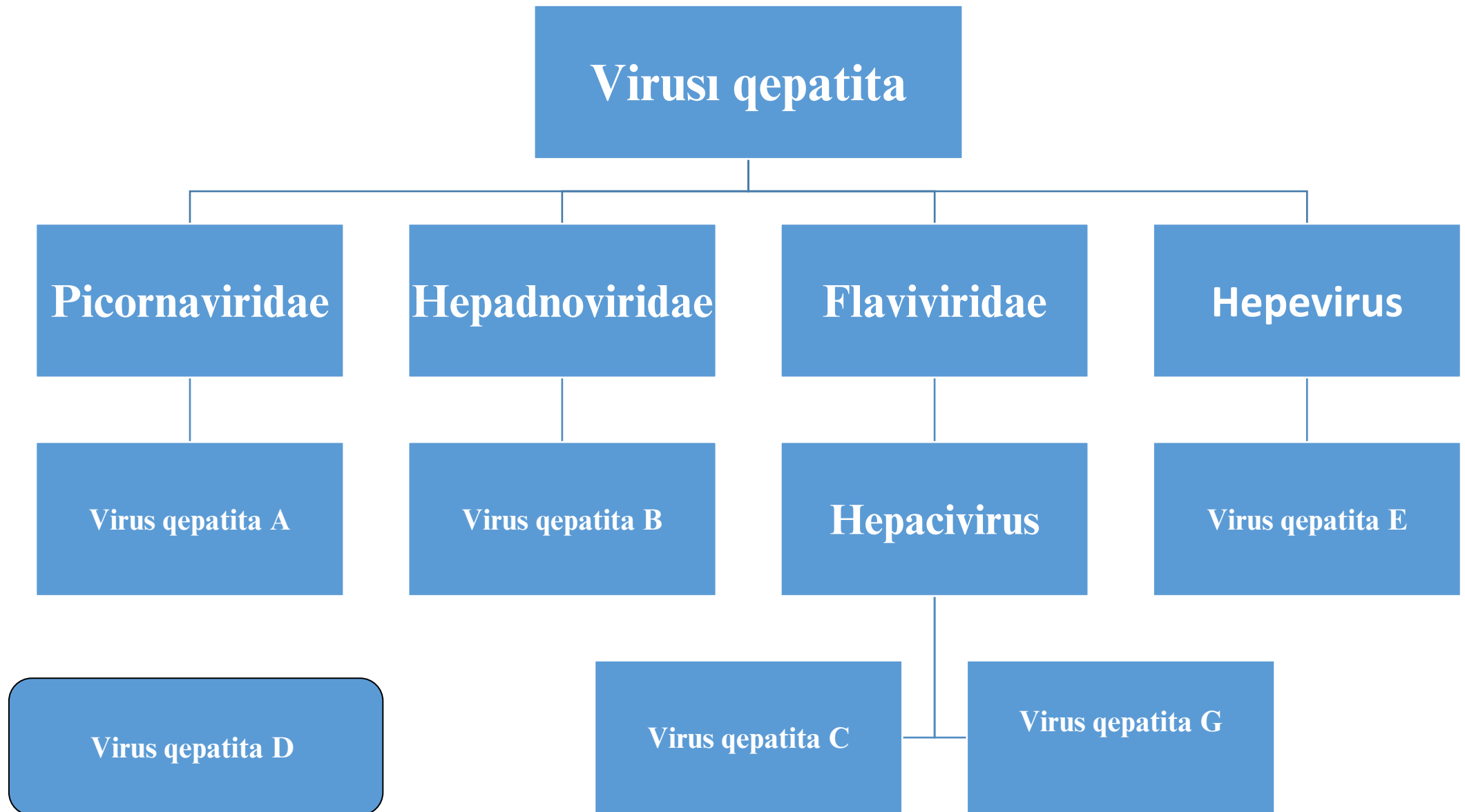


Занятие 22

**Микробиологическая диагностика
вирусных гепатитов, ВИЧ (Вирус
иммунодефицита человека).**

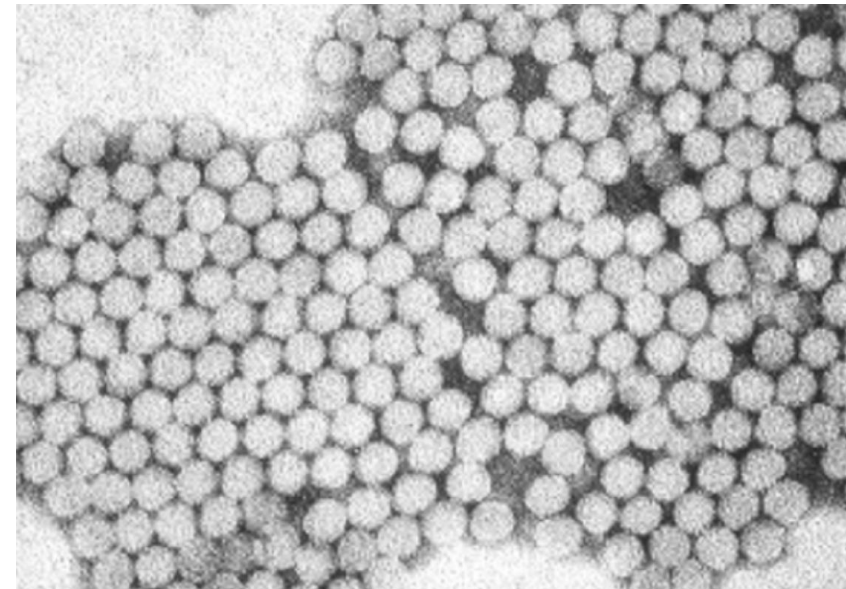
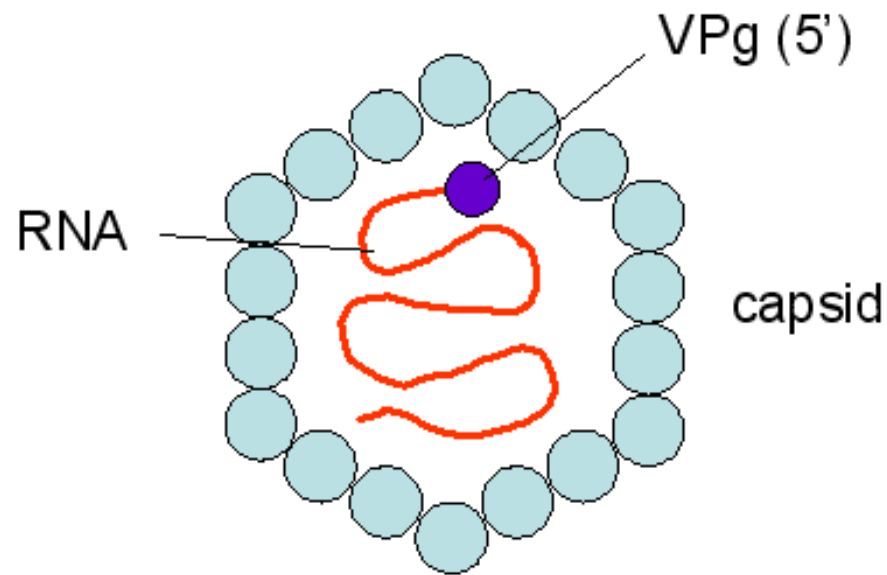
Классификация вирусных гепатитов

- Вирусные гепатиты широко распространены среди населения всех стран мира . Они подразделяются на энтеральные – гепатиты А и Е, парентеральные – гепатиты В, С, D, G и др.
- Несмотря на то ,что возбудители вирусных гепатитов относятся к различным таксономическим группам, их объединяет ***гепатотропность***.



