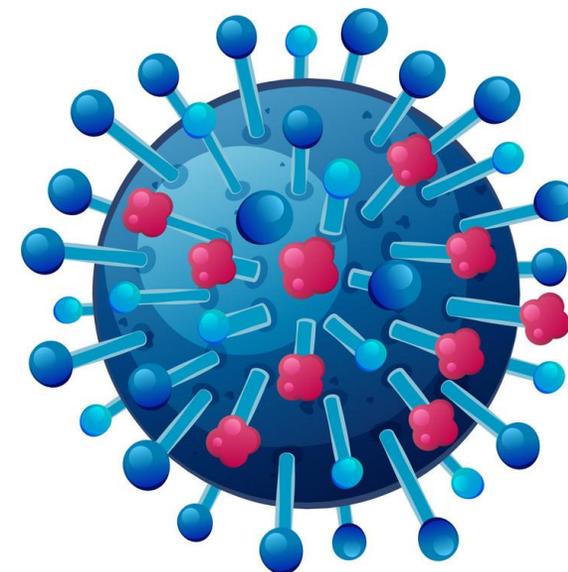


Вирус гриппа (структура)

- Вирион снаружи покрыт липопротеиновой оболочкой. Она несет на своей поверхности гликопротеиновые шипы. Шипы образованы двумя сложными белками -гликопротеинами : гемагглютинином (H) и нейраминидазой (N). У вирусов типа С нейраминидазы нет .
- **Гемагглютинин** обладает способностью агглютинировать эритроциты, является тримером , т.е. состоит из 3 молекул белка , соединенных вместе. На поверхности каждого белка есть специальные области для связывания вируса с клеткой хозяина. Антитела к гемагглютинуину обеспечивают защитный эффект.
- **Нейраминидаза** является тетрамером , состоящим из 4 идентичных мономеров.Каждый мономер на поверхности имеет активный центр, обладающий каталитической активностью. Нейраминидаза – фермент сиалидаза , отщепляя сиаловую кислоту участвует в выходе из клетки новых вирионов (препятствует агрегации вирионов) . Кроме того , она снижает вязкость секретов , облегчая проникновение вируса в нижние отделы респираторного тракта .
- Оба гликопротеина обуславливают проникновение вируса в клетку хозяина .

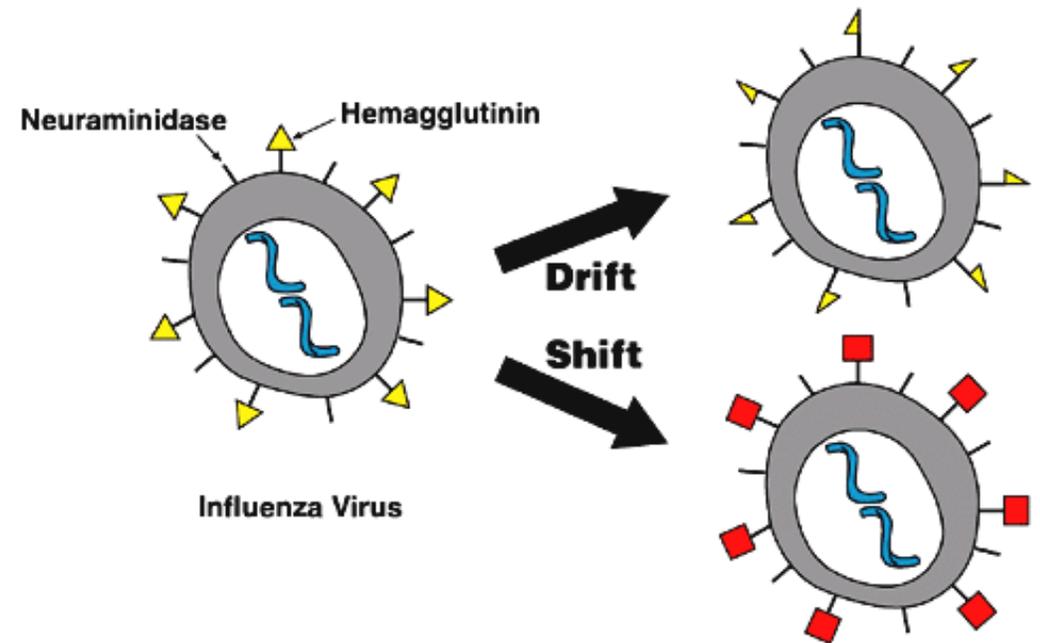
Вирусы гриппа

- **Классификация и номенклатура** . Серотипы вируса гриппа А, В и С отличаются по антигенной структуре нуклеокапсида и матричного (М) белка . Поверхностные Н и N гликопротеины вируса обладают антигенной изменчивостью и образуют подтипы. В настоящее время известно 15 подтипов гемагглютинаина (Н1, Н2, Н3 и др.) и 9 подтипов нейраминидазы (N1, N2, N3 и др .) . Комбинация двух гликопротеинов вируса способствует образованию новых субтипов (н-р, Н1N1, Н5N10).
- Вирус гриппа А имеет несколько подтипов. Вирус гриппа типа В обладает слабой антигенной изменчивостью , вирусы гриппа типа С – не обладают антигенной изменчивостью. В современной классификации вирусов гриппа человека принято описывать серотип , географическое происхождение , штамм , год выделения и подтипы его поверхностных антигенов - нейраминидазы (N) и гемагглютинаина (Н). Например: вирус гриппа А/Hong Kong/03/68/ Н3 N2.

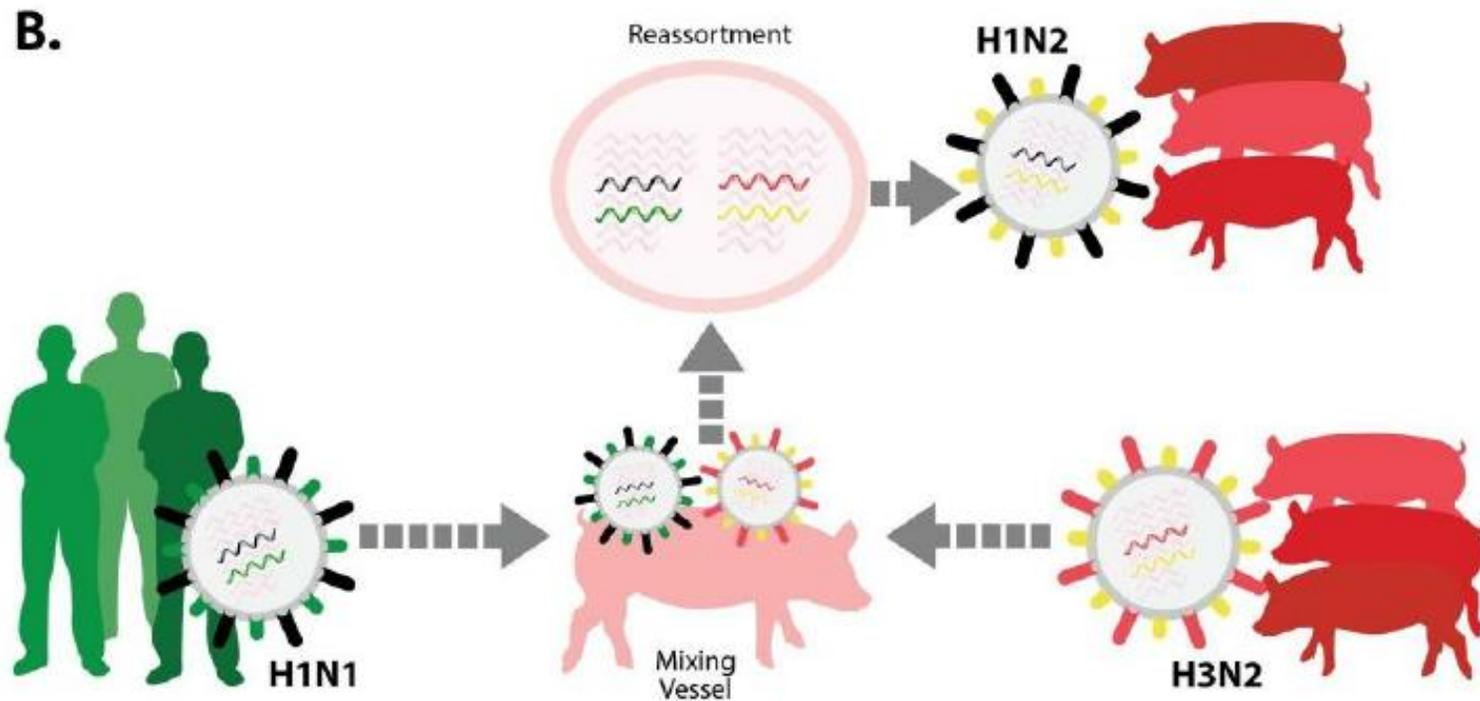
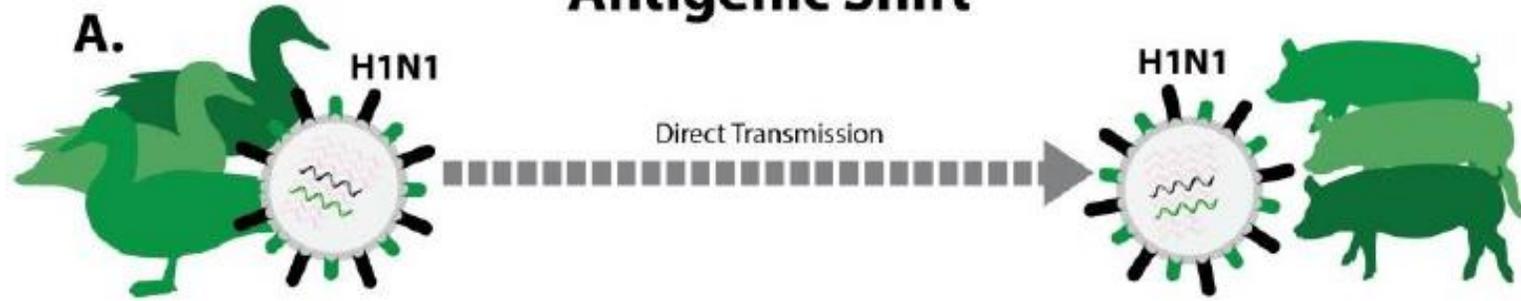


Вирус гриппа

- **Особенности антигенной изменчивости.** Структура поверхностных антигенов (H и N) вирусов серотипа А постоянно изменяется, причем изменения H-и N-антигенов происходят независимо друг от друга. Необычайная изменчивость вирусов гриппа типа А объясняется двумя процессами, которые получили названия антигенный дрейф и антигенный шифт.
- **Дрейф** происходит постоянно и обусловлен точечными мутациями в тех сайтах генома, которые отвечают за синтез и структуру антигенных детерминант гемагглютинаина и нейраминидазы. В результате в популяции вирусов постоянно появляются новые сероварианты.
- **Шифт** (от англ.- «скачок») обусловлен полной заменой гена, кодирующего гемагглютинин или нейраминидазу. В результате шифта полностью заменяется структура антигена и образуется новый подтип вируса, который становится причиной пандемии.

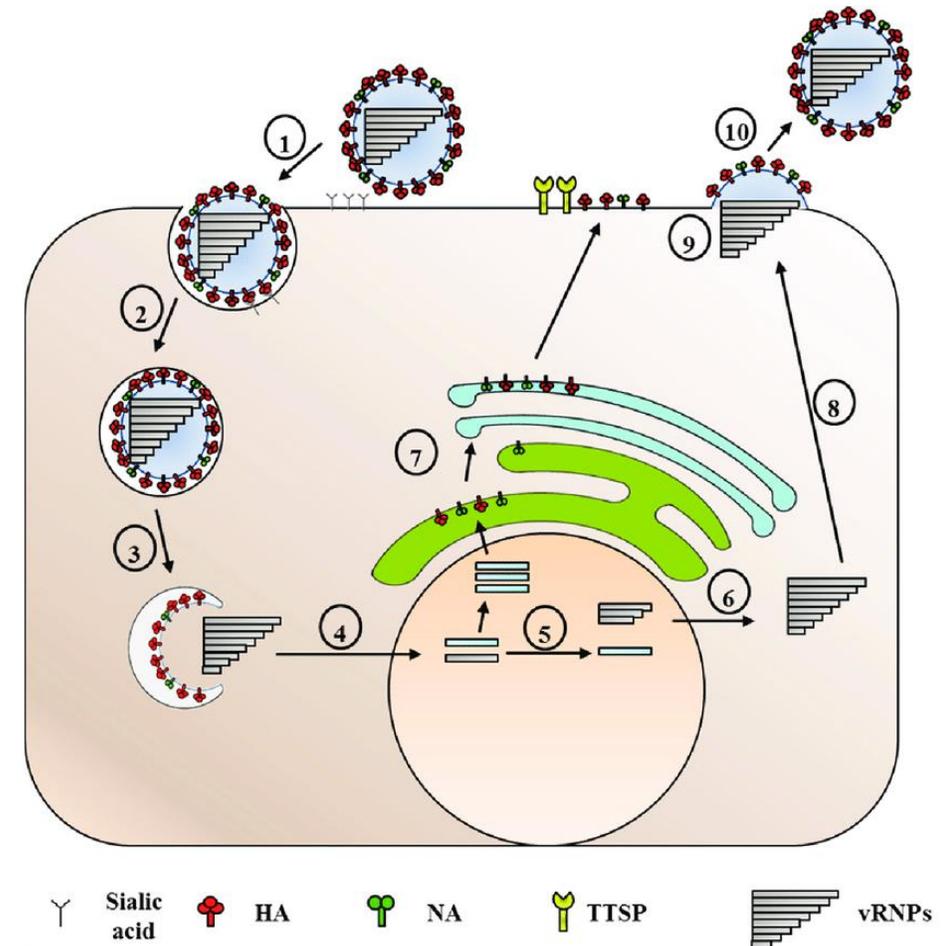


Antigenic Shift



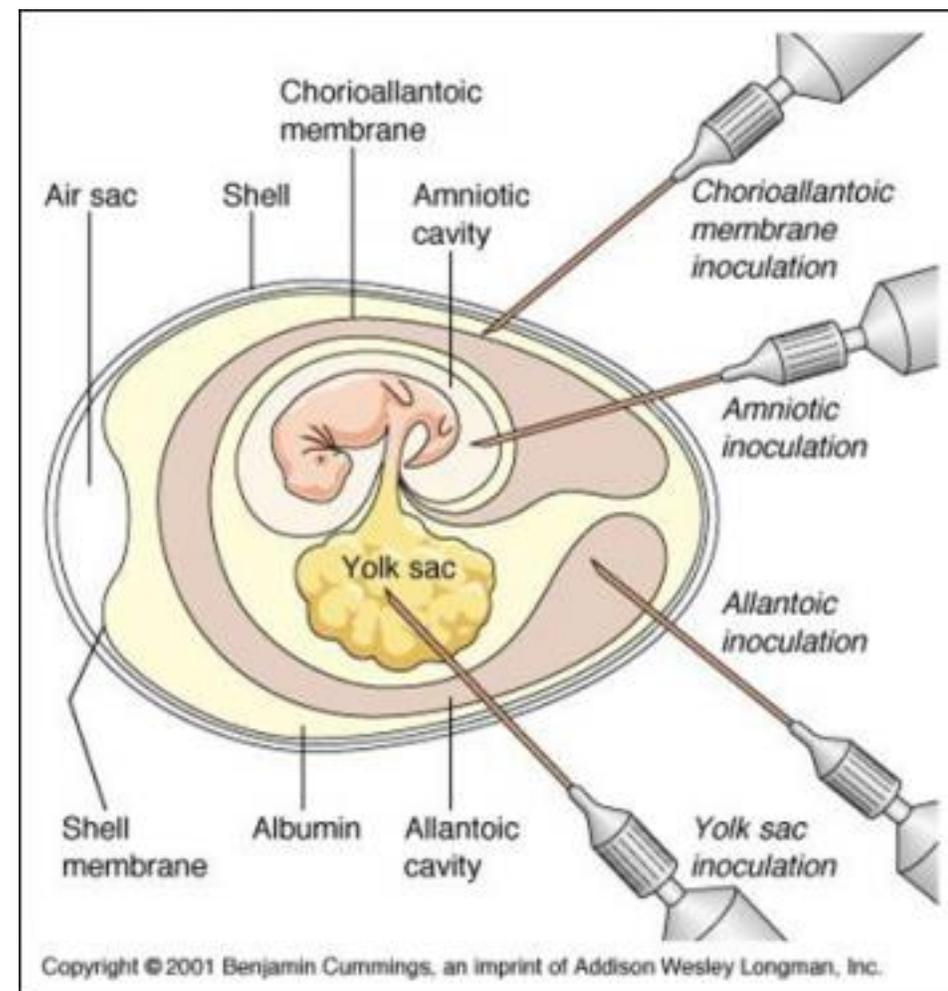
Вирус гриппа (репродукция)

- Гемагглютинины вируса связываются с рецепторами чувствительной клетки, в результате чего вирус проходит внутрь клетки путем эндоцитоза
- В клетке происходит частичная депротеинизация вириона и сердцевина вириона транспортируется к ядру клетки. Репликация вирусного генома происходит в ядре.
- Синтезированная в результате транскрипции мРНК транспортируется в цитоплазму, где и кодирует синтез соответствующих вирусных белков на рибосомах.
- Формирование вирусных частиц происходит на клеточных мембранах, в которые к этому времени уже встроены гемагглютинин и нейраминидаза.
- Выход вируса из клетки происходит путем «почкования», что типично для оболочечных вирусов.