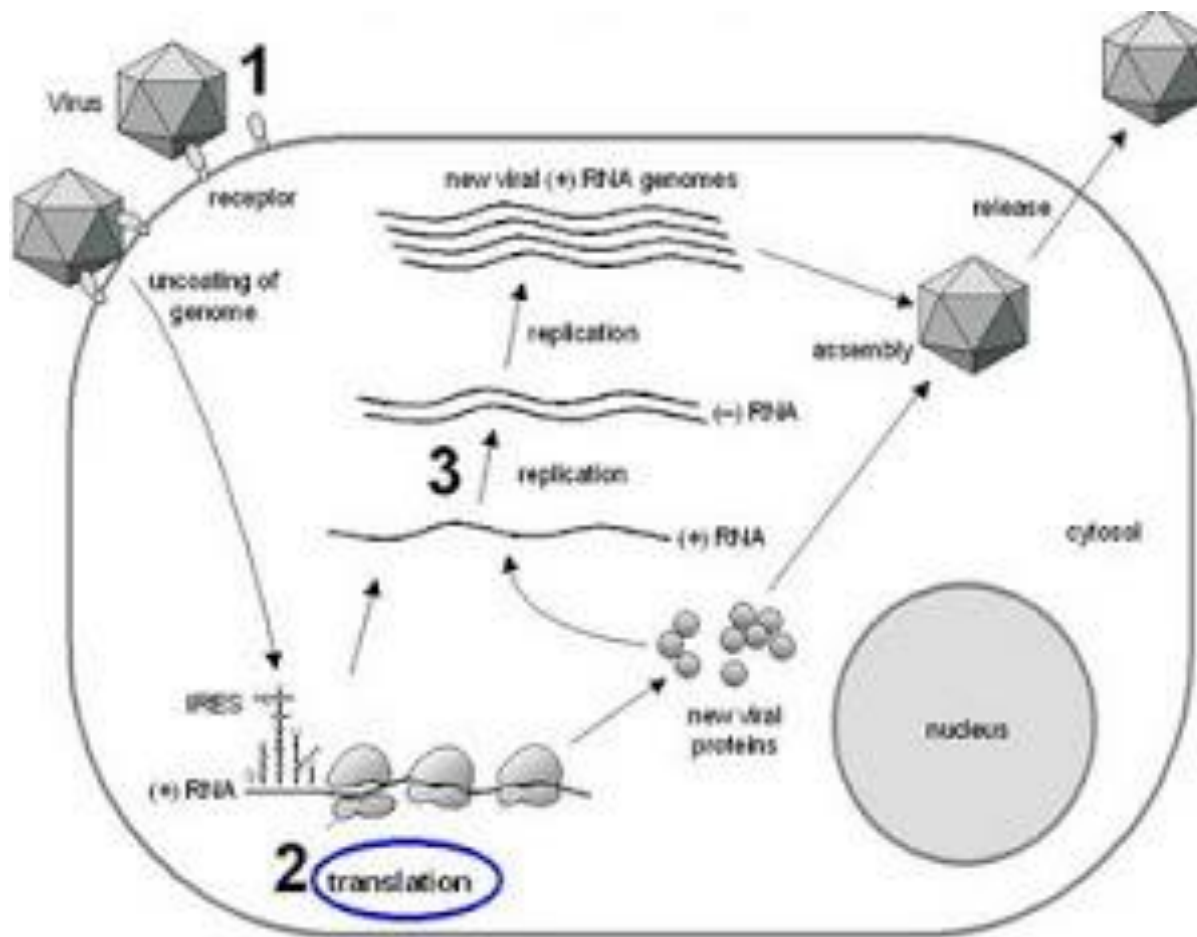
Вирус гепатита А

- ВГА относится к пикорнавирусам
- Это РНК-содержащий, просто организованный вирус диаметром 27-32 нм, сферической формы, имеет один серотип.



Вирус гепатита А

- *Репродукция вируса* схожа с репродукцией прочих пикорнавирусов.
- Вирус культивируют в различных культурах клеток приматов, но свежие изоляты с трудом развиваются в культуре клеток.
- Не вызывает цитопатического эффекта



Вирус гепатита А

- ВГА устойчив к высокой температуре, он сохраняется при 60⁰С в течение часа , при высыхании – до одного месяца ,при -20⁰С сохраняется годами.
- Устойчив в окружающей среде .Инактивируется при кипячении в течение 5 минут.
- Чувствительны к действию 1% раствора гипохлорита.

Источник инфекции и пути передачи

- Гепатитом А болеют преимущественно дети в возрасте от 4 до 15 лет. Источником инфекции является больной человек.
- Механизм заражения – фекально-оральный: передаются через воду, пищевые продукты, предметы обихода, грязные руки.
- Вирусы выделяются с фекалиями начиная со второй половины инкубационного периода и в начале клинических проявлений: в это время больные наиболее опасны для окружающих.
- С появлением желтухи интенсивность выделения вирусов снижается.

Патогенез и клинические проявления гепатита А

- После проникновения в организм человека энтеральным путем репродукция вируса происходит в кишечнике. Вирус гепатита А обладает гепатотропностью, через портальную вену они проникают в печень и реплицируются в цитоплазме гепатоцитов. Цитотоксические Т-лимфоциты взаимодействуя с инфицированными гепатоцитами приводят к их лизису, в крови повышается содержание трансаминаз и билирубина.
- Инкубационный период составляет 10-50 дней, чаще около месяца. Заболевание начинается остро с повышения температуры (38°C и выше), диспептических нарушений (тошнота, рвота и др.). Возможно появление **желтухи** на первой неделе заболевания. У детей обычно бессимптомное течение гепатита А, у взрослых заболевание протекает тяжело. Заболевание продолжительностью 2-3 недели заканчивается выздоровлением.

Qepatit



Микробиологическая диагностика гепатита А

- Вирусные антигены можно обнаружить в фекалиях больного с помощью иммунной электронной микроскопии . Выявить вирус в крови и фекалии возможно с помощью ПЦР.
- Антитела в крови выявляют с помощью ИФА. В начале заболевания в крови появляются IgM , которые сохраняются в организме в течение 3-6 месяцев.Появление антител IgG обеспечивает пожизненный иммунитет. Таким образом, определение антител IgM наиболее важный тест при диагностике гепатита А.

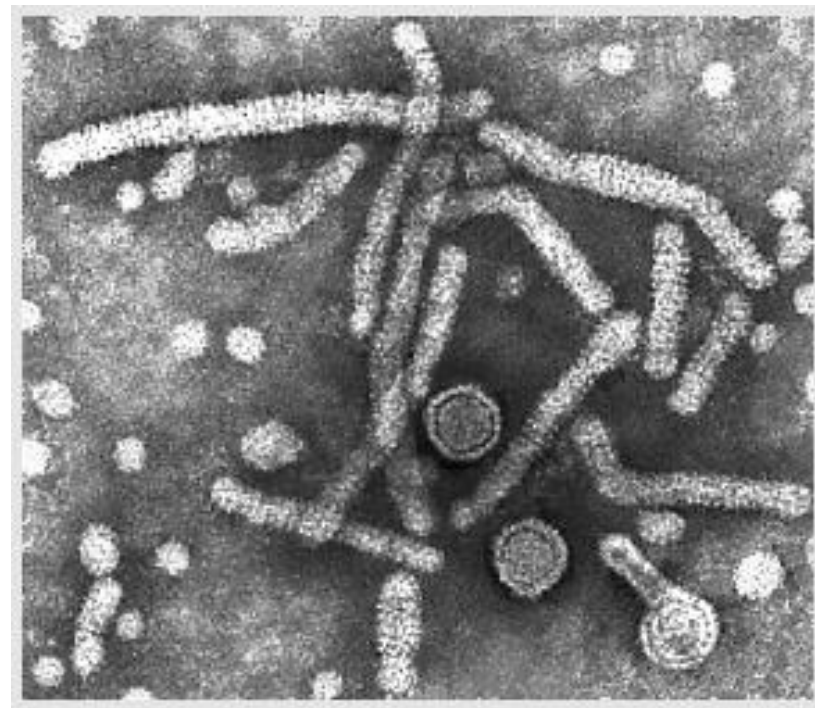
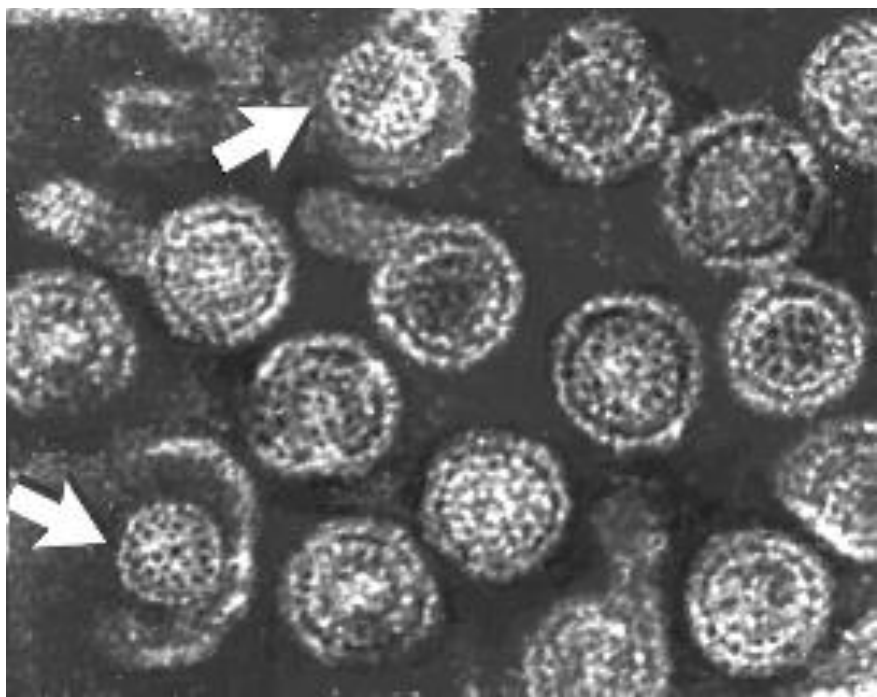
Лечение и профилактика гепатита А

- **Лечение** . Этиотропной терапии нет, проводят симптоматическое лечение .
- **Профилактика** . Для специфической пассивной профилактики используют в основном ***иммуноглобулин по эпидпоказаниям***. Иммунитет сохраняется около 3 месяцев. Для специфической активной профилактики разработана инактивированная культуральная концентрированная вакцина, а также ***рекомбинантная вакцина*** .

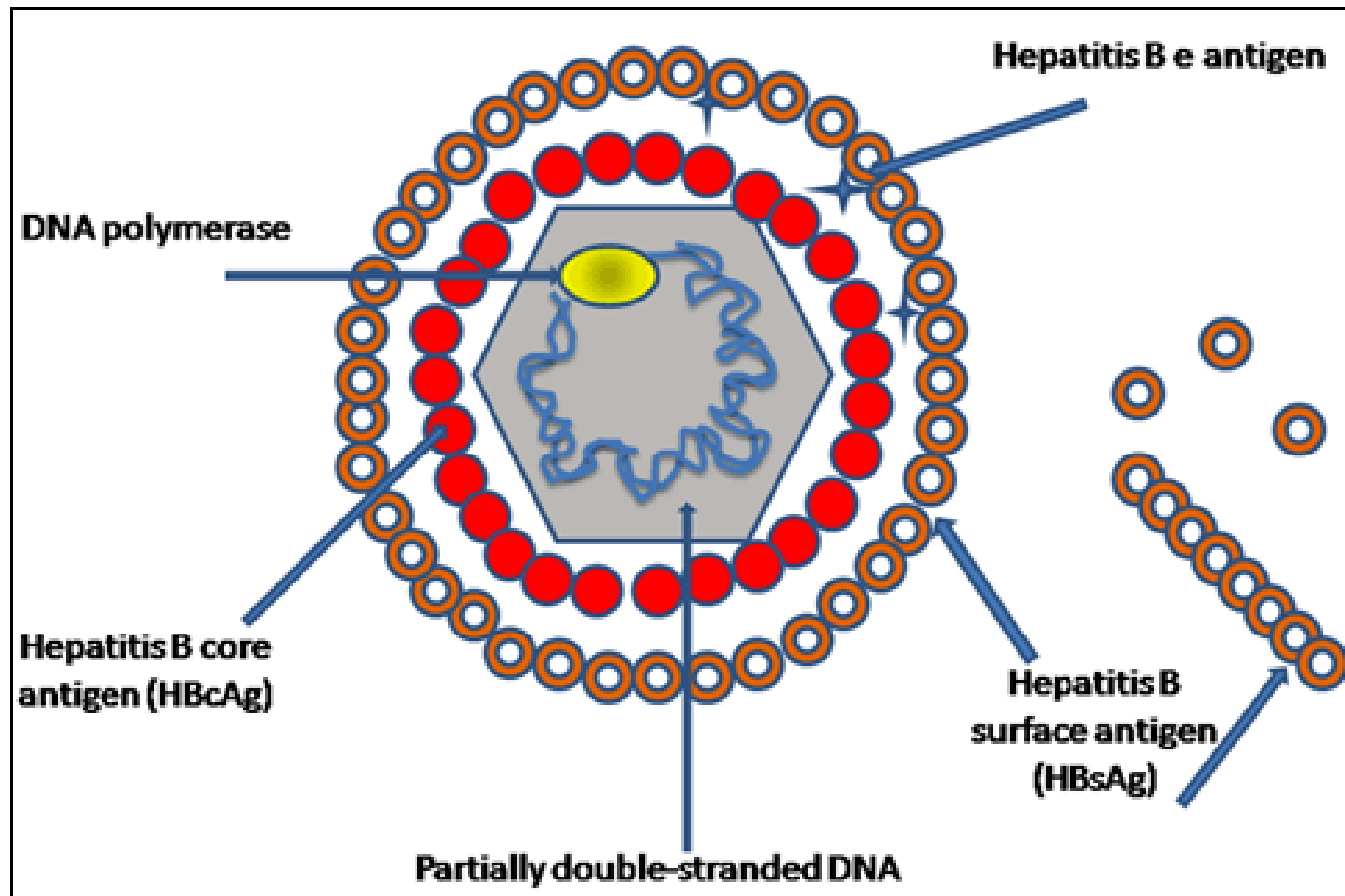
Вирус гепатита В

- Вирус гепатита В (ВНВ) относится ДНК-содержащим вирусам к семейству *Herpadnaviridae* роду *Orthoherpadnavirus*. Впервые был обнаружен под электронным микроскопом в 1970 г. Дейном, получив название «частица Дейна».
- **Морфология и антигенная структура.** ВНВ является сложноорганизованным ДНК-содержащим вирусом сферической формы диаметром 42 нм. Он состоит из сердцевины диаметром 28 нм, построенной по кубическому типу симметрии, состоящей из 180 белковых частиц, составляющих сердцевинный HBc-антиген, и липидсодержащей оболочки, содержащей поверхностный HBs-антиген. Внутри сердцевины находятся ДНК, фермент ДНК-полимераза, обладающая ревертазной активностью, и концевой белок HBe-антиген.
- Геном представлен двунитевой ДНК кольцевой формы, у которой одна цепь (плюс-цепь) укорочена. Таким образом, ДНК генома состоит из полноценной (минус-цепь) L-цепи (от англ., *long*) и укороченной (плюс-цепь) S-цепи (от англ., *short*). Полноценная минус-цепь ковалентно связана с ДНК-полимеразой, которая достраивает плюс-цепь до полноценной структуры. Геном записан на минус-цепи.