Вирус гриппа (культивирование)

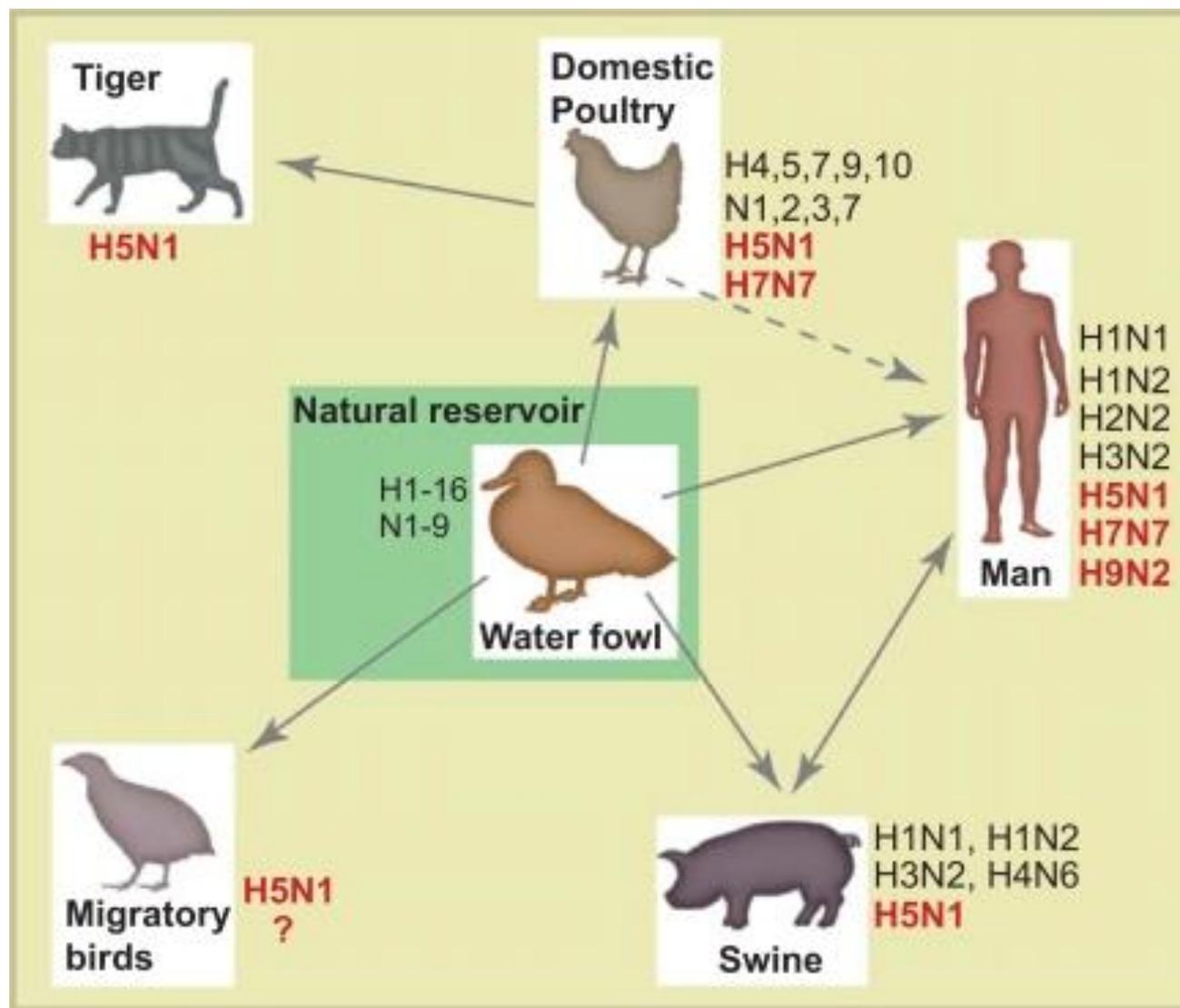
- Оптимальной лабораторной моделью для культивирования многих штаммов вируса гриппа является куриный эмбрион .
- Для культивирования вирусов используют культуры клеток (первичные культуры почек обезьян и собак) и лабораторные животные



Источник инфекции и пути передачи

- Источником инфекции является больной человек , иногда птицы и животные. Люди очень восприимчивы к вирусам гриппа. Основной путь передачи – воздушно-капельный (при кашле, чихании, разговоре).
- Периодически вирусы гриппа типа А вызывают пандемии. Юго-Восточная Азия (Китай) является эпицентром возникновения новых пандемических штаммов вируса типа А . Высокая плотность населения, тесный контакт с домашними животными и птицами создают условия для рекомбинации вирусов человека и животных.
- В конце 2005 г. произошла пандемия гриппа , вызванная вирусом гриппа А (подтип H5N1), известная как **«птичий грипп»**. Пандемия в 2009 году была вызвана подтипом H1N1 , получивший название **«свиной грипп»**.

Вирус гриппа (экология)

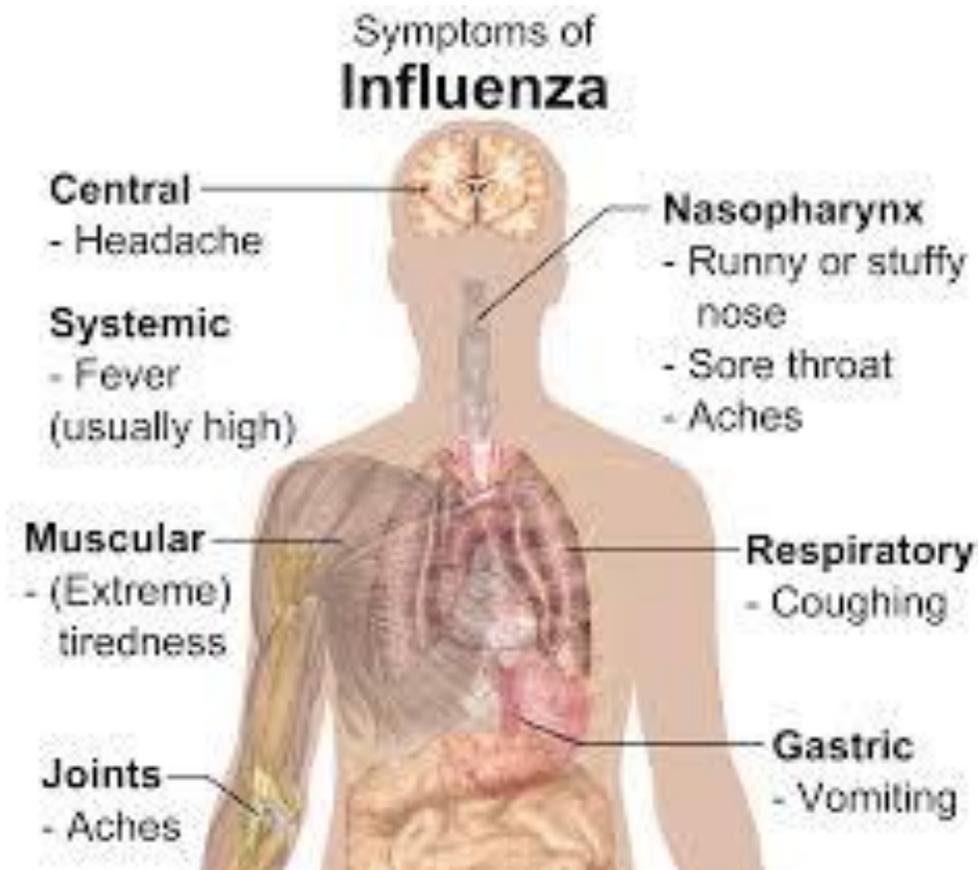


Патогенез гриппа

- Первичная репродукция вирусов происходит в клетках эпителия респираторного тракта (иногда в альвеолах легких) .
- Развивается воспаление, отек, набухание базальной мембраны и происходит десквамация клеток поверхностного эпителия.
- Повреждение клеток эпителия респираторного тракта предрасполагает к развитию вторичной бактериальной инфекции, обычно вызванной стафилококками , стрептококками (пневмококками) и гемофильными бактериями.
- Вирусы редко проникает в кровоток.
- При гриппе также развивается транзиторный вторичный иммунодефицит, что предрасполагает к развитию вторичной бактериальной инфекции. Вторичная бактериальная пневмония – частая причина смерти.
- Некоторые подтипы вирусов гриппа могут проникать сразу в альвеолы и вызывать развитие первичной острой пневмонии (атипичная пневмония) . У пациентов из групп высокого риска именно она является частой причиной смерти.

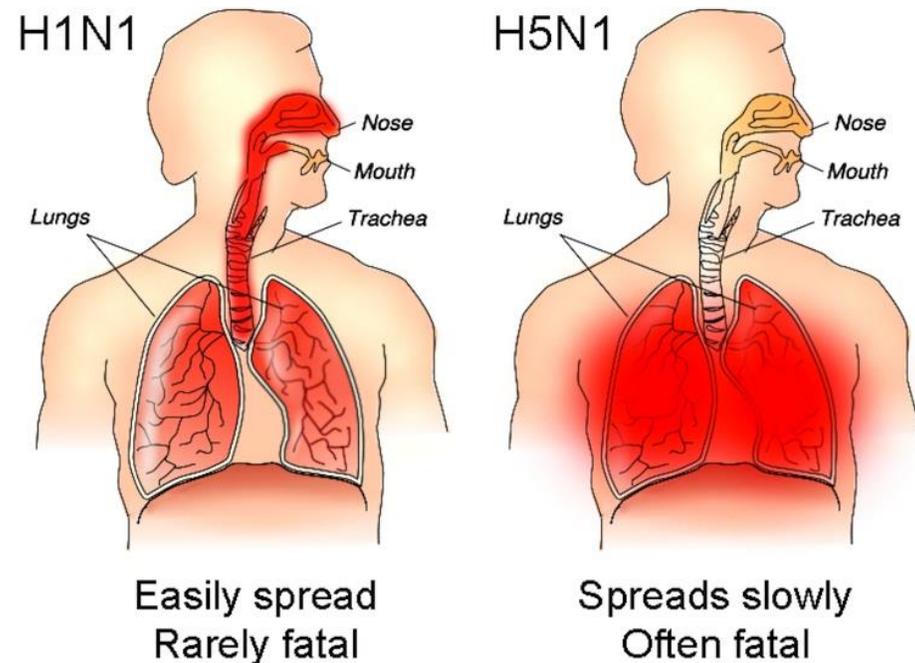
Клинические проявления гриппа

- Инкубационный период гриппа составляет 1-4 дня.
- **Неосложненный грипп.** Заболевание начинается остро, обычно у больного наблюдается высокая лихорадка с ознобом, головная боль, суставные и мышечные боли, общая слабость. Развивается катар верхних дыхательных путей – кашель, боли за грудиной, ринит и ринорея.
- **Осложнения гриппа.** У пожилых людей с хроническими заболеваниями, с ослабленным иммунитетом, а также у беременных грипп осложняется **пневмонией**, являющейся одной из причин смертности. При гриппе возможно развитие вирусных, вторичных бактериальных а также смешанных бактериально-вирусных пневмоний. Обычно бактериальные пневмонии вызывают *S.aureus*, *S.pneumoniae* и *H.influenzae*.
- **Для синдрома Рея характерны энцефалопатия и дегенерация печени.** Это редкое, но угрожающее жизни осложнение у детей 2-16 лет, возникающее после вирусных инфекций. Летальность составляет 10-40%. Было установлено, что аспирин, назначаемый для смягчения лихорадки при вирусной инфекции, может участвовать в патогенезе синдрома Рея.



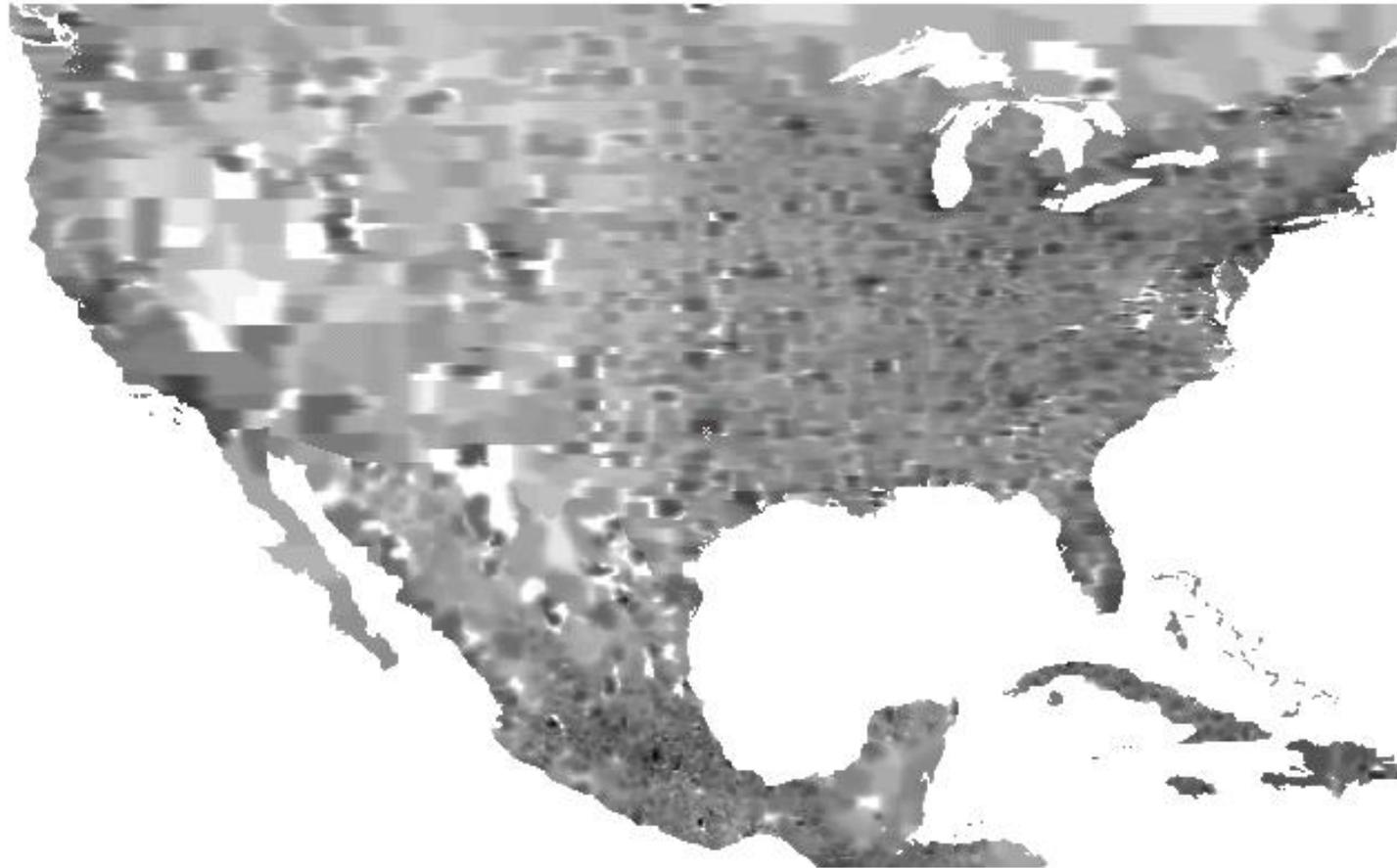
Птичий грипп

- В 1997 г. В Гонконге был зарегистрировано заболевание, вызванное **вирусом птичьего гриппа А, подтипа H5N1**. Источником инфекции стали домашние птицы. Птичий грипп может протекать как в виде бессимптомной инфекции так и в виде тяжелого заболевания с летальным исходом у некоторых птиц.
- У уток инфекция проходит бессимптомно. Вирусы, размножаясь в эпителии кишечника уток, выделяются с испражнениями в воду, где могут сохраняться в течение нескольких недель. Таким образом происходит заражение домашних птиц и свиней.
- Штаммы вирусов гриппа, вызывающие известные пандемии, это штаммы, образовавшиеся в результате генетической реассортации вирусов птичьего и человеческого гриппов. Предположительно данная реассортация может происходить в организме свиней, что является свидетельством наличия у них рецепторов как к вирусу птичьего гриппа, так и к вирусу, вызывающему грипп у людей



Эпидемиология гриппа

Week 1



Иммунитет

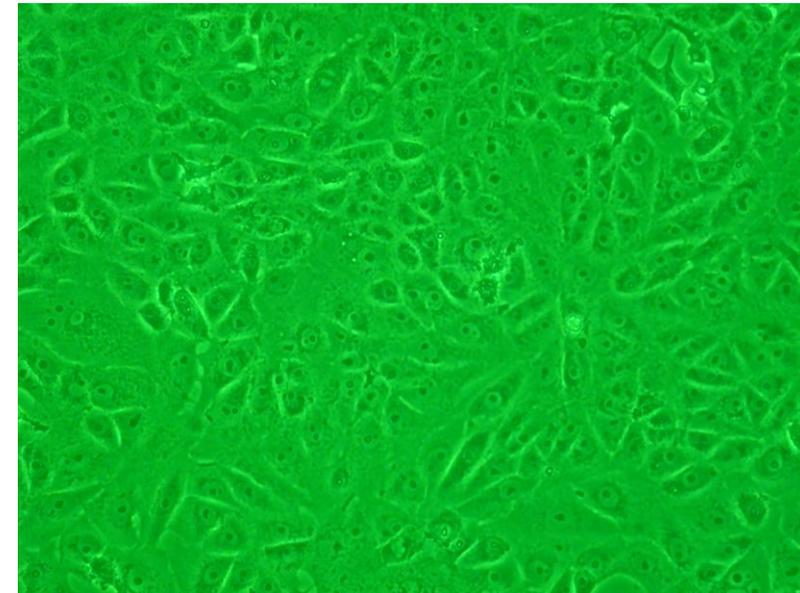
- Во время заболевания формируется длительный ***подтипоспецифический гуморальный иммунитет***. Антитела против гликопротеинов Н и N обладают протективными свойствами. Протективные вируснейтрализующие штаммоспецифические сывороточные антитела появляются на 7-8-й день болезни и достигают максимального уровня через 2-3 недели. Количество их сохраняется высоким в течение месяца, а затем постепенно снижается.
- При повторной инфекции антитела обеспечивают более легкое течение заболевания.
- Клеточный иммунитет обусловлен активностью цитотоксических Т-лимфоцитов, лизирующих зараженные вирусами клетки.

Микробиологическая диагностика (материалы для исследования)

- Диагностика гриппа базируется на выделении и идентификации вируса , определении вирусных антигенов в патологическом материале и вирусоспецифических антител в сыворотке больного.
- В первые три дня заболевания возможно выделить вирусы из отделяемого носа, глотки и зева, взятые тампоном. Иногда возможно выделение вирусов из мазков отпечатков слизистой носа.