Вирус гепатита В



Структура частицы Дейна



HBs-антиген

- ВГВ имеет сложное антигенное строение. В липопротеиновой оболочке вируса находится **HBs-антиген** (от англ. *surface* - поверхностный) , который локализован в гидрофильном слое на поверхности вириона. HBs-антиген обнаруживается в крови не только в составе вирионов , но и в виде самостоятельных фрагментов.
- Впервые антиген был обнаружен в 1963 г. Б.Блумбергом в крови австралийских аборигенов, поэтому получил название «австралийского антигена».
- Присутствие HBs-антигена в крови свидетельствует об инфицированности организма ВГВ.

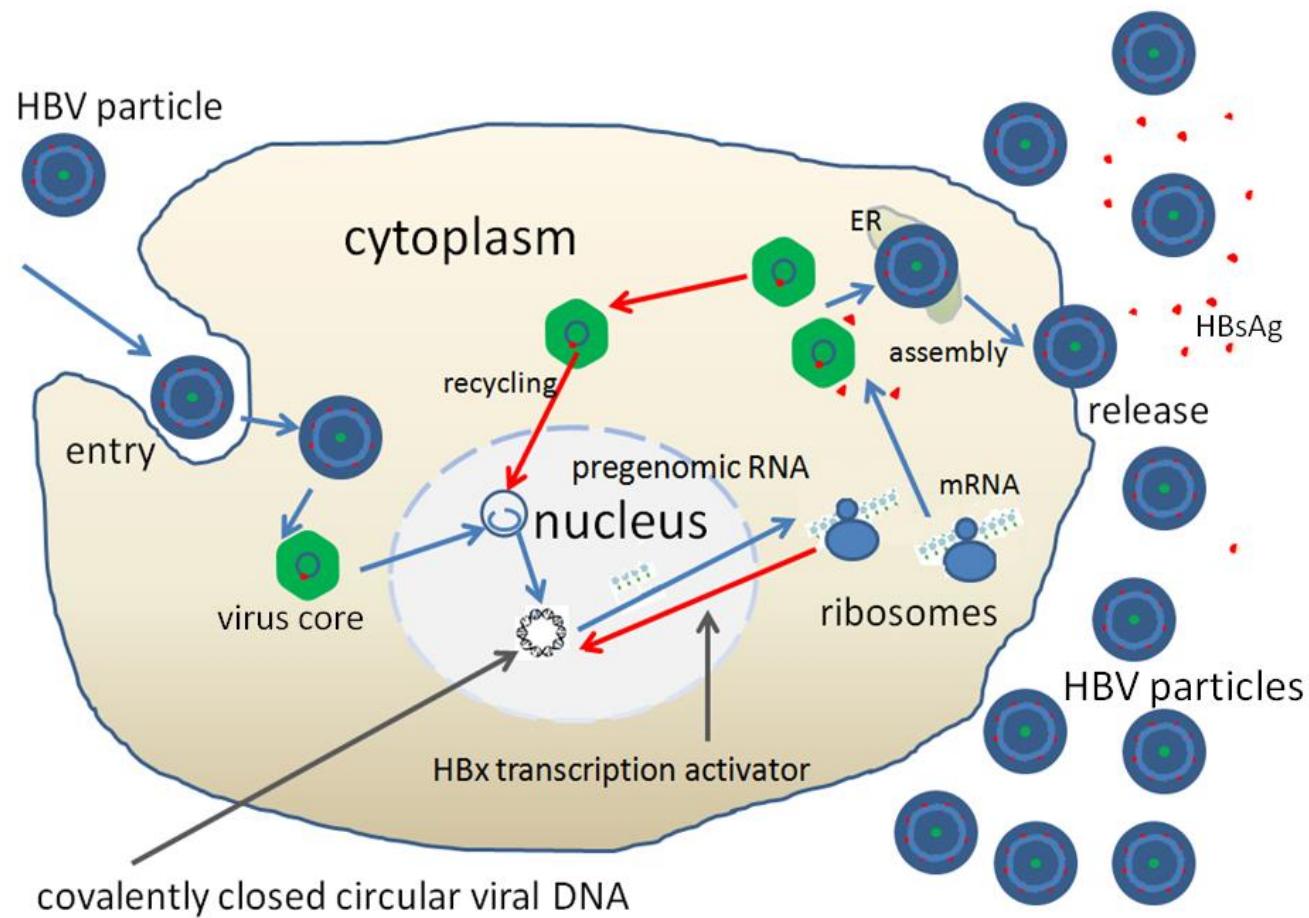
HBc-антиген, HBe-антиген, HBx-антиген

- Сердцевинный **HBc-антиген** (от англ. *core* - сердцевина) никогда не обнаруживается в свободном состоянии в крови. Его можно обнаружить в зараженных вирусом гепатоцитах.
- **HBe-антиген** (от англ. *envelope* – оболочка) также является сердцевинным антигеном, производным HBc-антигена. Появление HBe-антигена в крови связано с репликацией вируса в гепатоцитах .
- **HBx-антиген** – опосредует злокачественную трансформацию клеток печени и можно обнаружить в крови. Этот антиген связывает белок p53, который выполняет функцию супрессора опухолевого роста.

Репродукция

- После адсорбции на поверхности гепатоцитов через HBs- антиген вирус проникает в клетку посредством эндоцитоза
- После депротеинизации, вирусная ДНК-проникает в ядро гепатоцита, где происходит достраивание неполной плюс-нити ДНК и формирование двухцепочечной вирусной ДНК
- На двухцепочечной вирусной ДНК происходит синтез мРНК и прегеномной РНК
- Полимераза вируса за счет ревертазной активности синтезирует на прегеномной РНК полноценную минус-нить ДНК. В дальнейшем минус-нить служит матрицей для синтеза неполной плюс-нити ДНК.
- Сердцевина вируса приобретает оболочку и HBs-антиген при отпочковывании через мембрану комплекса Гольджи
- Вирион выходит из клетки экзоцитозом

Схема репродукции вируса гепатита В



Интеграция

- Интегративная инфекция сопровождается интеграцией кольцевой ДНК вируса в хромосому гепатоцита с образованием **провируса**
- При этом наблюдается синтез HBs-антигена и обнаружение его в крови. В крови также обнаруживаются **HBsAg**-содержащие **сферические** (диаметром 22нм) или **нитевидные** (длиной 50-330нм) частицы. Они не обладают инфекционностью, но высокоиммуногенны

Культивирование

- ВГВ не культивируется на куриных эмбрионах и некоторых культурах клеток .
- ВГВ культивируется только в культуре клеток , полученной из ткани первичного рака печени, в виде персистирующей инфекции, без оказания цитопатического эффекта и с малым накоплением вирионов.
- К вирусу чувствительны приматы: шимпанзе, гориллы, орангутанги, которые используются в качестве экспериментальной модели .

Резистентность к условиям внешней среды

- ВГВ отличается высокой устойчивостью к факторам окружающей среды и дезинфицирующим веществам.
- Температуру 37°C выдерживает около часа, в высушенном состоянии при 25°C стабилен в течение недели. Температуру -20°C выдерживает более 10 лет. При нагревании до 100°C в течение 5 мин сохраняет инфекционную активность.
- Под действием 0,5% гипохлорита инактивируется в течение 3 мин. Термоустойчивость вируса повышается если он находится в крови, т.к. вирус защищен белками крови. В связи с этим, для обеззараживания крови используют гипохлорит в высоких концентрациях (5%) .

Источник инфекции и пути передачи

- Источником инфекции являются вирусоносители и больные люди.
- Основной путь передачи вируса гепатита В – парентеральный. У инфицированных пациентов вирус встречается во всех биологических жидкостях.
- Заражение происходит при парентеральных манипуляциях, переливании крови и при введении препаратов из крови, а также при половых контактах.
- ВГВ передается трансплацентарно от матери плоду и при прохождении плода через родовые пути.

Патогенез заболевания

- Инфекционный процесс наступает после проникновения вируса в кровь. Инкубационный период 3-6 месяцев. Место первичной репликации точно не установлено. Размножение вируса в гепатоцитах происходит через две недели после инфицирования.
- ВГВ из крови эндоцитозом проникает в гепатоцит. После проникновения вируса в гепатоцит начинается его репликация за счет достраивания плюс-нити ДНК до полноценной структуры, после чего возможно развитие интегративной и продуктивной типов инфекций.

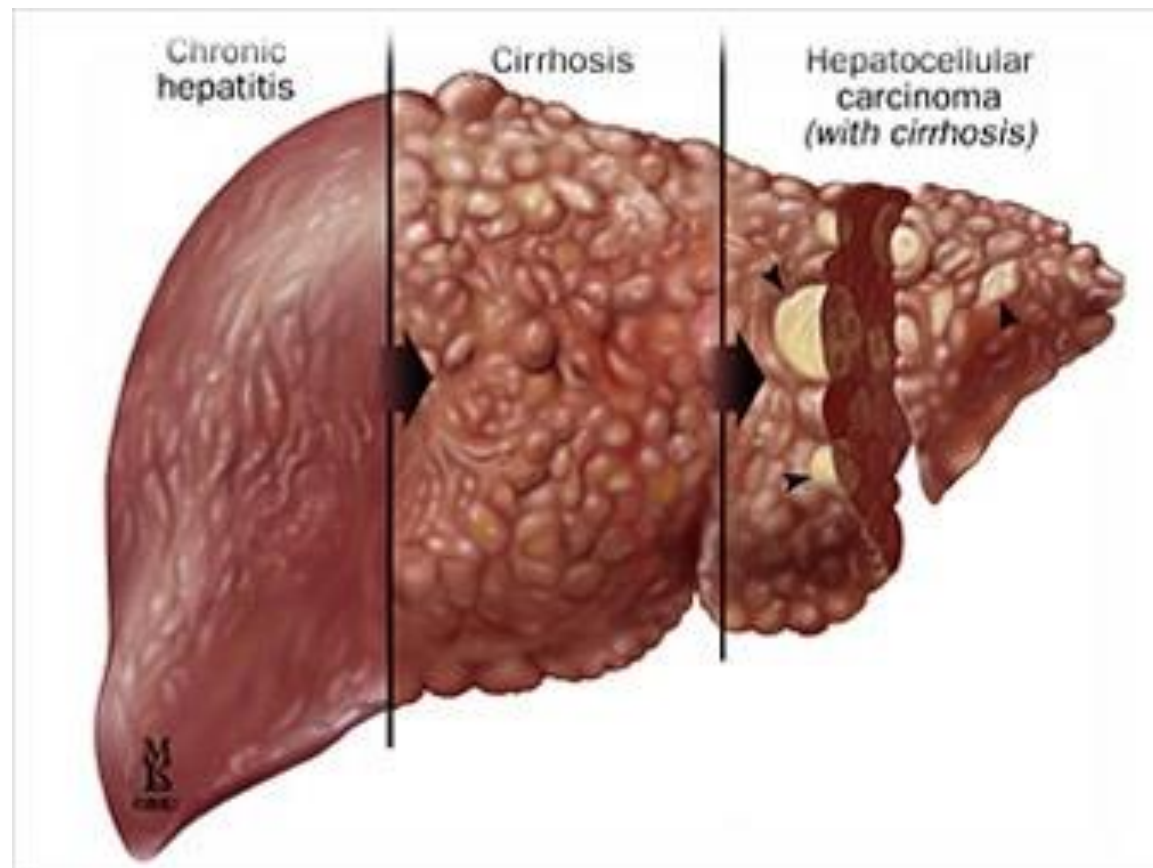
Патогенез заболевания

- **Интегративная инфекция** сопровождается интеграцией кольцевой ДНК вируса в хромосому гепатоцита с образованием **провируса**. При этом наблюдается синтез HBs-антигена. Клинически это проявляется **вирусоносительством**, показателем которого является обнаружение в крови HBs-антигена.
- **В процессе продуктивной инфекции** происходит формирование новых вирусных частиц. Клинически это проявляется активным инфекционным процессом в виде острого или хронического гепатита. Вирус сам не обладает цитолитическим эффектом и не разрушает гепатоцит. Повреждение опосредуется Т-лимфоцитами, которые взаимодействуя с инфицированными гепатоцитами, вызывают их лизис.

Клиника заболевания

- **Острая форма.** К основным клиническим симптомам относятся поражения печени, диспептические нарушения, головная и мышечная боль, повышение уровня желчных пигментов в крови и моче и в большинстве случаев развитие желтухи. Возможны также безжелтушные формы заболевания.
- Острый гепатит в 5-10% случаев переходит в хроническое течение, с развитием цирроза и пожизненного носительства вируса гепатита В.
- **Хроническая форма.** Различают две формы: персистирующий и хронический активный гепатит. Хронический персистирующий гепатит характеризуется умеренным течением и сопровождается незначительным повышением в крови печеночных ферментов. Для хронического активного гепатита характерно тяжелое течение, в некоторых случаях проявляется в виде острого гепатита. Хроническая форма гепатита В приводит к острой печеночной недостаточности, циррозу и первичной карциноме печени, приводящими к **летальному исходу**.