Микробиологическая диагностика

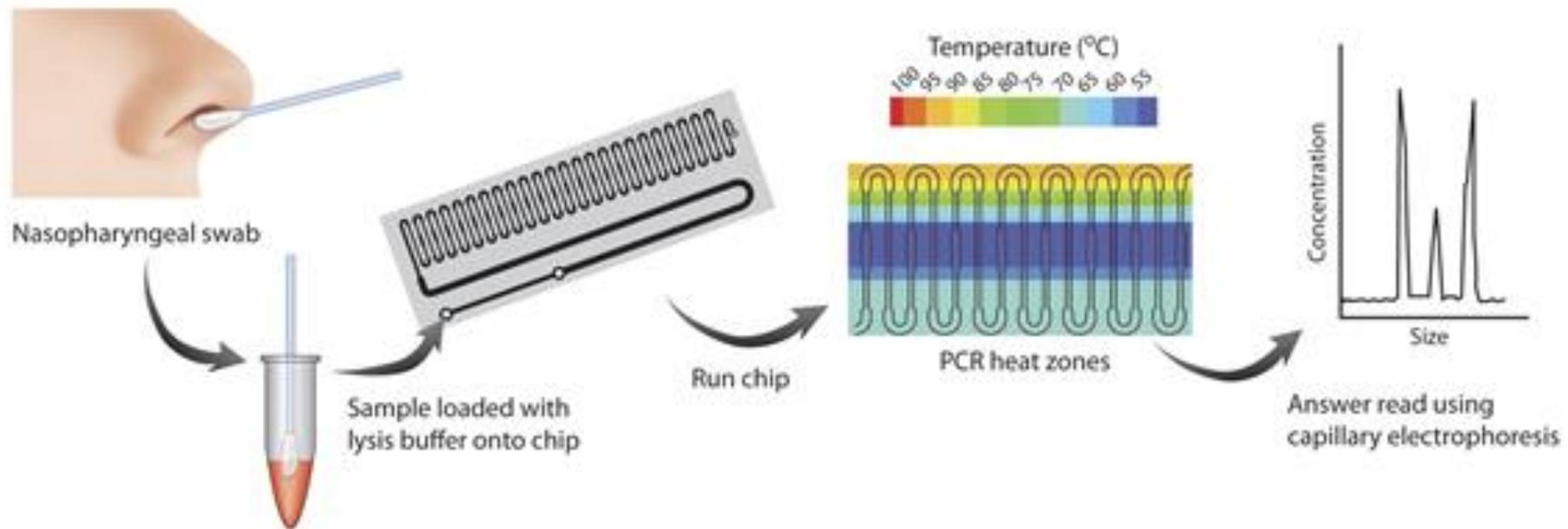
- **Вирусологический метод** . Исследуемый материал для вирусологического метода хранят при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. Замораживание вируса гриппа затрудняет процесс его обнаружения . Несмотря на это , патологический материал замораживают при температуре -70°C ,если исследование будет проводиться в более сроки(позднее 5 дней).
- **Вирусологический метод**. Для выделения вирусов гриппа используют куриные эмбрионы. После 3-5 дней культивирования в тканевых культурах вирус гриппа обнаруживают с помощью реакции гемадсорбции , через 5-7 суток в культуральной жидкости при помощи реакции гемагглютинации.
- Тип выделенного вируса определяют в РСК, подтип – в РТГА.



ЦПЭ в культуре почек обезьян

Микробиологическая диагностика

- **Экспресс-диагностика.** Обнаруживают вирусные антигены в исследуемом материале посредством РИФ (прямой и непрямой варианты). Данный метод является менее чувствительным по сравнению с вирусологическим.
- Можно обнаружить в материале геном вируса при помощи ПЦР. В 2006 году для выявления возбудителя «птичьего гриппа» (А/Н5N1) был предложен метод ПЦР в реальном времени.



Микробиологическая диагностика

- **Серологический метод.** Для первичной диагностики гриппа применяют РТГА и ИФА. Поскольку в сыворотке здоровых также могут быть обнаружены антитела к вирусу гриппа, для постановки диагноза целесообразно использовать парные сыворотки (полученные с интервалом в 14 дней)
- Диагноз ставят при четырехкратном увеличении титра антител в сыворотке больного. Метод чаще используют для ретроспективной диагностики.

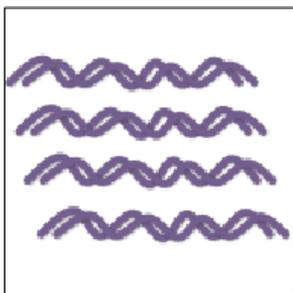
Лечение гриппа

- Для этиотропного лечения используют различные препараты. Амантадин и его аналог **ремантадин** препятствует репродукции вирусов, блокируя М-белки. Ремантадин эффективен только в отношении вируса гриппа А. Он блокирует ионные каналы белка М₂.
- Другая группа препаратов - **ингибиторы нейраминидазы** (занамивир и озельтамивир). Препараты связываются со стабильными (консервативными) участками нейраминидазы, одинаковыми у всех типов вирусов гриппа. В результате блокируется выход вирусных частиц из инфицированных клеток.
- Эти препараты используют при лечении и профилактике гриппа.

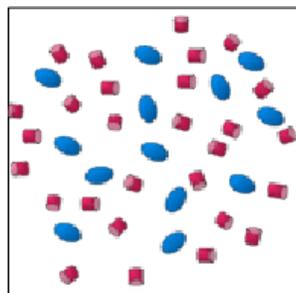
Профилактика гриппа

- Для экстренной **химиопрофилактики** во время эпидемии гриппа можно применять ремантадин .
- **Специфическая профилактика** состоит в применении вакцин . Разрешены к применению инактивированные и живые вакцины .
- **Цельновирионные вакцины** состоят из инактивированных вирусов
- **Субвирионные вакцины** содержат вирусные частички, расщепленные детергентами.
- **Вакцины из поверхностных антигенов** содержат очищенные Н- и N-гликопротеины .
- **Живые (ослабленные) вакцины**. В настоящее время получены термочувствительные мутанты вируса гриппа, которые могут реплицироваться при 25 ° С, но не при температуре тела (при 37 ° С). Такие вирусы могут реплицироваться при относительно низкой температуре (при 33 ° С) в носоглотке, но не могут реплицироваться в нижних дыхательных путях. Живые вакцины, изготовленные из таких вирусов, вводят в виде интраназальных спреев.

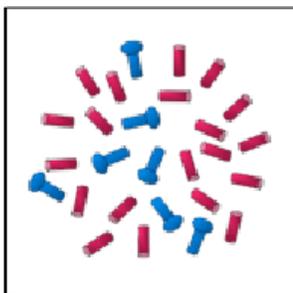
Вакцины, используемые для профилактики гриппа



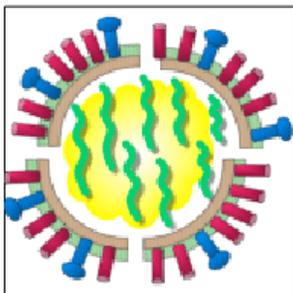
DNA



synthetic peptides

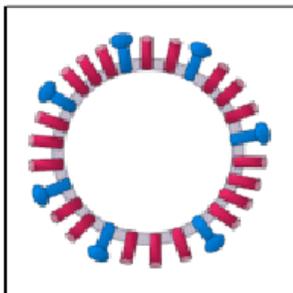


subunit

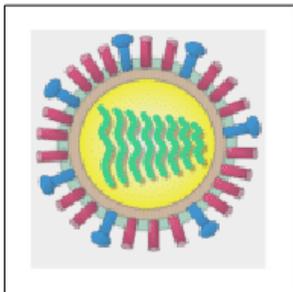


split inactivated virus

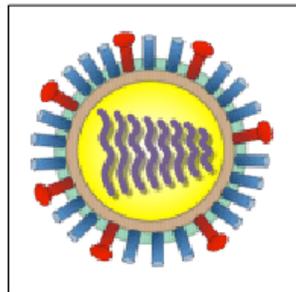
influenza virus vaccines



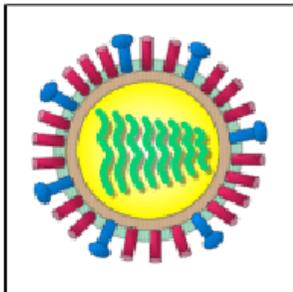
virion like particles



whole inactivated virus



live attenuated



infectious virus

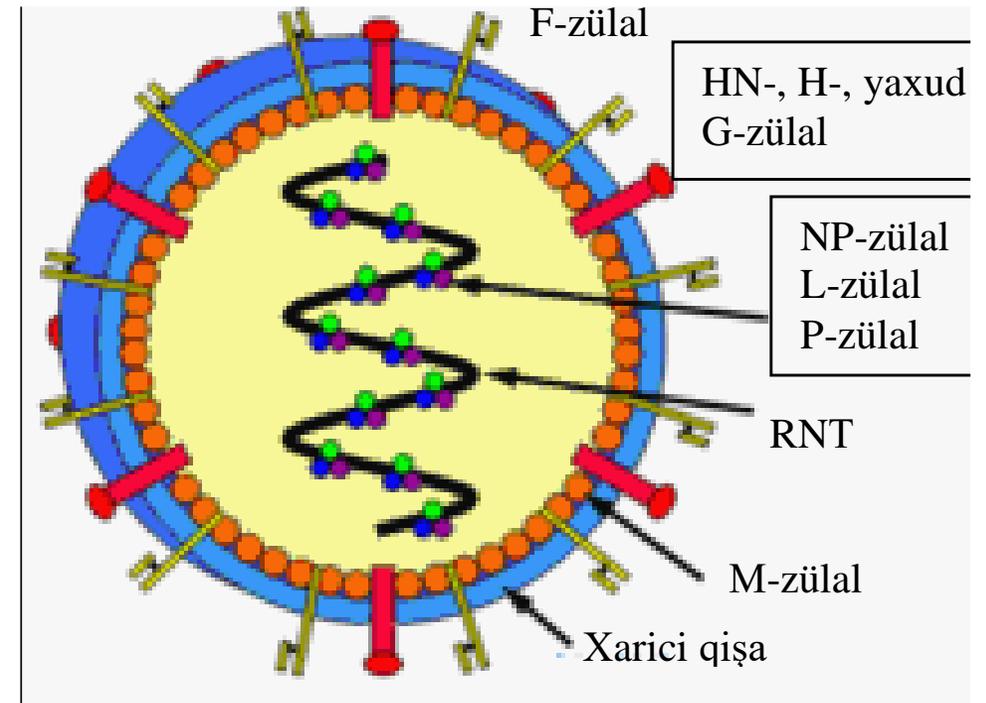


Семейство *Paramyxoviridae* (парамиксовирусы)

- *Представители семейства Paramyxoviridae* (от лат. *para* – около, *муха* – слизь) являются возбудителями респираторных вирусных инфекций.
- В семейство входят парагрипп, респираторно-синцитиальный вирус, вирусы кори и паротита.
- Репликация парамиксовирусов происходит в эпителии верхних дыхательных путей. Некоторые парамиксовирусы могут распространяться по организму вызывая диссеминированные инфекции (корь, паротит)

Парамиксовирусы

- **Структура** . Вирион парамиксовирусов окружен оболочкой , имеет диаметр 150 нм иногда до 700 нм. Обладают полиморфностью .
- Вирусный геном образует линейная однонитевая минус-РНК .С ней связаны несколько белков , образующие нуклеокапсид спиральной симметрии.
- Липидная оболочка вириона содержит 2 типа трансмембранных гликопротеиновых шипов, один из которых обладает гемагглютинирующей и/или нейраминидазной активностью(HN, или H, или G) .
- Активность гликопротеинов, участвующих в связывании вирусов с клеткой-хозяина, позволяет дифференцировать представителей рода. **HN обнаружены у вирусов парагриппа и паротита, H – у вируса кори, G – у респираторно-синцитиального вируса.**
- Другой гликопротеин – белок слияния (F – от англ. *fusion*) , вызывает слияние мембран вируса и клетки , обладает гемолитической активностью.

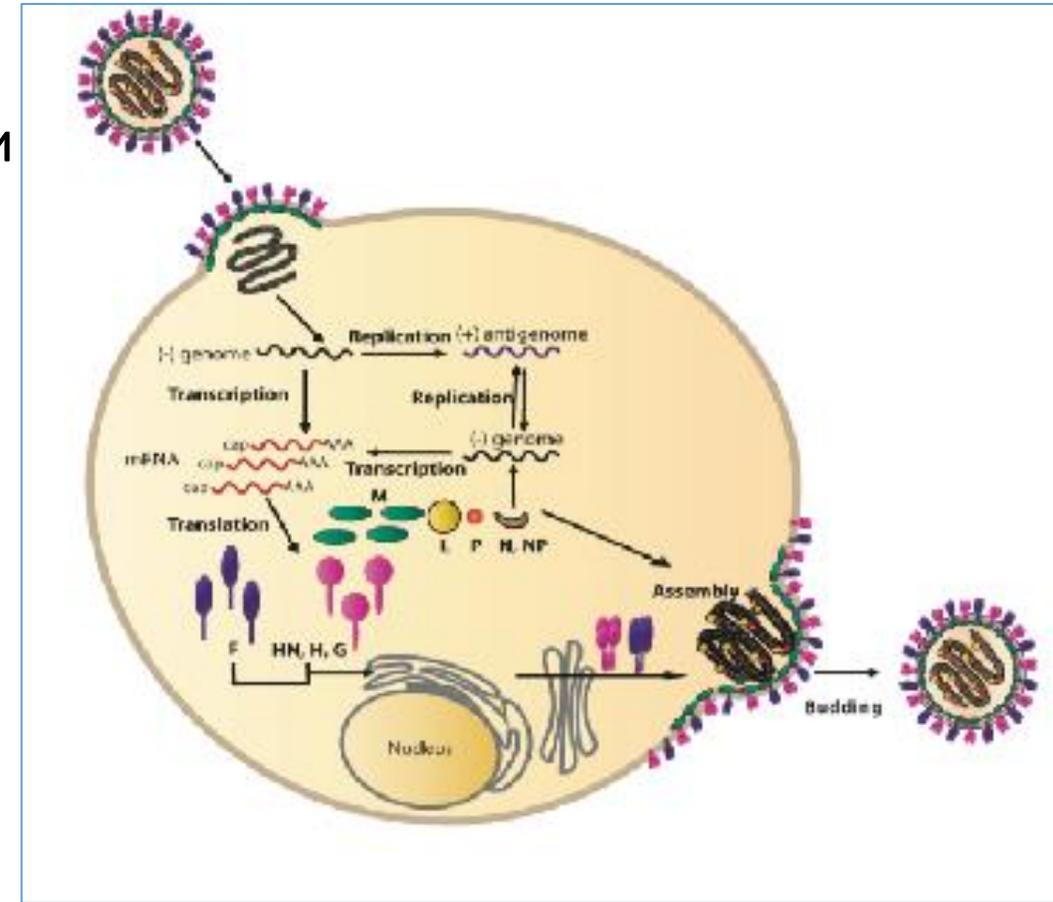


Классификация парамиксовирусов

- Семейство *Paramyxoviridae* включает два подсемейства: *Paramyxovirinae*, которое включает 5 родов – *Morbillivirus*, *Respirovirus*, *Rubulavirus*, *Avulovirus* и *Henipavirus*; и *Pneumovirinae*, которое содержит 2 рода – *Pneumovirus* и *Metapneumovirus*.
- К роду *Respirovirus* относятся вирус Сендай, вирусы парагриппа человека 1 и 3 серотипы. Вирус Сендай, вызывающие заболевания у мышей - первый изученный представитель вирусов парагриппа
- К роду *Rubulavirus* относятся вирус эпидемического паротита, вирусы парагриппа человека 2 и 4 типов
- К роду *Morbillivirus* относится вирус кори.
- К роду *Pneumovirus* относится респираторно-синцитиальный вирус (RS-вирус).
- К роду *Avulovirus* относится вирус парагриппа птиц (вирус Ньюкасл).
- К роду *Henipavirus* относятся зоонозные парамиксовирусы – вирусы Хендра и Нипах, распространенные преимущественно в Австралии. Резервуаром вирусов являются лошади и свиньи, они вызывают тяжелые энцефалиты с возможным летальным исходом.

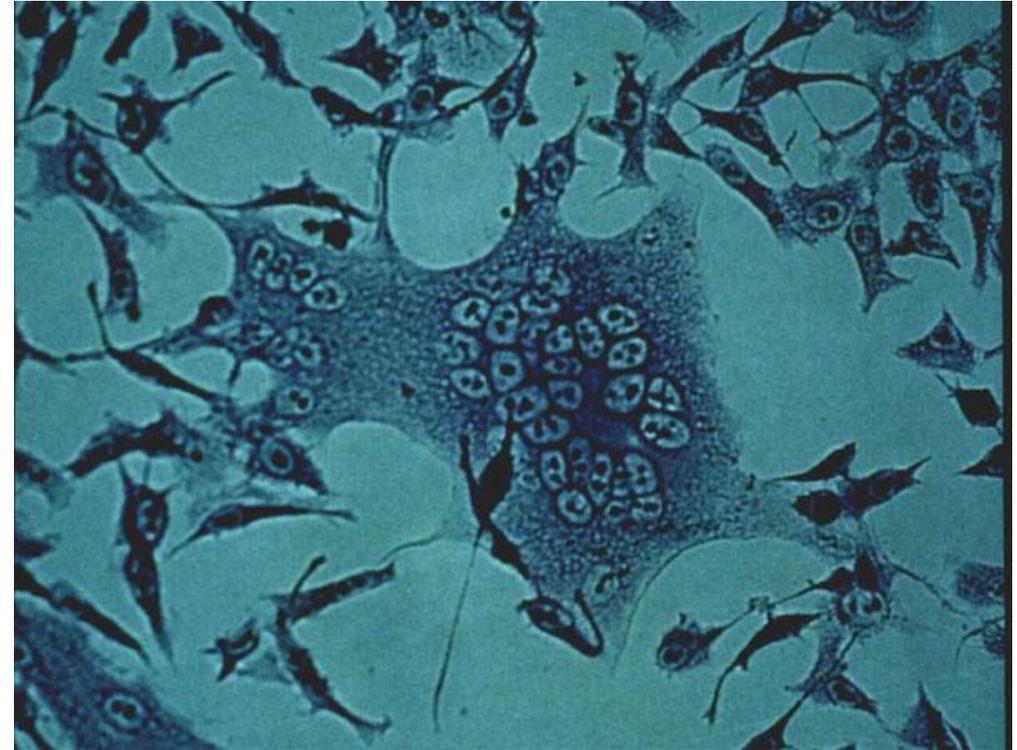
Репродукция парамиксовирусов

- Адсорбция парамиксовирусов происходит связыванием HN-, H- или G-белка оболочки вириона с сиаловой кислотой на поверхности клетки хозяина.
- Вирионы проникают в клетку без образования эндосом.
- Транскрипция, синтез белков и репликация генома происходит в цитоплазме клетки хозяина.
- Вирионы выходят из клетки почкованием.
- F₀--гликопротеины, образующиеся в результате протеолитического расщепления F-гликопротеинов под действием протеаз клетки-хозяина, образуют **синцитии**, связывая клеточные мембраны соседних клеток.