İzmeneniə v peçeni pri qepatite B



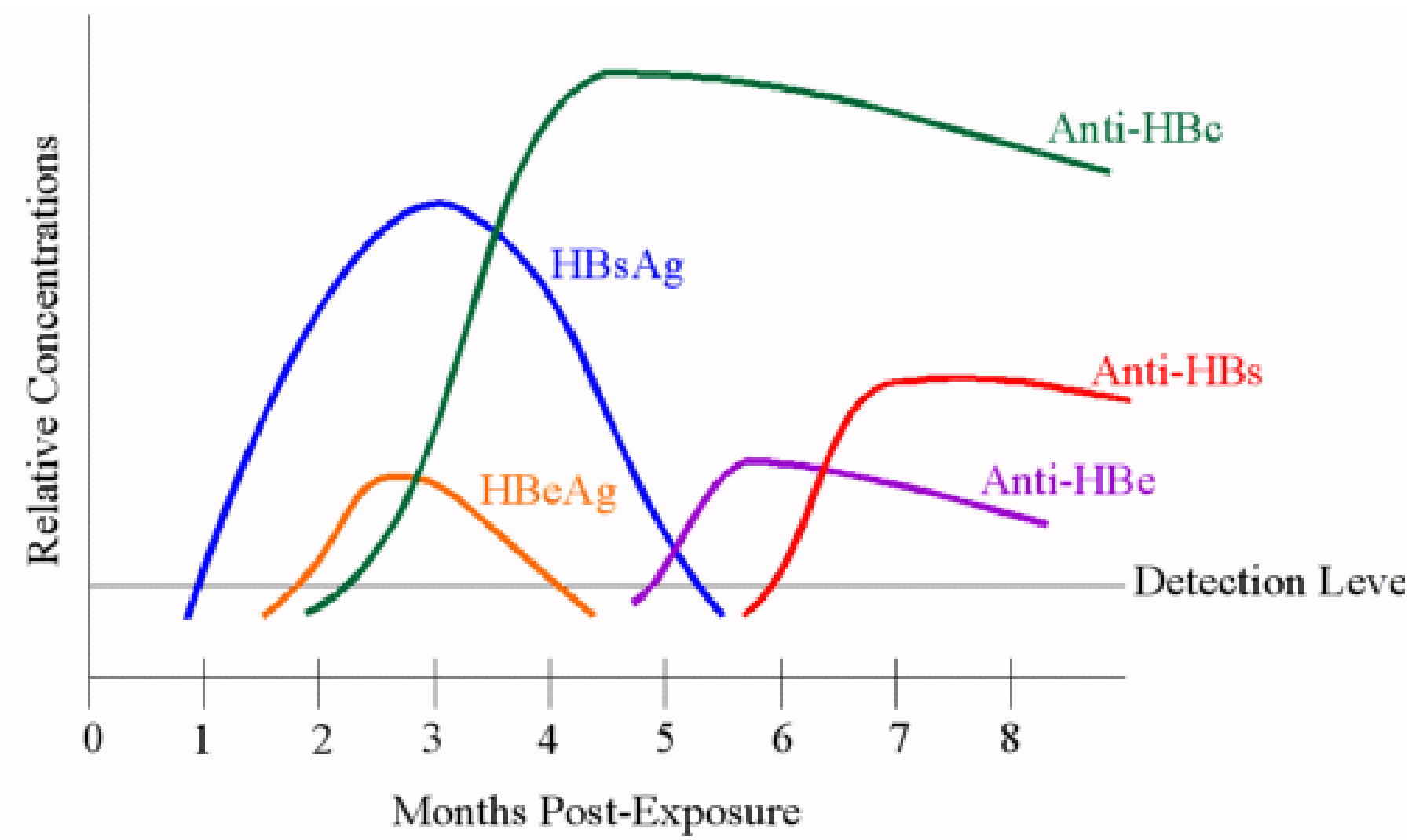
Микробиологическая диагностика

- **Микробиологическая диагностика** основана на выявлении в сыворотке крови больного гепатитом В антигенов и антител с помощью ИФА, а также обнаружения вирусной ДНК методом ПЦР.
- HBs-антиген определяется в крови через 2-6 недель после проявления клинических и биохимических признаков заболевания и обычно исчезает через 6 месяцев.
- При хроническом вирусоносительстве HBs-антиген присутствует в сыворотке крови больного дольше 6 месяцев - в течение многих лет

Микробиологическая диагностика

- Обнаружение анти-НВс-IgM антител в период клинических симптомов заболевания указывает на репликацию вируса.
- НВе-антиген обнаруживается вскоре после появления клинических симптомов заболевания.
- При хроническом вирусоносительстве анти-НВе-антитела **циркулируют** в сыворотке крови больного более чем 6 месяцев.

Dinamika seroloqicheskix markerov pri gepatite B



Worldwide Rates of Chronic Hepatitis B



Лечение

- Для противовирусного лечения гепатита В используют рекомбинантный **альфа-интерферон** , однако этот препарат обеспечивает длительную ремиссию только у 35% пациентов
- Несмотря на то, что **ламивудин** , являющийся ингибитором ревертазы, уменьшает уровень ДНК вируса, после прекращения его приема или в результате развившейся резистентности может наблюдаться возобновление репликации вируса

Профилактика

- Важнейшей и наиболее эффективной мерой профилактики гепатита В является **предотвращение** попадания вируса при парентеральных манипуляциях и переливаниях крови (применение одноразовых шприцев, систем переливания крови, инструментов, проверка на гепатит В по наличию HBs-антигена в крови доноров крови, органов и тканей, используемых для трансплантации и искусственного оплодотворения).
- Специфическая профилактика осуществляется рекомбинантной генно-инженерной вакциной, содержащей HBs-антиген. Вакцинации подлежат все новорожденные в первые 24 часа, далее – по календарю прививок. Среди взрослого населения трехкратной вакцинации подвергаются лица, относящиеся к группе высокого риска заражения гепатитом В. Длительность поствакцинального иммунитета – не менее 7 лет.
- В случае риска заражения (при контакте с инфицированным материалом) используется **содержащий высокий титр антител против ВГВ специфический иммуноглобулин**, обычно в комбинации с вакциной

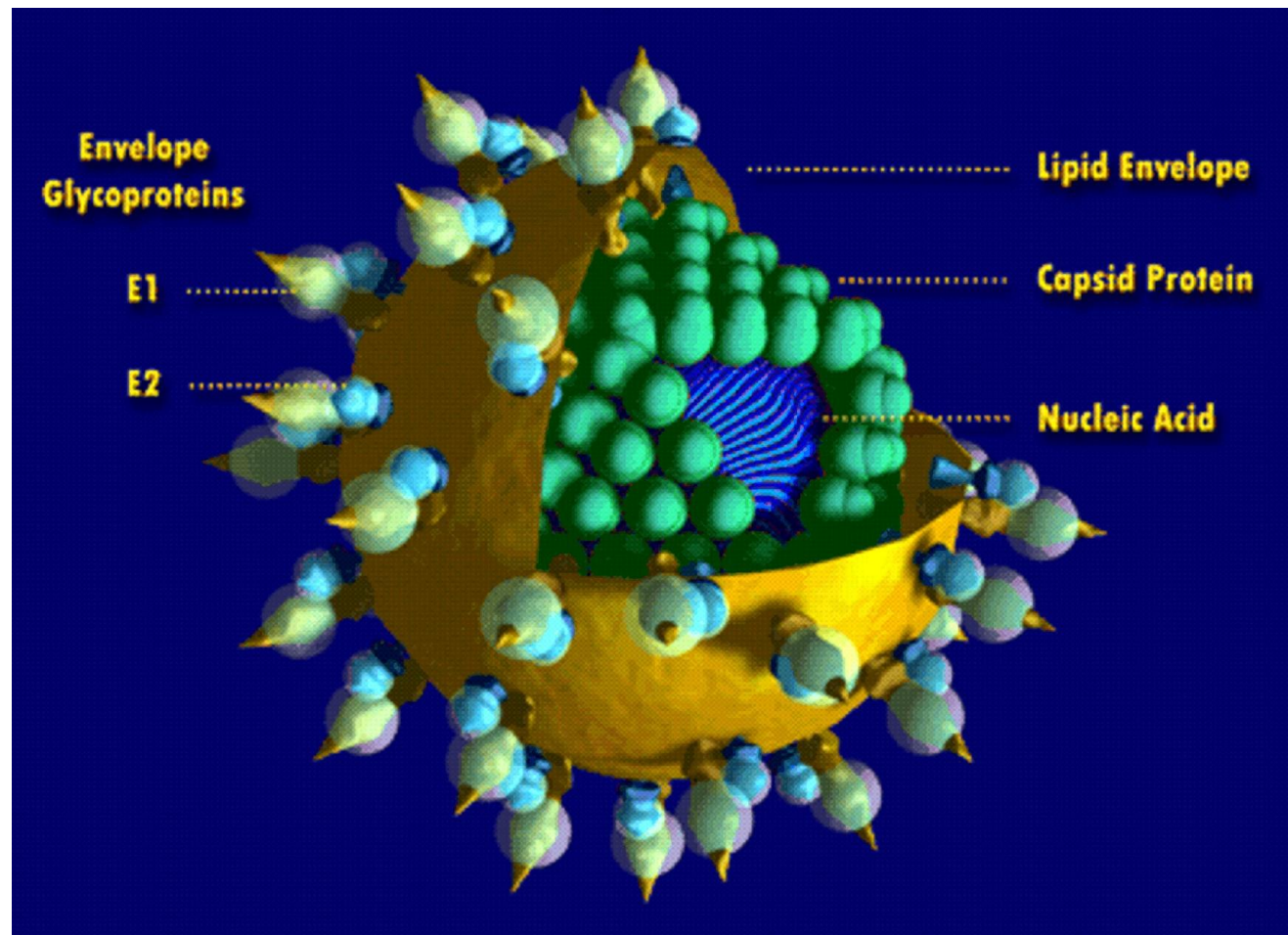
Рекомбинантная вакцина



Вирус гепатита С

- Вирус гепатита С (HCV) относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*.
- Вирус гепатита С, схожий по структуре с другими вирусами семейства *Flaviviridae*, сложноустроенный сферической формы диаметром 50-60 нм. Геном образует однонитевая плюс-РНК. Нуклеокапсид снаружи окружен двухслойной липопротеиновой оболочкой, которая содержит на своей поверхности гликопротеины E1 и E2 (от англ. *envelope* - оболочка).
- Выделяют **6 генотипов**, которые в свою очередь подразделяются на 100 субтипов. По последовательности нуклеотидов генотипы отличаются между собой более чем на 25%, а субтипы - на 15-25%
- Наиболее часто распространены 1-4-ый генотипы вируса гепатита С