Культивирование парамиксовирусов

- Культивирование парамиксовирусов осуществляют в первичных и перевиваемых культурах клеток.
- **Цитопатический эффект** - образование синцитий (поликарионов) и цитоплазматических ацидофильных включений.

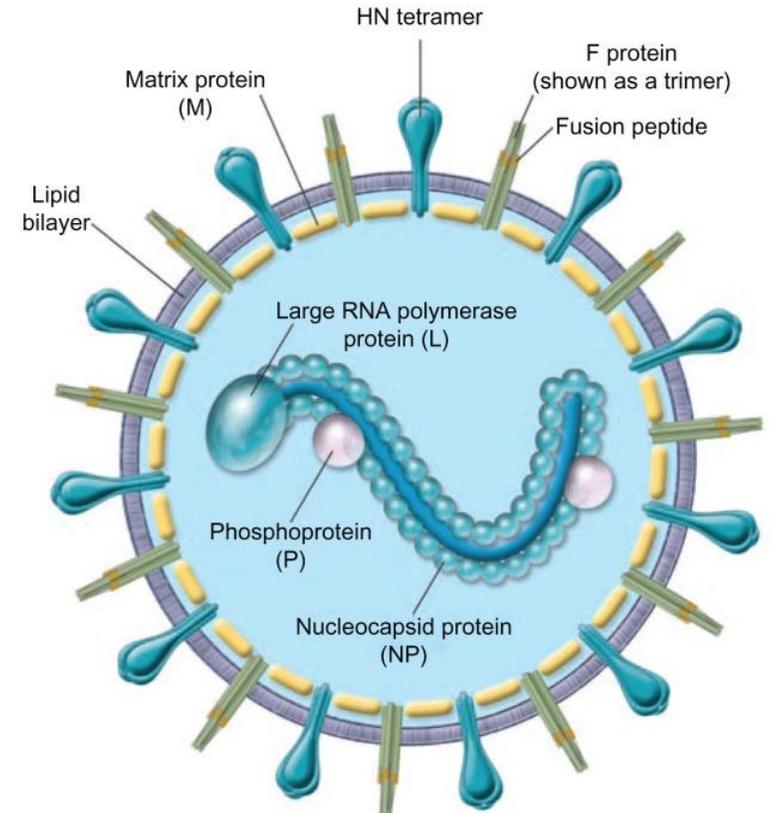


Устойчивость к условиям окружающей среды

- Парамиксовирусы относятся к наименее устойчивым вирусам.
- Они чувствительны к высокой температуре(50⁰C) ,детергентам , дезинфицирующим веществам и другим факторам.
- Отмечается большая устойчивость к низким температурам.

Вирус парагриппа.

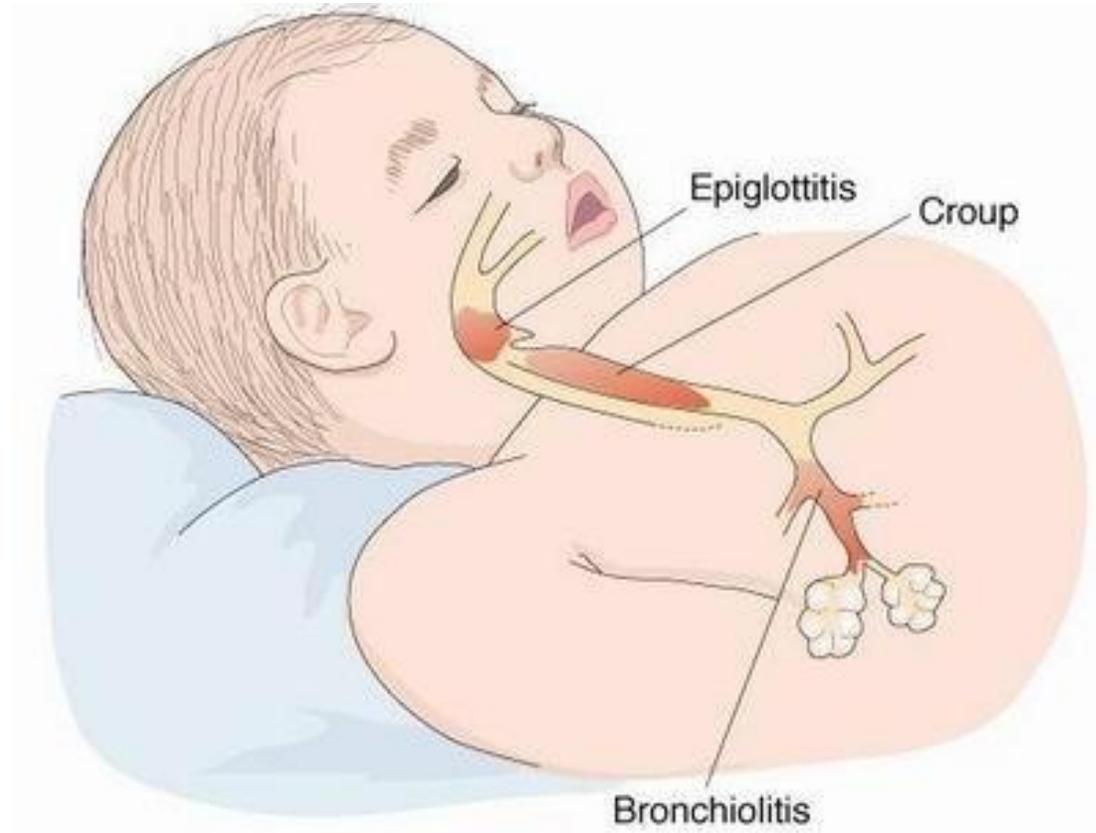
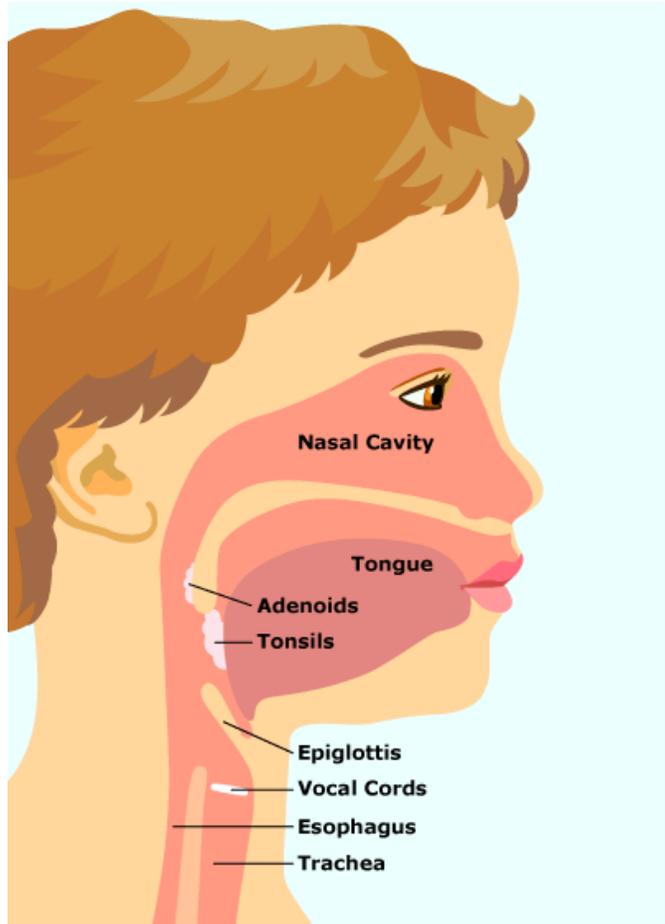
- **Вирусы парагриппа человека** серотипы 1 и 3 относятся к роду *Respirovirus*, а серотипы 2 и 4а, 4b – к роду *Rubulavirus*.
- По антигенам вирусных белков HN, NP и F различают 4 основных серотипа вирусов парагриппа. Серотипы 1, 2, 3 имеют общие антигены с вирусом эпидемического паротита.



Патогенез и клинические проявления парагриппа

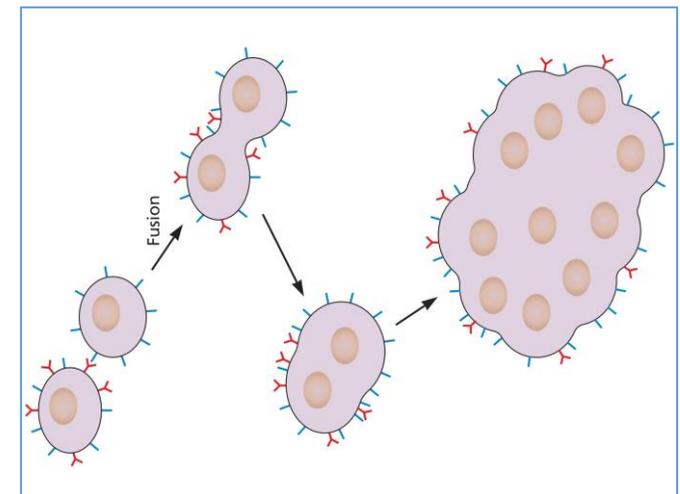
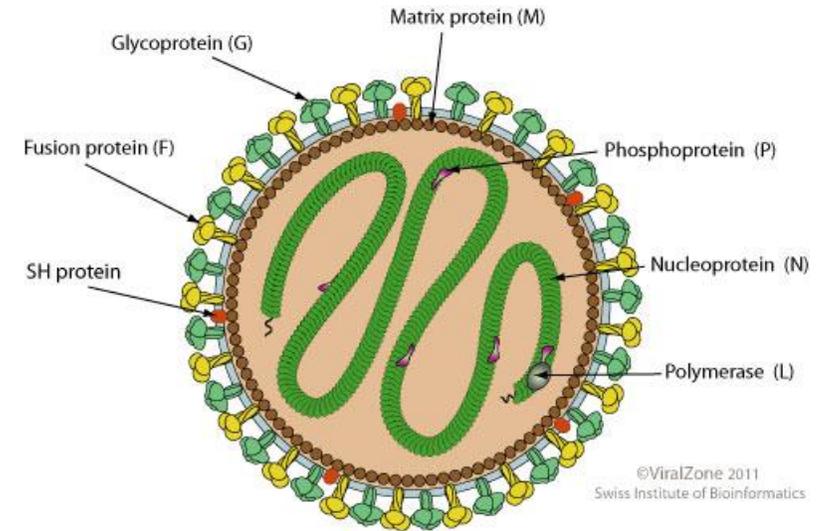
- Источник инфекции – больные люди . Основной путь передачи – воздушно-капельный
- Размножаясь в гортани и верхней части трахеи, вирус вызывает отек и обструкцию дыхательных путей - круп (*ларинготрахеобронхит*), а также может распространяться на нижние дыхательные пути, бронхи и бронхиолы, вызывая **бронхиолит и пневмонию**.
- Парагрипп - острое инфекционное заболевание, характеризующееся поражением верхних дыхательных путей, особенно гортани, и легкой интоксикацией. В большинстве случаев клинические симптомы парагриппа проявляются после инкубационного периода в 3-6 дней в виде «простуды» - лихорадки, ринита и фарингита. Вызывает **пневмонию, ларинготрахеобронхит, бронхиолит и пневмонию у детей**
- У взрослых заболевание обычно протекает как ларингит.

Клинические проявления парагриппа



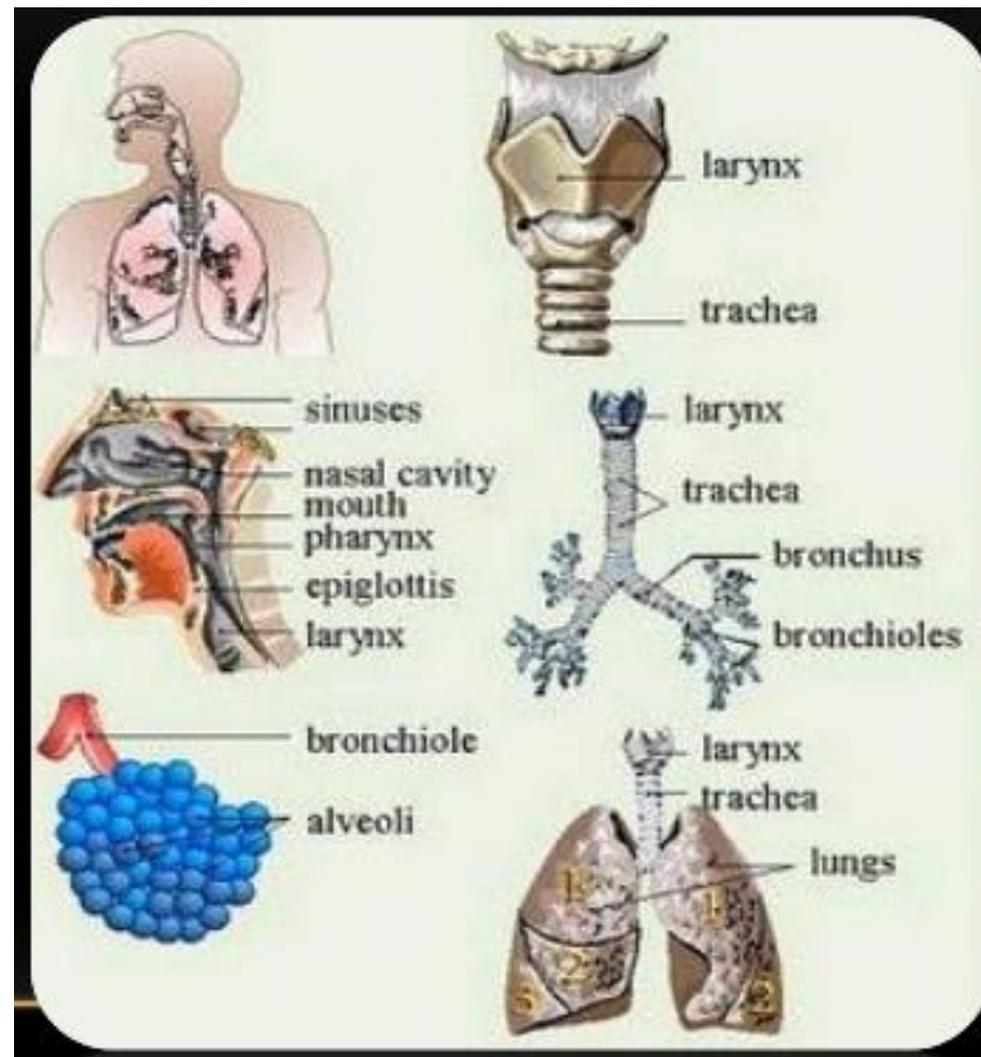
Респираторно-синцитиальный вирус (RS-вирус)

- RS-вирус относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Paramyxoviridae* рода *Pneumovirus*.
- RS-вирус отличается полиморфностью: встречаются вирусы сферической и нитевидной формы. На липопротеиновой оболочке расположены гликопротеиновые шипы - гликопротеин **G**, который не обладает гемагглютинирующей и нейраминидазной активностью. Этот гликопротеин обеспечивает взаимодействие с клеточными рецепторами.
- Гликопротеин **F**, характерный для RS-вирусов обеспечивает слияние мембран прилежащих клеток, в результате чего образуется **синцитий**.
- Свое название RS-вирус получил по характерному ЦПД в культуре клеток – по образованию симпластов и синцития.



Патогенез RS-вирусных инфекций

- Пути передачи – воздушно-капельный и контактно-бытовой. Входные ворота инфекции – верхние дыхательные пути – слизистая носоглотки.
- Вирусы проникают в эпителиальные клетки и размножаются, вызывая их гибель. Патологический процесс быстро распространяется на нижние дыхательные пути, вызывает бронхиолит и пневмонию. Редко отмечается вирусемия.

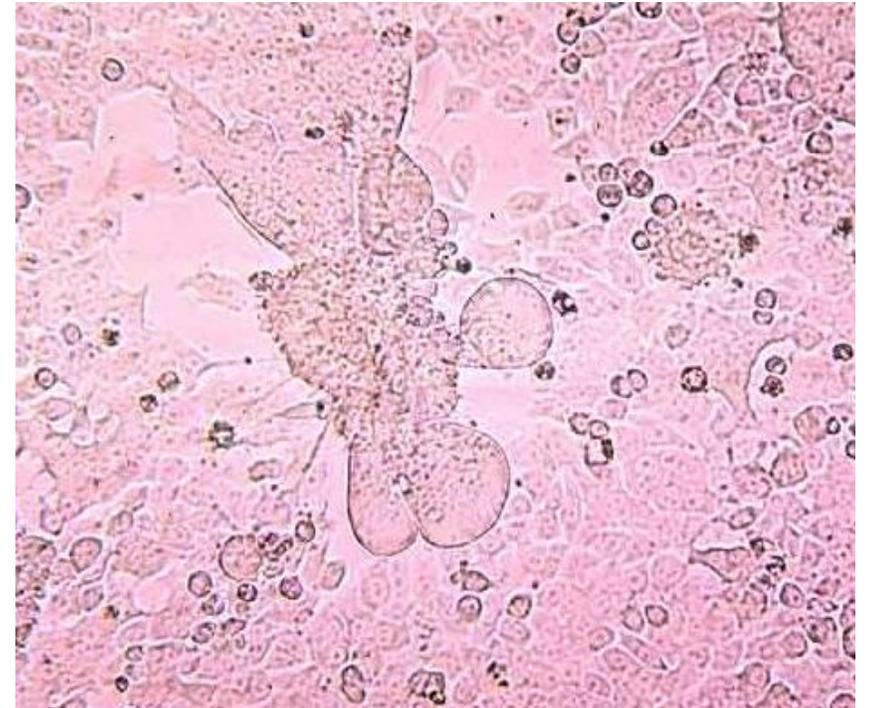


Клинические проявления RS-вирусных инфекций

- RS-вирус является возбудителем инфекций нижних дыхательных путей у новорожденных и детей раннего возраста. У детей младше года этот вирус занимает лидирующее место среди возбудителей бронхолитов и пневмоний .
- Клинические проявления RS-вирусных инфекций варьируют от легких симптомов **простуды** до пневмонии у младенцев и бронхолита у детей раннего возраста. После 3-5 дней инкубационного периода развиваются острые катаральные симптомы верхних дыхательных путей, за которыми следуют **бронхиолит** и **пневмония**.
- Наиболее опасен RS-вирус для детей первых 6 месяцев – у них развиваются тяжелые бронхиты и пневмонии.
- Респираторно-синтициальная инфекция может осложняться воспалением среднего уха, которое возникает примерно у половины младенцев при RS-инфекции

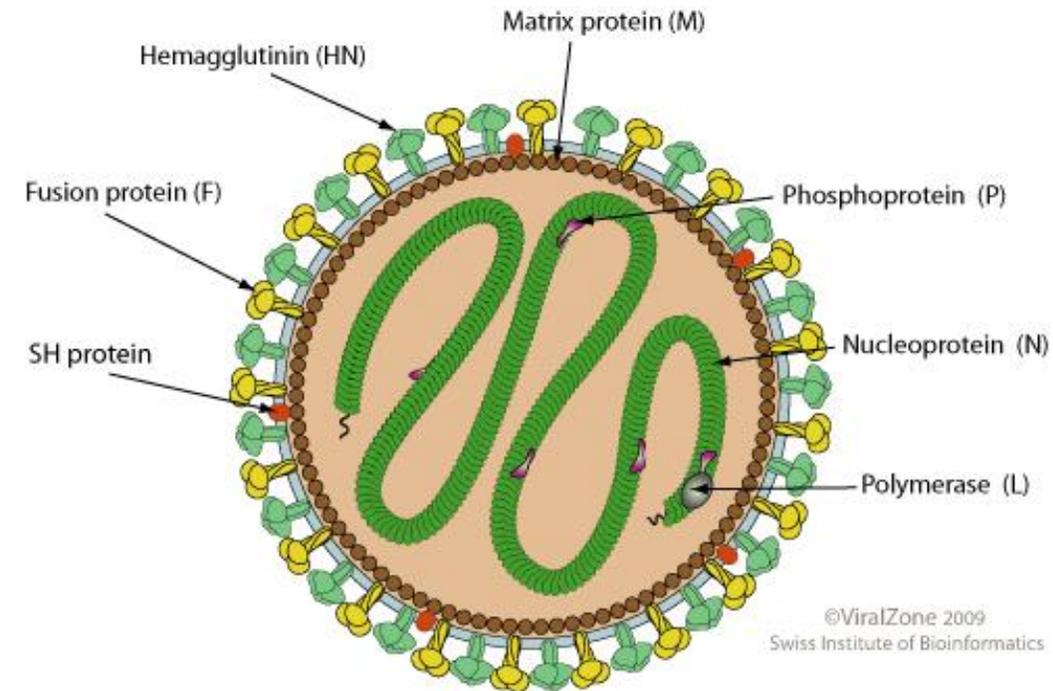
Микробиологическая диагностика RS-вирусных инфекций

- **Обнаружение вируса в патологическом материале имеет важное диагностическое значение.** Обычно применяют ИФА, РИФ и ПЦР, с помощью которых определяют наличие RS-вируса в материале, взятого тампоном из носоглотки.
- Обнаружение вируса указывает на текущее заражение, поскольку RS-вирус никогда не обнаруживается у здоровых людей.
- **Вирусологический метод** позволяет выделить RS-вирус из отделяемого носа путем заражения культур клеток HeLa и Her-2. Через 10 дней в культурах клеток наблюдают цитопатическое действие вируса в виде гигантских клеток и синцитиев.
- **Серологические методы** основаны на обнаружении специфических антител в сыворотке крови с помощью РИФ, ИФА и РН, но данные тесты не имеют большую диагностическую ценность, и чаще используются при эпидемиологических исследованиях.



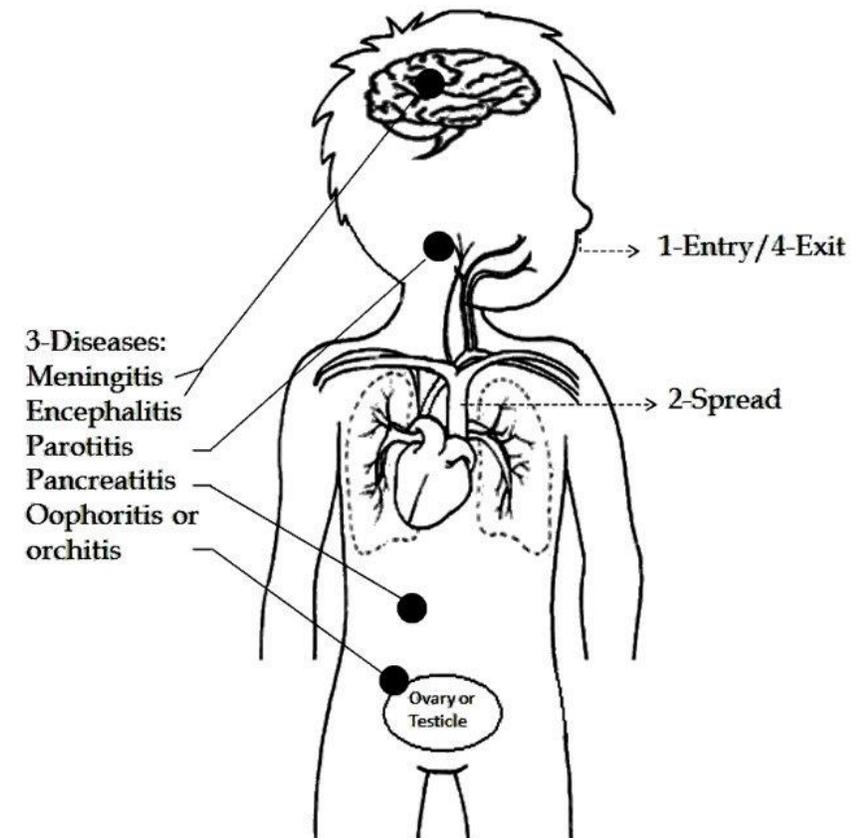
Вирус эпидемического паротита

- Вирус эпидемического паротита входит в семейство *Paramyxoviridae* рода *Rubulavirus*.
- Оболочка вируса имеет **HN- и F-гликопротеины**. Вирус проявляет гемагглютинирующую активность, агглютинирует эритроциты кур, морских свинок и др. Гликопротеины F вызывают слияние мембран вируса и клетки, образуют симпласты и проявляют гемолитическую активность.
- Вирус паротита культивируют на тканевых культурах почечного эпителия обезьян. Проявляет цитопатический эффект – образование **гигантских клеток**



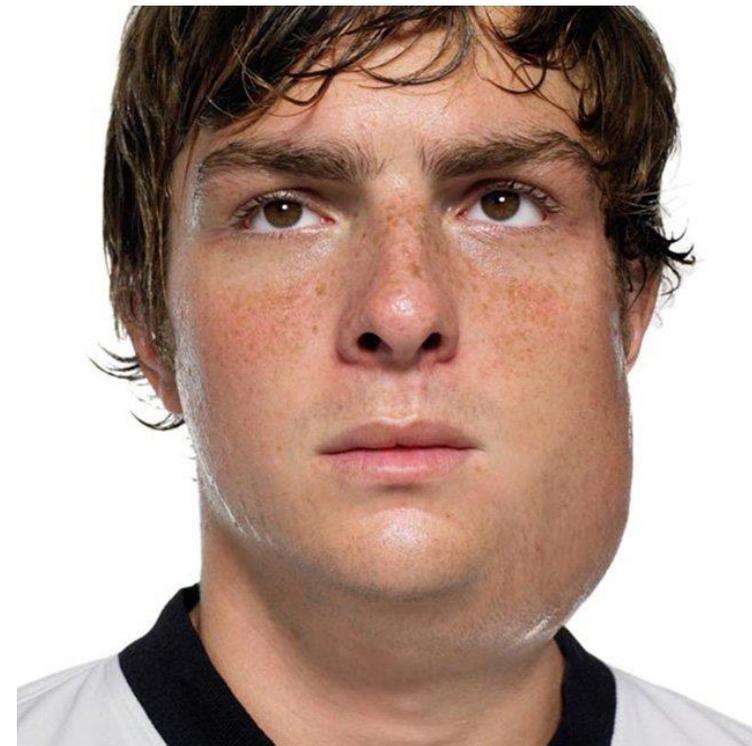
Патогенез эпидемического паротита

- Наиболее восприимчивы дети от 5 до 15 лет. Вирус выделяется слюной в конце инкубационного периода (за 3 дня до клинических проявлений) и в течение первых 9 дней заболевания. Возбудитель передается воздушно-капельным путем , иногда – через загрязненные слюной предметы.
- Эпидемический паротит – острая детская инфекция, характеризующаяся поражением околоушных слюнных желез , реже – других органов . Вирусы размножаются в эпителии слизистых верхних дыхательных путей и , возможно , в околоушных железах. Затем они поступают в кровь и разносятся по всему организму.
- Вирус попадая в яички, поджелудочную и щитовидную железы, мозговые оболочки и другие органы, вызывают их воспаление.



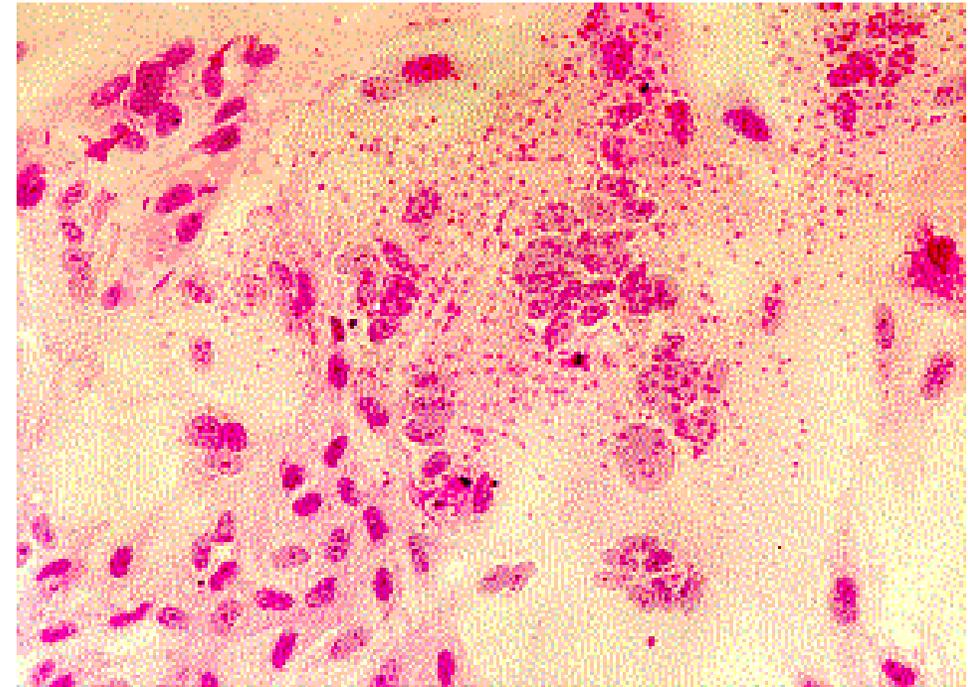
Клинические проявления эпидемического паротита

- Инкубационный период длится 2-4 недели. Характерный признак заболевания – увеличение и болезненность околоушных желез. Воспаление одной или обеих околоушных слюнных желез придает внешности пациента характерный для заболевания вид. Возможно вовлечение и других слюнных желез в патологический процесс. Нередко наблюдается бессимптомное течение болезни.
- В качестве осложнения могут развиваться у мальчиков орхит, у девочек – оофорит.
- Наиболее частые осложнения при эпидемическом паротите – асептический менингит и менингоэнцефалит.
- Примерно в 4% случаев в качестве осложнения эпидемического паротита развивается панкреатит.
- После перенесенной болезни вырабатывается **пожизненный иммунитет**



Микробиологическая диагностика

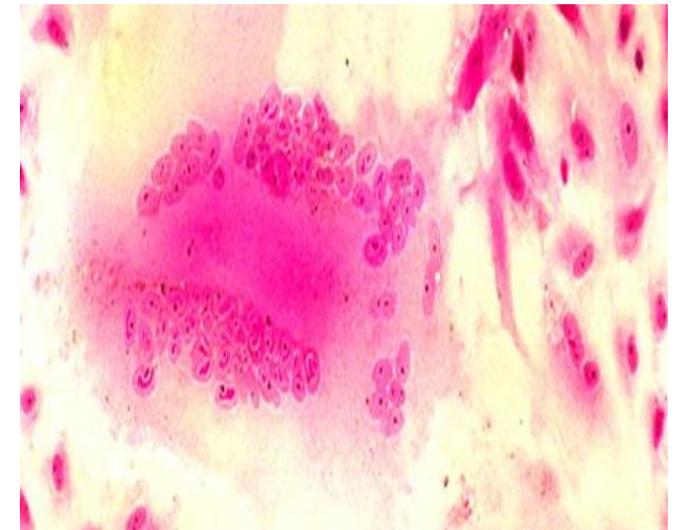
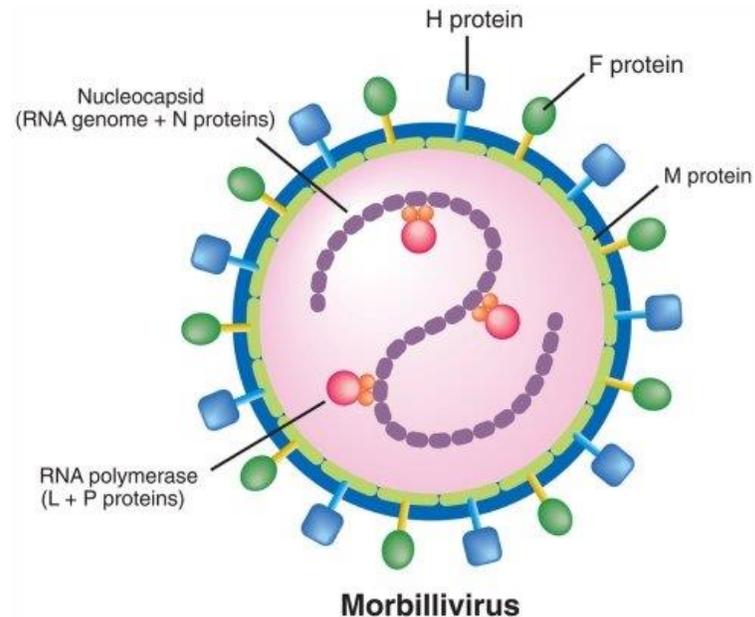
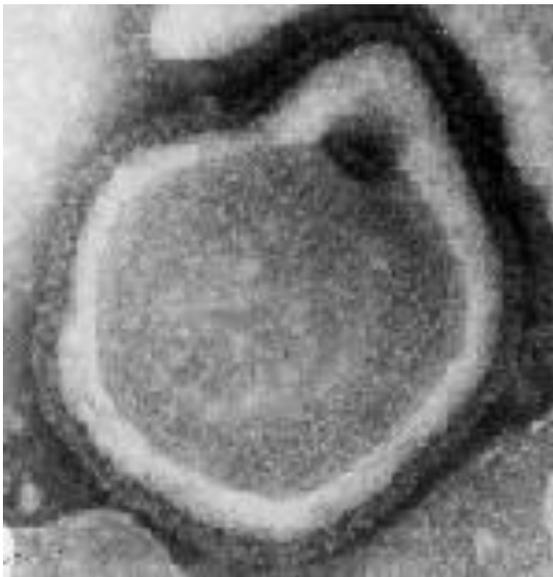
- Микробиологическая диагностика производится редко, т.к. очень характерна клиническая картина. Однако при необходимости дифференцировки от паротитов прочей этиологии и опухолей, в случаях асептического менингита, не сопровождающегося симптомами паротита возможно проведение микробиологической диагностики.
- Материалы исследования (слюна, цереброспинальная жидкость, моча). Вирус может быть получен в **культуре клеток** почек обезьян. Обнаружение вируса проводят с помощью **РИФ** с использованием специфических антител, и по характеру цитопатического эффекта.
- В сыворотке крови больных обнаруживаются IgG и IgM с помощью **ИФА**. Специфические IgM, образующиеся на ранних стадиях заболевания, сохраняются в сыворотке более двух месяцев.



Феномен гемадсорбции в культуре клеток

Вирус кори

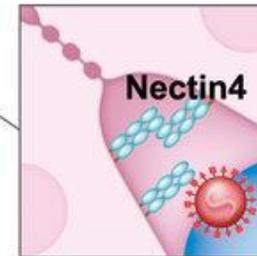
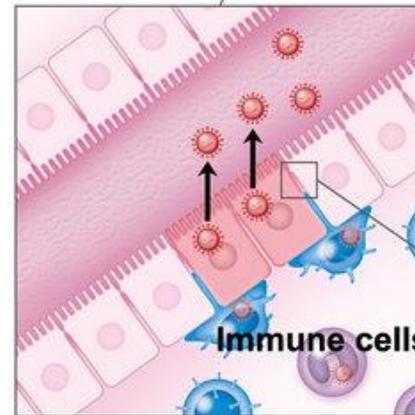
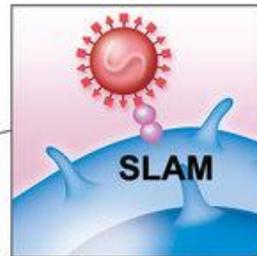
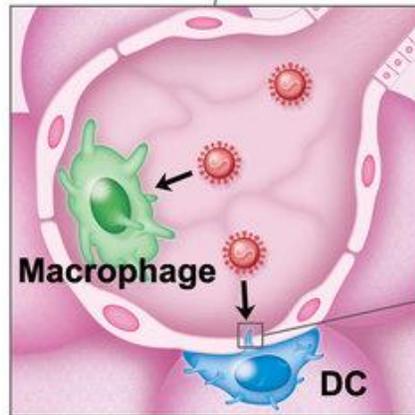
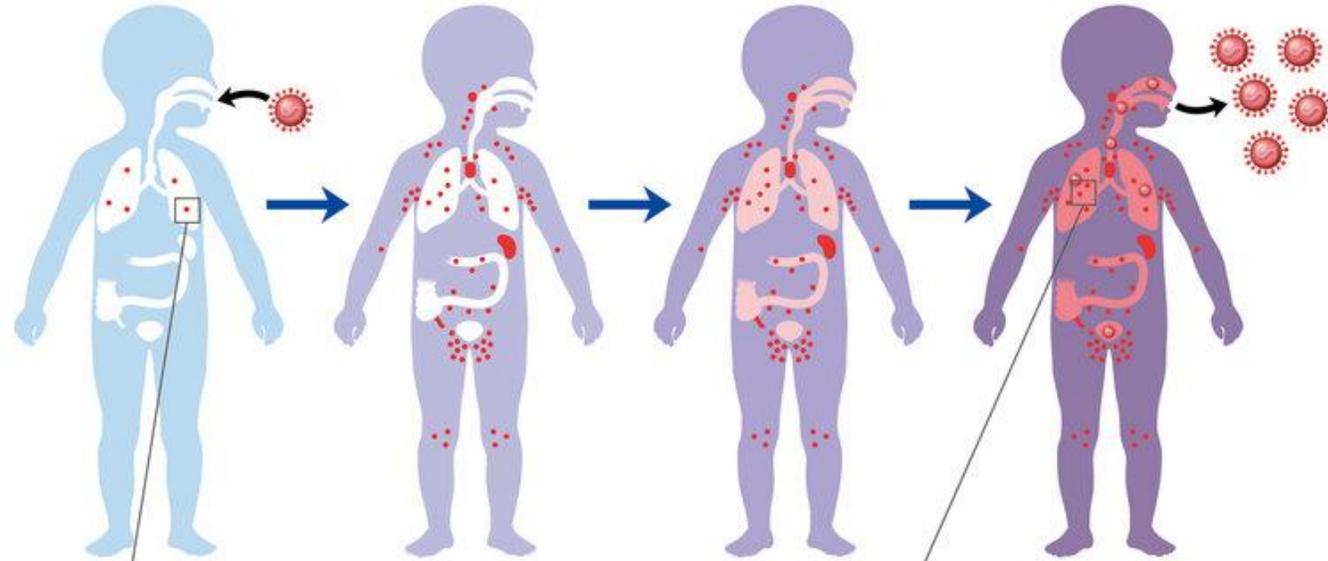
- Вирус кори относится к семейству *Paramyxoviridae* рода *Morbillivirus* (лат. название болезни - *morbillii*).
- На наружной оболочке вируса кори имеются гемагглютинин (H) и белок слияния (F). Исходя из этого, вирус кори обладает гемагглютинирующей активностью. Нейраминидаза отсутствует. F-белок обеспечивает слияние мембран вируса и клетки хозяина, обладает гемолитической активностью.
- Вирус кори культивируют на первичных культурах клеток почек обезьян и человека. Возбудитель размножается с образованием гигантских многоядерных клеток – симпластов; появляются цитоплазматические и внутриядерные включения. **От прочих парамиксовирусов отличаются образованием внутриядерных включений.**
- Вирус кори **неустойчив к условиям внешней среды**, при комнатной температуре инактивируется через 3-4 часа.