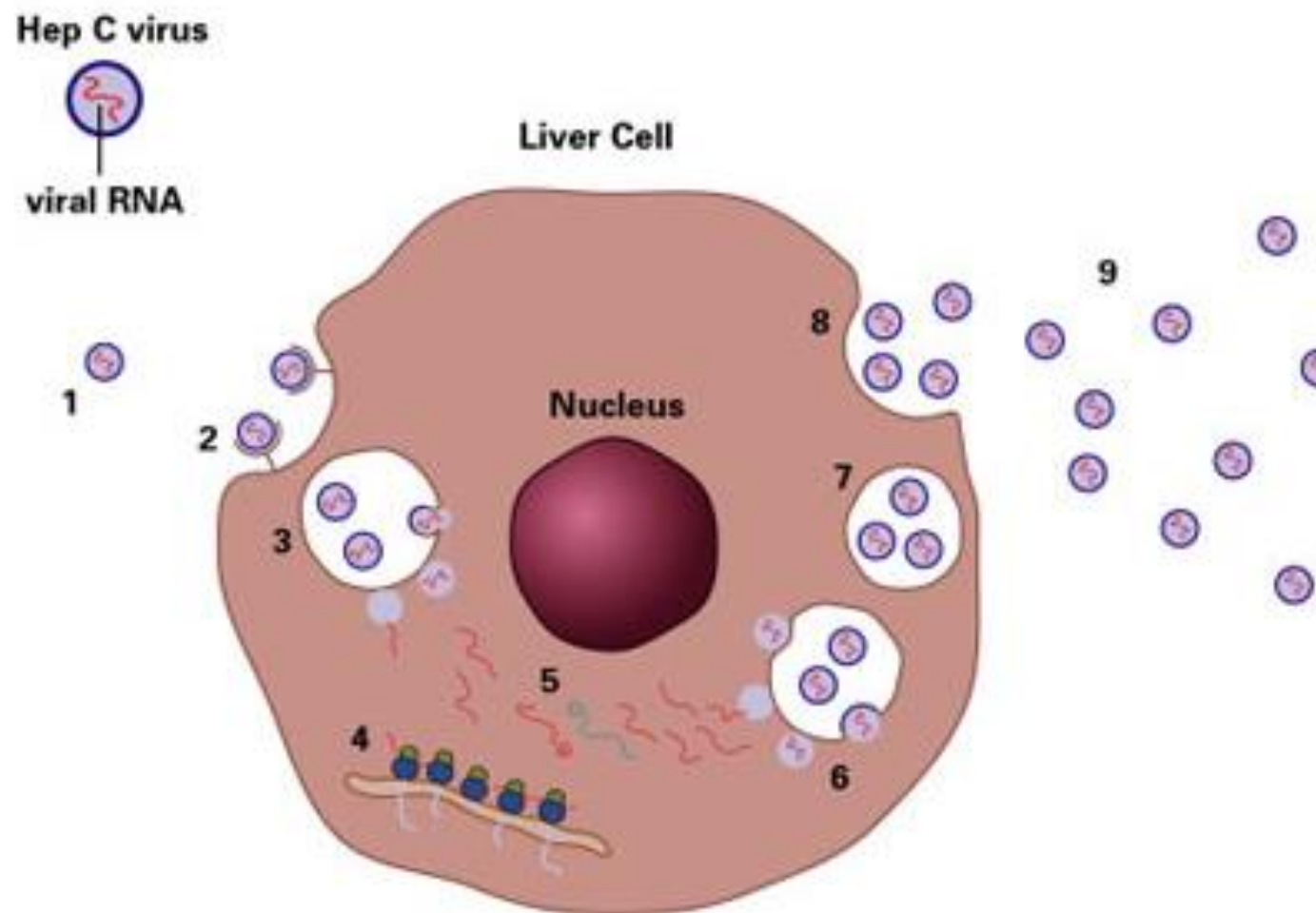
Вирус гепатита С



Репродукция

- Репродукция вируса гепатита С происходит в цитоплазме гепатоцитов клетки-хозяина. Вирус проникает в клетку путем **рецептор-зависимого** эндоцитоза. В последующем происходит слияние вирусной оболочки с **мембраной эндосомы**. **Геномная РНК** участвует в синтезе полипротеина. В результате расщепления полипротеина вирусными и клеточными протеазами происходит **формирование структурных и неструктурных белков вируса**. Созревание происходит путем почкования не через плазматическую мембрану, а через мембраны эндоплазматической сети. Зрелые вирионы собираются во **внутриклеточных** вакуолях.

Схема репродукции вируса гепатита С



Культивирование

- Вирус не культивируется на куриных эмбрионах, не обладает гемолитической и гемагглютинирующей активностью.
- В качестве экспериментальной модели заражают шимпанзе. Вирус трудно адаптируется к культивированию в культуре клеток.
- Чувствителен к эфиру, детергентам, УФ-лучам, нагреванию до 50°C.

Источник инфекции и пути передачи

- Источник инфекции – вирусоноситель и инфицированный человек.
- Заражение вирусом гепатита С аналогично заражению ВГВ.
- Трансплацентарное заражение ВГС происходит реже (3-10% случаев), не установлено случаев заражения через материнское молоко.
- Приблизительно 7-8% случаев заражения приходится на половой путь передачи.