Патогенез кори

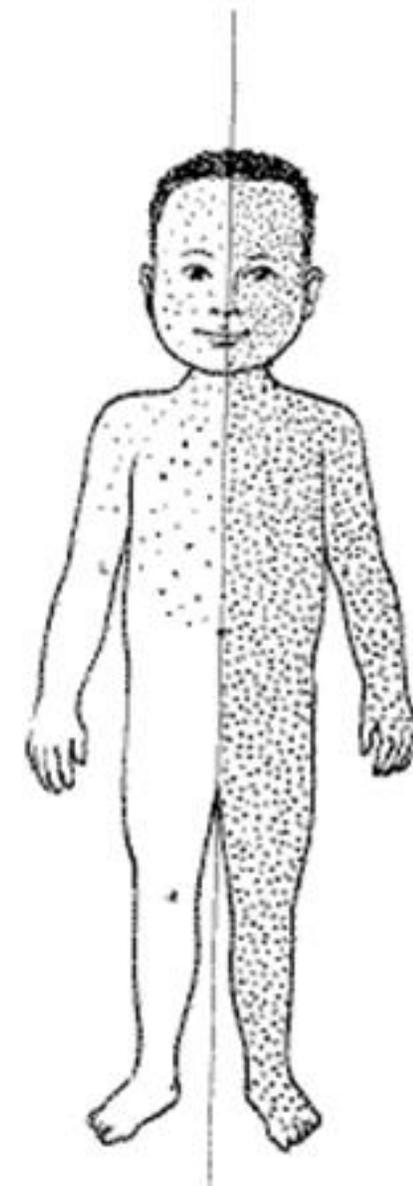
- Корь – антропонозная инфекция. Восприимчивость человека к вирусу кори чрезвычайно высока (индекс контагиозности равен 1!)
- Чаще болеют дети 4-5 лет. Основной путь инфицирования – воздушно-капельный, реже – контактный. Наибольшая заражаемость происходит в продромальном периоде и на 2-5 дни после появления сыпи. Через 5 дней после появления сыпи больной не заразен.
- Первоначально возбудитель размножается в эпителии верхних дыхательных путей, а затем – в регионарных лимфатических узлах. В период **первичной вирусемии** вирус размножается в ретикулоэндотелиальной системе, затем вирус вновь поступает в кровь (**вторичная вирусемия**) и проникает в кожу, респираторный тракт и конъюнктиву.
- Взаимодействие иммунных Т-лимфоцитов с инфицированным эндотелием кровеносных сосудов приводит к образованию характерных **пятнисто-папулезных высыпаний** на слизистых оболочках и коже (при недостаточности клеточного иммунитета высыпания не наблюдаются!)

Патогенез кори



Клинические проявления кори

- Продолжительность инкубационного периода у детей 8-12 дн., у взрослых людей до 3-ех недель. Продромальный период характеризуется развитием лихорадки, катаральных явлений, кашля, фотофобии и конъюнктивита. Патогномоничным признаком для кори является образование **пятен Филатова-Коплика** (окруженные красным ореолом беловато-серые пятна диаметром около 1 мм на слизистой оболочке щек)
- На 3-4-й день заболевания на коже, а также на слизистых оболочках появляется характерная **розовая пятнисто-папулезная сыпь**. Появление сыпи **происходит поэтапно** : сначала она появляется на лице, а затем распространяется вниз по туловищу и нижним конечностям. Дискретные и розовые изначально пятна, затем сливаются и через 5-10 дней превращаются в коричневую пятнисто-папулезную сыпь. После исчезновения сыпи на ее месте может появляться корка



Клинические проявления кори



Осложнения кори

- **Пневмония** чаще всего развивается как вторичная бактериальная инфекция, и является причиной 90% случаев смерти от кори. **Гигантоклеточная пневмония** - одно из самых серьезных осложнений и причин смерти у детей и взрослых с клеточным иммунодефицитом.
- **Постинфекционный энцефаломиелит** - аутоиммунный процесс, вызываемый антителами против белков миелина. В 10-20% случаев заканчивается летальным исходом, а у значительной части выживших наблюдаются остаточные неврологические симптомы.
- **Подострый склерозирующий панэнцефалит** – 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 F-белок, отсутствует M-белок. В крови и ликворе обнаруживаются антитела, в клетках мозга- вирусные нуклеокапсиды.

Иммунитет

- После перенесенной кори развивается гуморальный стойкий пожизненный иммунитет. Случаи повторного заражения наблюдаются редко .
- Пассивный иммунитет, передаваемый через плаценту (IgG) защищает в течение 6 месяцев после рождения.
- Появление сыпи связано с активностью клеточного иммунитета
- Возбудитель кори подавляет активность Т-лимфоцитов и иммунные реакции, что способствует появлению осложнений в виде пневмоний, отитов и пр.

Микробиологическая диагностика кори

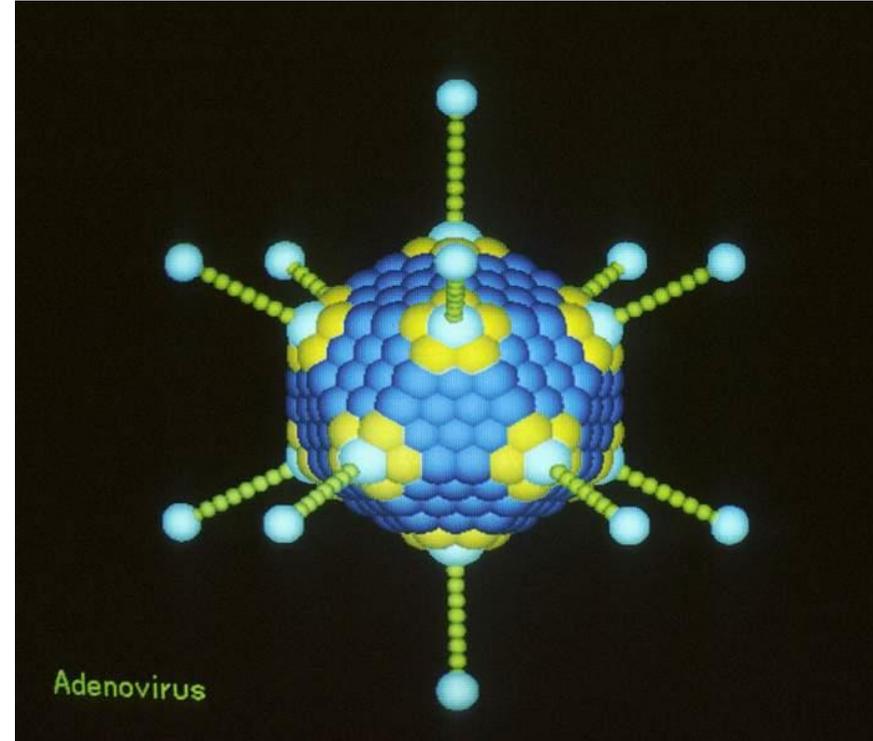
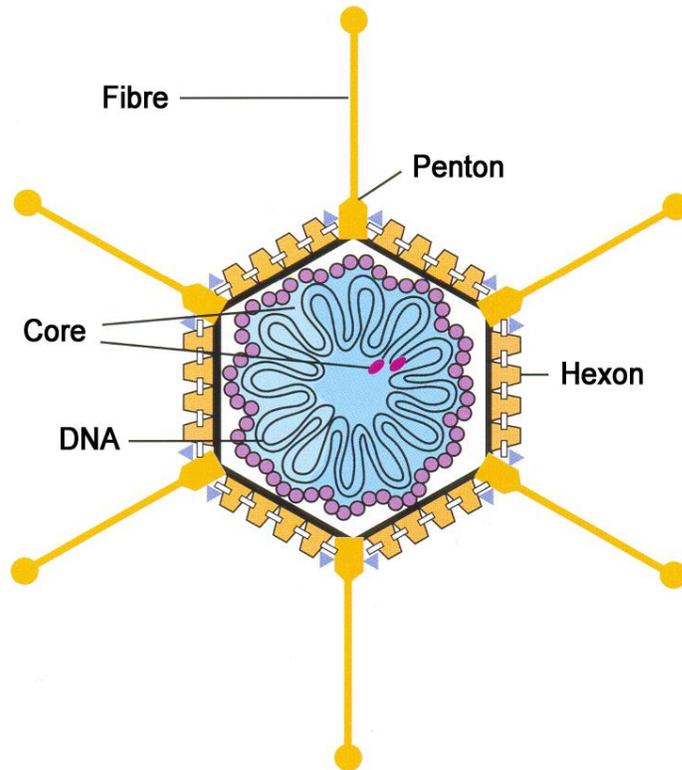
- Поскольку при кори развиваются типичные клинические симптомы, лабораторная диагностика не требуется. Однако в некоторых случаях, особенно при атипичной кори может быть проведена микробиологическая диагностика
- Вирус можно обнаружить в респираторном секрете и моче с помощью РИФ используя флуоресцирующие антитела против вирусного нуклеопротеина.
- В лихорадочный период вирус можно выделить из носоглотки, конъюнктивы, респираторного секрета, мочи и крови. С этой целью патологический материал инокулируют в первичную культуру клеток почек обезьян и человека. Постепенно размножаясь вирус вызывает цитопатический эффект (через 7-10 дней) в виде многоядерных гигантских клеток - симпластов с внутриклеточными и внутрицитоплазматическими включениями. В инфицированных культурах клеток вирус также можно обнаружить с помощью РИФ.
- Серологическая диагностика основывается на четырехкратном и более увеличении титра антител в парных сыворотках, взятых в острый период заболевания и в период реконвалесценции. Обнаружение специфических IgM в сыворотке крови методом ИФА через 1-2 недели после появления сыпи также подтверждает диагноз.
- Титр специфических антител к вирусу кори в сыворотке крови при подостром склерозирующем панэнцефалите в 10-100 превышает таковой у реконвалесцентов.

Лечение и профилактики кори

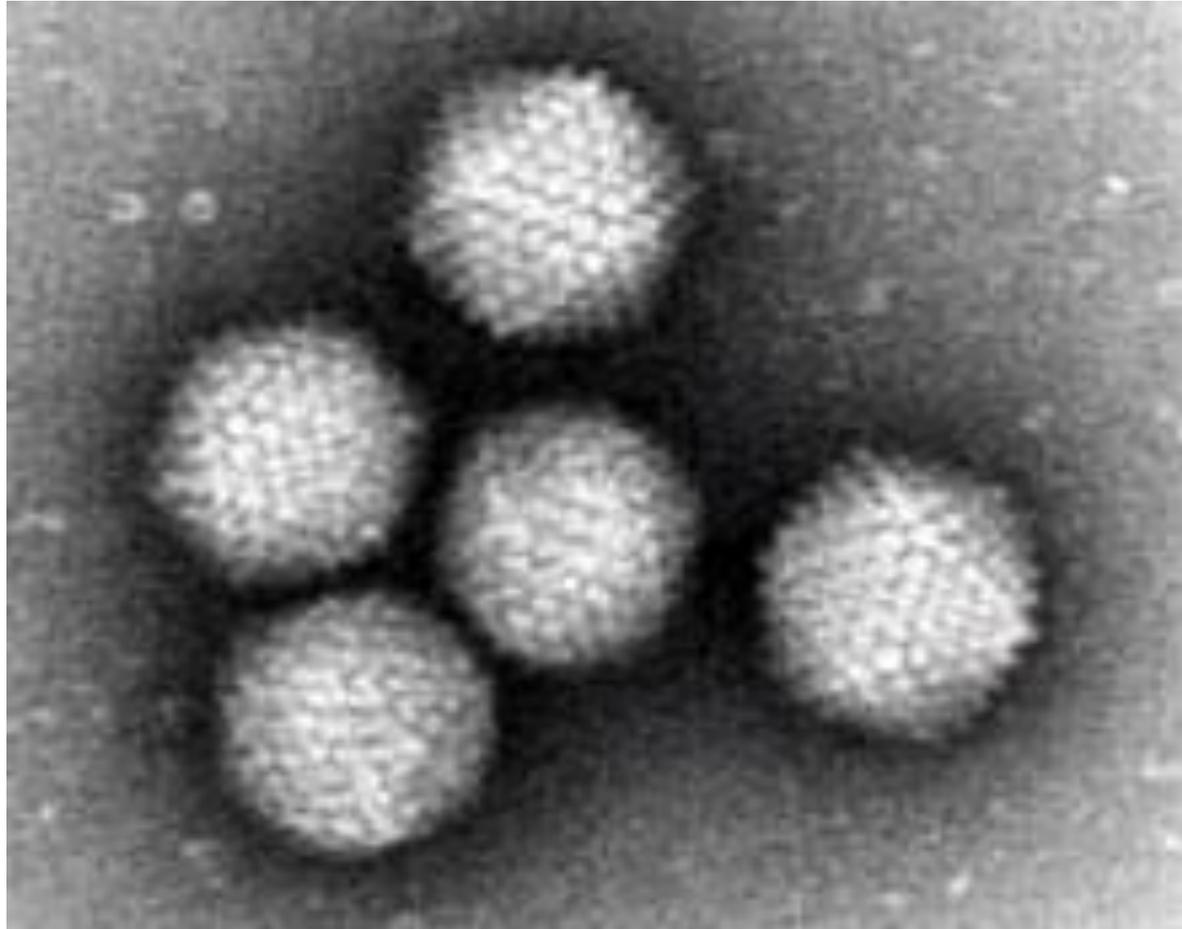
- Лечение симптоматическое. Использование витамина А смягчает тяжесть заболевания и предупреждает летальный исход.
- Детям первого года жизни подкожно вводят живую вакцину из аттенуированных штаммов, или **комбинированную вакцину (против кори , паротита , краснухи)** .
- В целях профилактики детям при контакте с больным корью вводят нормальный иммуноглобулин человека не позднее 7-го дня инкубационного периода .



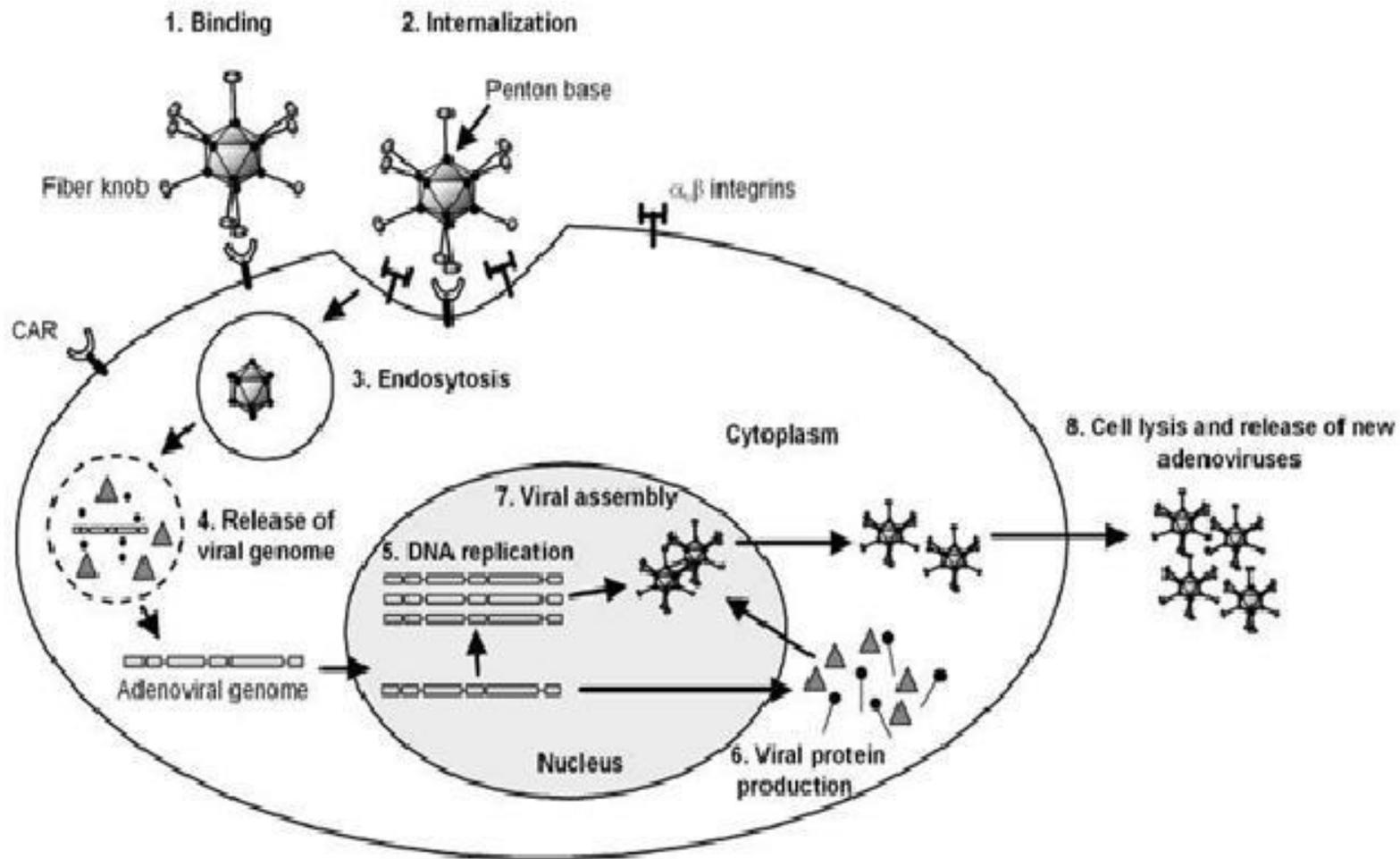
Adenovirusu



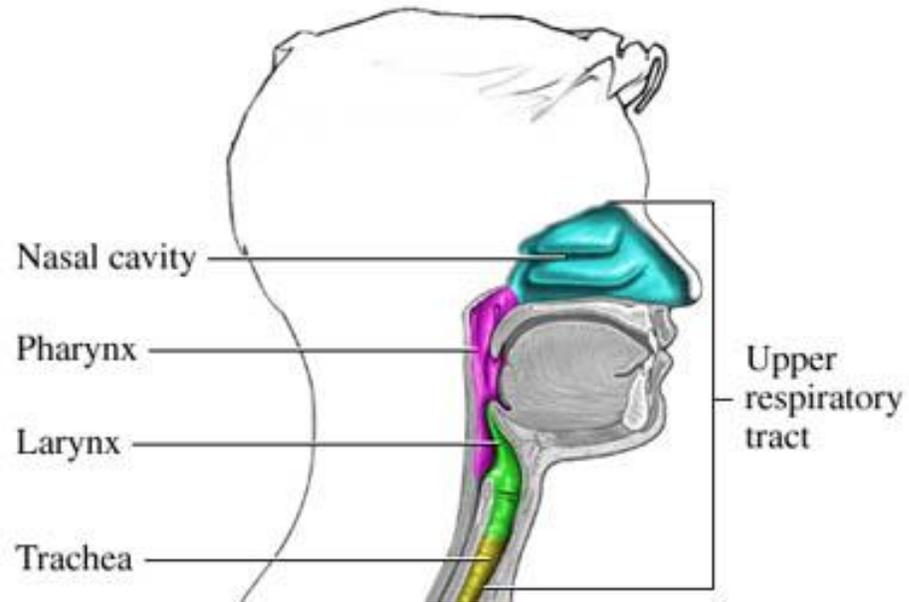
Adenovirusu



Adenovirusı (reproduksiyə)

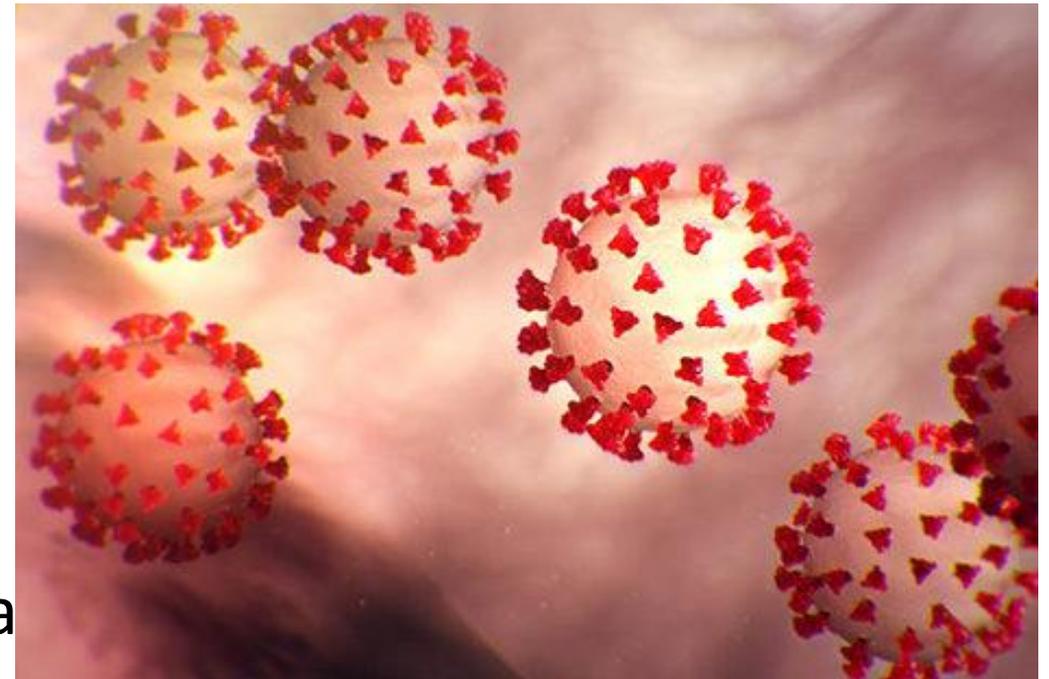


Adenovirusne infeküüi



Семейство *Coronaviridae* (коронавирусы)

- Представитель семейства *Coronaviridae* впервые был выделен от больного острым ринитом .
- Коронавирусы широко распространены в природе, вызывают различные заболевания у человека и животных .
- Особенности коронавирусов человека изучены недостаточно из-за трудностей культивирования.

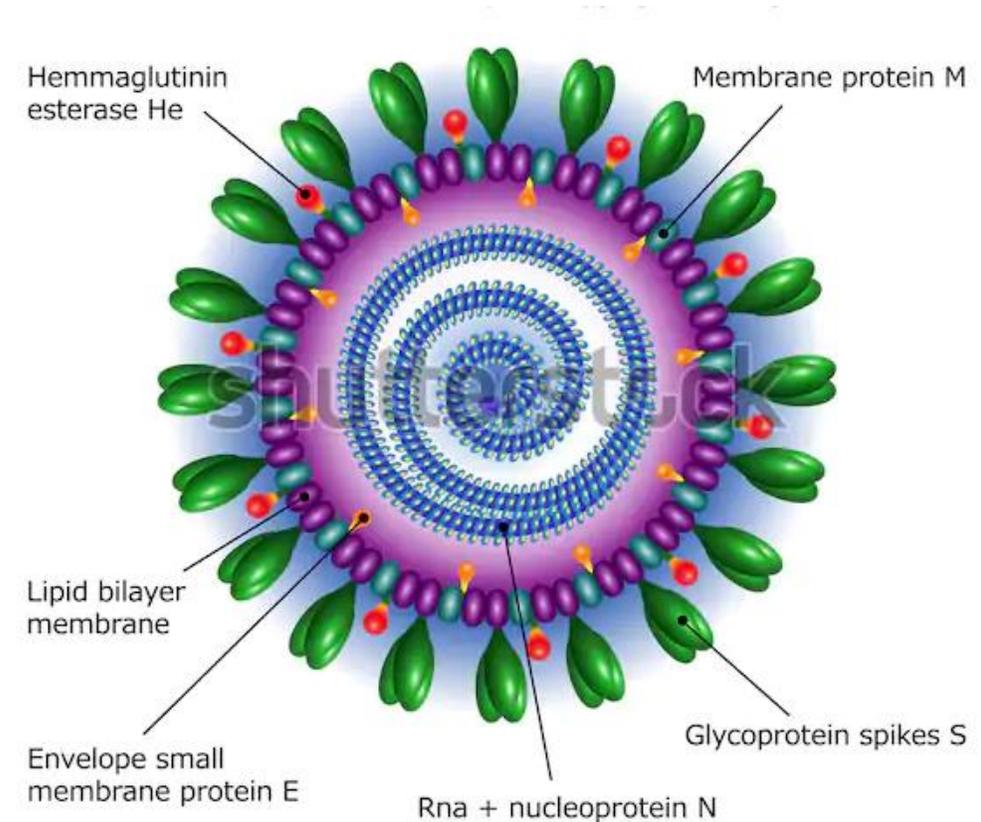


Классификация коронавирусов

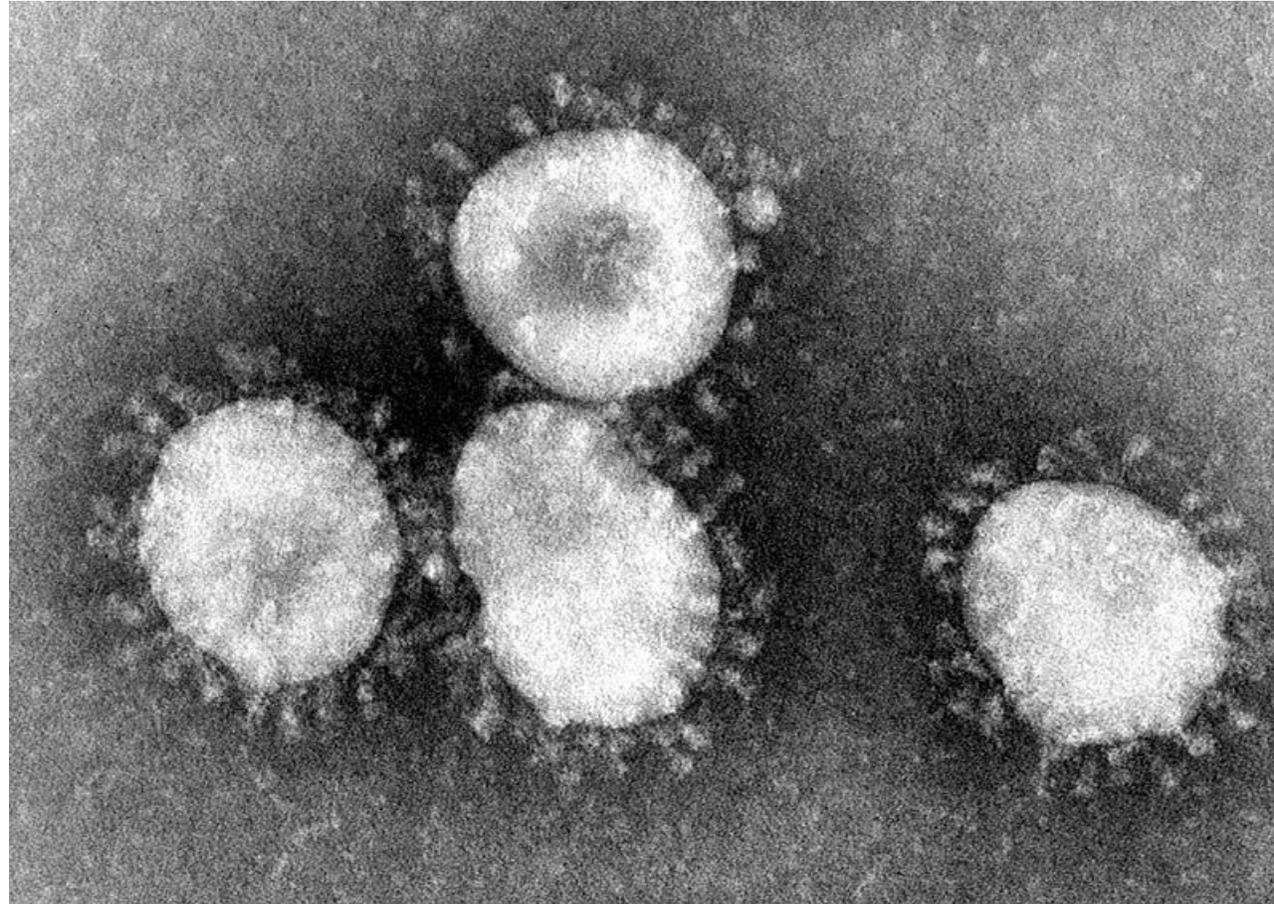
- Семейство *Coronaviridae* включает два рода - *Coronavirus* и *Torovirus*. Торовирусы широко распространены в природе, вызывающие кишечные инфекции. Коронавирусы человека разделены на серотипы, которые называются 229E (1-ая серогруппа) и OC43 (2-ая серогруппа).
- Представитель рода *Coronavirus* вирус *SARS* (*severe acute respiratory syndrom* – тяжелый острый респираторный синдром) также относится ко 2-ой серогруппе.
- Коронавирусы, выделенные от людей и животных имеют общие антигены.
- В процессе репликации коронавирусы подвергаются **мутациям** и **рекомбинациям**. Не характерная для несегментированных РНК-геномных вирусов столь высокая частота генетической изменчивости является причиной возникновения новых штаммов вирусов.

СТРОЕНИЕ КОРОНАВИРУСОВ

- Коронавирусы - округлые оболочечные вирусы с диаметром 120–160 нм. Сердцевина вириона состоит из спирального нуклеокапсида и одноцепочечной плюс РНК. Нуклеокапсид окружен внешней мембраной. На поверхности внешней оболочки имеют многочисленные выступы длиной 20 нм булавовидной формы или напоминающие лепестки. Наличие гликопротеинов придает вириону вид солнечной короны.
- Структурные белки вириона представлены белком нуклеокапсида (N), связанным с нуклеокапсидом матриксным гликопротеином (M) внешней мембраны, и S-гликопротеином, образующим выступы. Некоторые коронавирусы также содержат гликопротеин (HE), который обладает активностью гемагглютинаина и ацетилэстеразы.



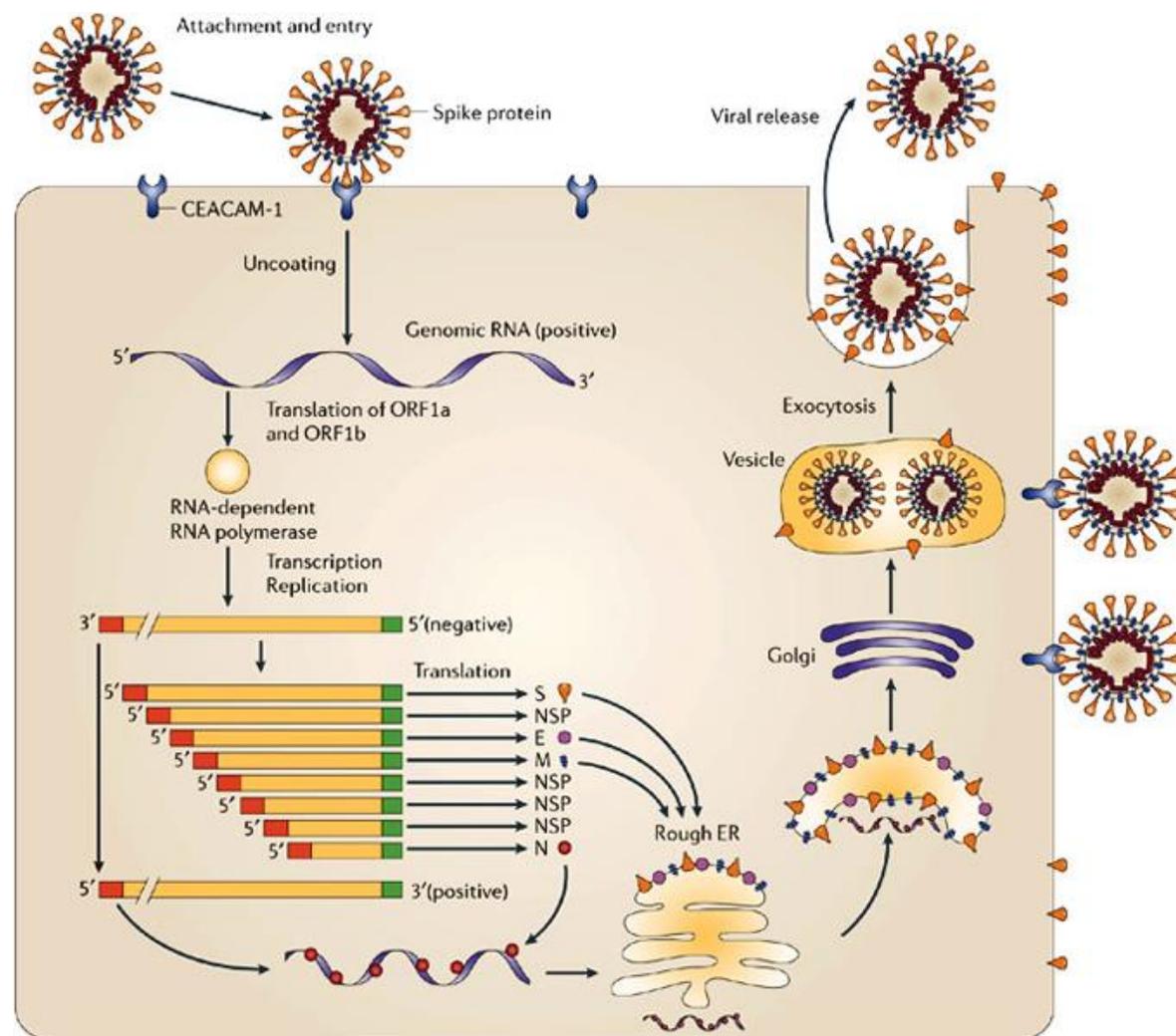
Коронавирусы - электронная микроскопия



РЕПРОДУКЦИЯ КОРОНАВИРУСОВ

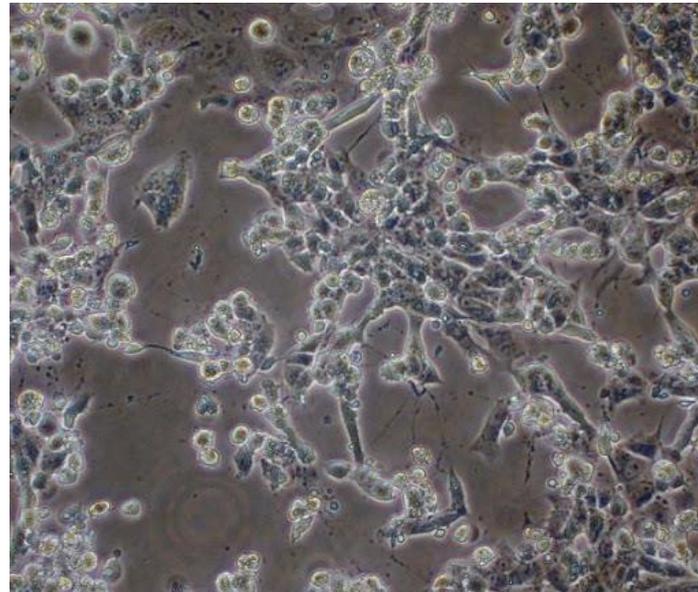
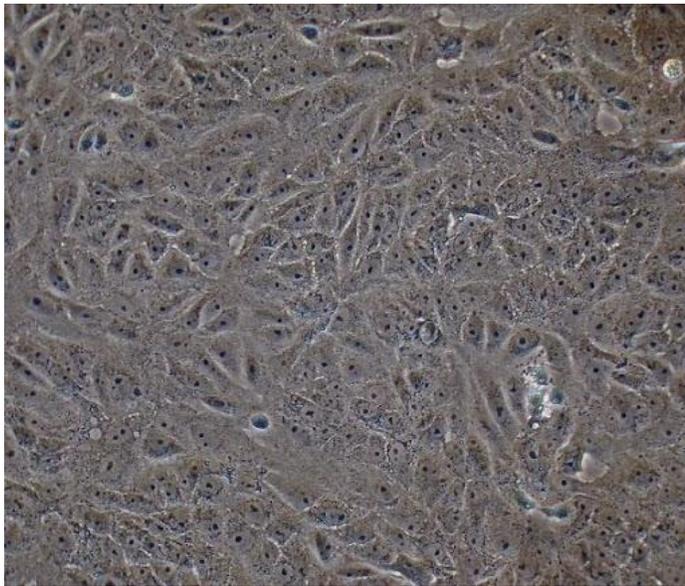
- Коронавирусы репродуцируются в цитоплазме клеток человека и животных – их естественных хозяев.
- После того, как коронавирусы связываются с клеткой через поверхностные S- или HE-гликопротеины, они проникают в клетку путем эндоцитоза и депротенинизируются. Репродукция вирусов происходит в цитоплазме.
- Вирусные частицы отпочковываются от мембран эндоплазматического ретикулума или комплекса Гольджи, в которые встроены вирусные гликопротеины. Сформированные вирионы покидают клетку экзоцитозом или в результате ее разрушения.
- Некоторые коронавирусы вызывают персистирующие инфекции, не вызывающие гибель клетки. Некоторые коронавирусы вызывают слияние клеток посредством S-гликопротеинов.

Схема репродукции коронавирусов



Культивирование коронавирусов

- Коронавирусы человека трудно культивируются в культурах клеток .
- Возможно использование культур клеток эмбриона человека и первичных эпителиальных клеток.
- Вирусы *SARS* и *Covid-19* возможно культивировать на культурах клеток эпителия почки мартышек (*Vero культуры*)
- Возбудители заболеваний птиц размножаются в куриных эмбрионах.



Цитопатический эффект Covid-19 на клеточной культуре *Vero E6* (Франция, 2020 г.)



On the left, a cell layer (*Vero E6*) not damaged by the viruses. **On the right**, a cell layer with a visible cytopathic effect (CPE); the cells infected by the virus have been destroyed.

Устойчивость к факторам внешней среды

- При комнатной температуре сохраняются в течение нескольких дней.
- Устойчивы к низким температурам, хорошо переносят лиофилизацию.
- Вирусы чувствительны к воздействию жирорастворителей , кислот и щелочей , УФ-лучам; при нагревании до 56⁰С погибают через 10-15 мин.

Источник инфекции и пути передачи

- Источник инфекции – больной человек.
- Путь заражения – воздушно-капельный, возможен и контактный путь передачи
- Входные ворота инфекции - верхние дыхательные пути.
- При попадании в пищеварительный тракт возможно развитие гастроэнтеритов.



Патогенез коронавирусной инфекции

- Патогенез коронавирусной инфекции все еще недостаточно изучен
- Проникшие в организм вирусы обычно локализуются во входных воротах – верхних дыхательных путях и вызывают острую респираторную инфекцию
- Возбудители *SARS* и *Covid-19* проникают в нижние дыхательные пути, и вызывают **пневмонию** протекающую с прогрессирующей дыхательной недостаточностью.
- Способность коронавирусов вызывать гастроэнтериты до сих пор не подтверждена, так как вирус не удается выделить из испражнений

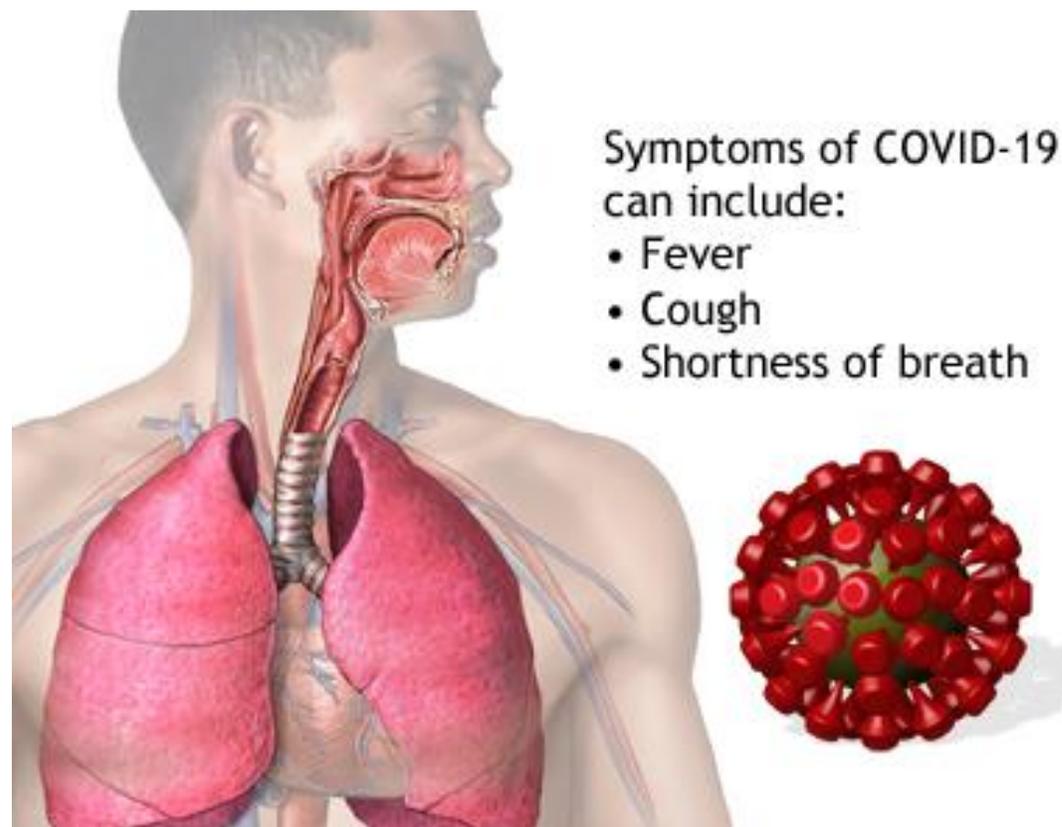
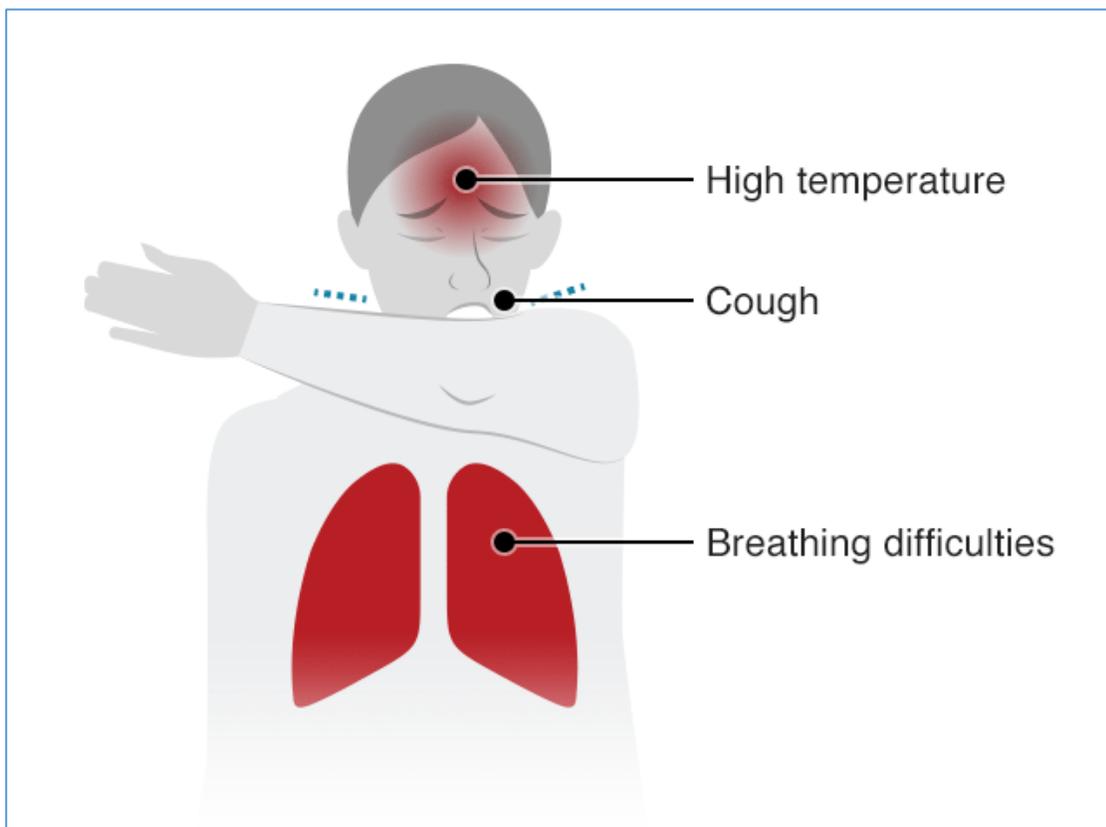
Клинические проявления коронавирусных инфекций

- Инкубационный период при коронавирусных инфекциях составляет 2-5 дней, а длительность заболевания длится около 1 недели. Инфекция сопровождается симптомами простуды, насморком, протекает без температуры.
- **Тяжелый острый респираторный синдром (SARS)** - тяжелый острый респираторный синдром впервые был зарегистрирован в Китае в 2003 году. В течение года болезнь распространилась в 29 странах, и стала причиной смерти 800 человек из более чем 8000 инфицированных. Предположительно что заболевание, естественным резервуаром которого являются летучие мыши, вызвано новыми видами вирусов возникшими в результате генетической рекомбинации между вирусами людей, свиней и домашних птиц в южных провинциях Китая
- Начинаясь с лихорадки, головной боли, кашля и боли в горле после инкубационного периода продолжительностью около 6-ти дней, SARS приводит к пневмонии, при которой развивается дыхательная недостаточность. В некоторых случаях больным требуется искусственная вентиляция легких. Хотя смертность вследствие дыхательной недостаточности достигает около 10%, у людей пожилого возраста она может быть выше.

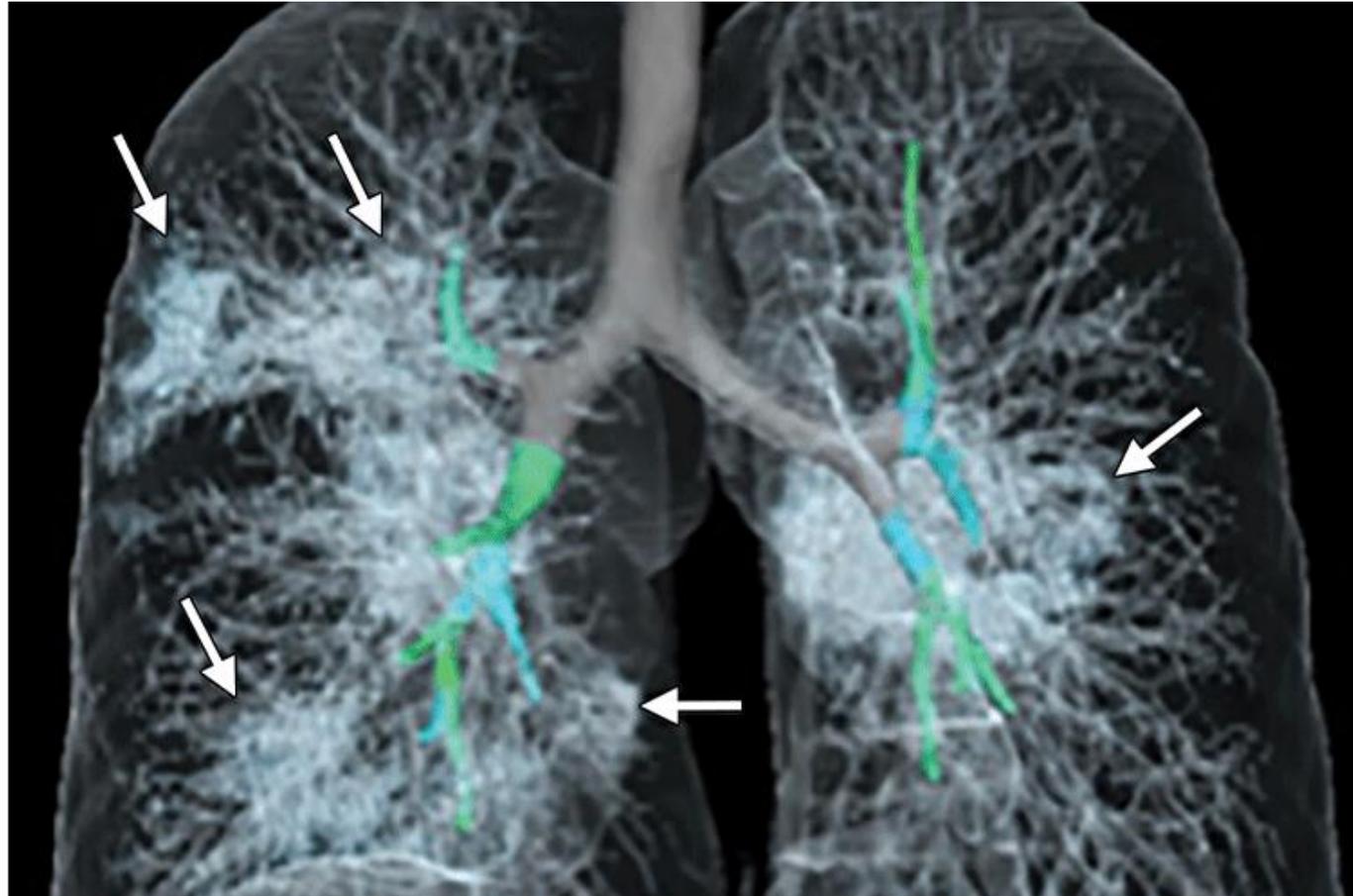
Клинические проявления коронавирусной инфекции

- Новый тип коронавирусной инфекции **Covid-19** - впервые был зарегистрирован в 2019 году в китайском городе Ухане. Всего за несколько месяцев болезнь распространилась во многих странах мира вызвав **пандемию**, в результате которой заразилось 107 454 322 человек, и погибло 2 357 406 человек (* статистика университета Джонса Хопкинса к 11.02.2021)
- Происхождение вируса, естественным резервуаром которого предположительно являются летучие мыши, пока не установлено.
- После инкубационного периода продолжительностью около недели наблюдаются лихорадка, головная боль, кашель, боли в горле, ослабление или потеря обоняния. Обычно Covid-19 не отличается от других респираторных вирусных инфекций, но у пожилых, особенно у людей с сопутствующими заболеваниями, размножение вирусов в альвеолах легких приводит к **пневмонии**, вызывающей дыхательную недостаточность.
- В тяжелых случаях больным требуется искусственная вентиляция легких. Хотя смертность вследствие дыхательной недостаточности достигает около 3-4%, у людей пожилого возраста она может быть выше.
- У 25% пациентов наблюдается **бессимптомное заболевание**

Клинические проявления коронавирусной инфекции



Covid-19 – новый тип коронавирусаной инфекции (двусторонняя пневмония)



Иммунитет

Возможны повторные случаи заболевания(реинфекция) несмотря на формирование гуморального иммунитета, сохраняющегося в течение нескольких лет.

Микробиологическая диагностика коронавиральных инфекций

- Определение вирусов в секретах респираторного тракта возможно при помощи ИФА, РИФ и ПЦР
- РНК вируса *SARS* и *Covid-19* можно обнаружить в крови
- Поскольку культивирование вируса в культуре клеток затруднено, серологический метод является основным в диагностике.
- Повышение титра антител при исследовании парных сывороток в ИФА, может подтвердить коронавирусную инфекцию.



Род *Rhinovirus*

- Род *Rhinovirus* (риновирусы) входят в семейство *Picornaviridae*. Известно более 100 серотипов.
- На основании взаимодействия с клеточными рецепторами риновирусы делятся на две группы:
- Рецепторами для риновирусов **мажорной рецепторной группы** являются межклеточные адгезивные молекулы (*intercellular adhesion molecule - ICAM-1*), экспрессируемые на эпителиальных клетках, фибробластах и эндотелиальных клетках
- Риновирусы **минорной рецепторной группы** взаимодействуют с липопротеиновыми рецепторами клеток (*low-density lipoprotein reseptor - LDLR*)

Риновирuсы

- Размножаются и вызывают цитопатические изменения во многих человеческих культурах клеток.
- Трудно культивируемые риновирuсы возможно культивировать в органных культурах эпителия трахеи
- Репликация риновирuсов протекает лучше при температуре, близкой к температуре верхних дыхательных путей (33⁰C) .

Патогенез и клинические проявления риновирусных инфекций

- Риновирусы патогенны только для человека и некоторых обезьян (шимпанзе). Источником инфекции являются больные люди. На 2-4 дни болезни вирусы накапливаются в высоких концентрациях в носовом отделяемом и передаются воздушно-капельным путем.
- Риновирусы проникают в организм через верхние дыхательные пути. Репликация вирусов происходит в эпителиальных клетках слизистой оболочки носовой полости (отсюда и название вируса).
- Инкубационный период длится 2-4 дня. Заболевание не отличается от других «простудных» вирусных инфекций и сопровождается заложенностью носа, ринитом и болью в горле. Нарушается или исчезает обоняние. Иногда наблюдаются головная боль, легкий кашель и общая слабость. Заболевание длится неделю. Присоединении вторичных бактериальных инфекций особенно у детей приводит к развитию таких осложнений, как отит, синусит, бронхит и пневмония.

Иммунитет при риновирусных инфекциях

- К концу первой недели заболевания одновременно в сыворотке крови и носовом отделяемом определяются вируснейтрализующие антитела.
- Хотя титр антител постепенно снижается, они определяются в крови в течение долгого времени