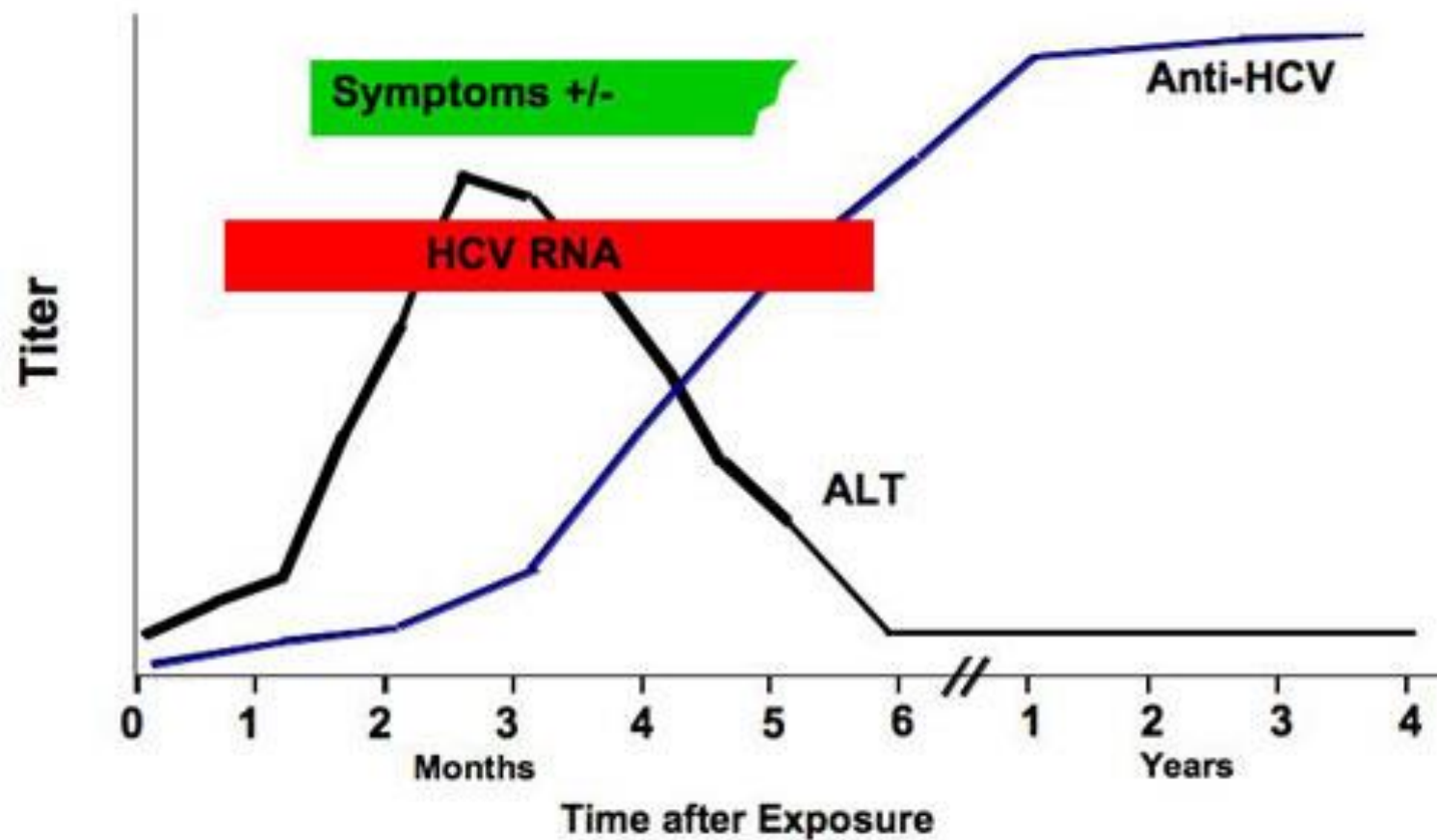
Патогенез и клинические проявления заболевания

- Инкубационный период составляет 6-7 недель. Патогенез гепатита С связан с поражением печени вследствие размножения вируса в гепатоцитах. Клиническое течение гепатита С более легкое, чем гепатита В. Заболевание часто протекает в субклинической форме.
- В 20-30% случаев заболевание сопровождается желтухой, в 10-20% - развиваются неспецифические симптомы: температура, анорексия, слабость, боли в области живота.
- Часто встречаются безжелтушные формы, выявить которые можно по увеличению аланинтрансаминазы в крови. У 70-90% больных развивается **хронический гепатит**, среди которых отмечается **хронический активный гепатит** и приблизительно в 10-20% случаев **цирроз**, реже развивается **гепатоцеллюлярная карцинома**.
- При заражении, вызванном **3 генотипом** наиболее часто наблюдаются случаи самоизлечения. **4 генотип** вызывает острое заболевание, склонное к переходу в хроническую форму

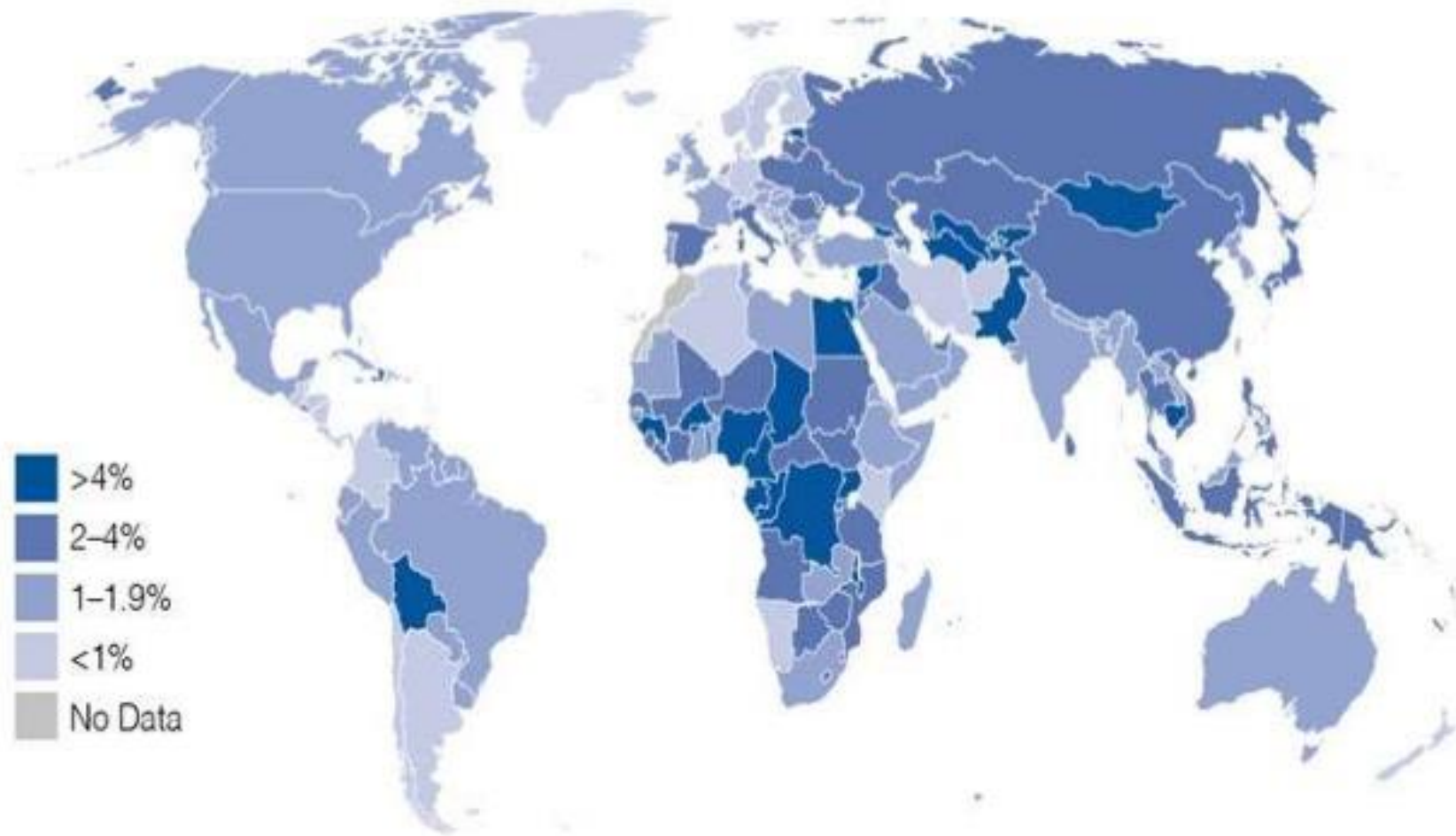
Микробиологическая диагностика

- Серологическое исследование направлено на определение антител с помощью ИФА.
- У 50-70% лиц антитела к ВГС появляются одновременно с развитием клинических признаков, в остальных случаях они появляются спустя 3-6 недель и сохраняются в крови очень долго (более 25 лет)
- Обнаружение в крови больного вирусной РНК проводят с помощью реал-тайм ПЦР. Этим методом возможно определить генотип вируса гепатита С.

Dinamika seroloqiceskix markerov pri qepatite C



Global Hepatitis C Prevalence



Source: Lavanchy, D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. Clin Microbiol Infect. 2011; 17:107–115.

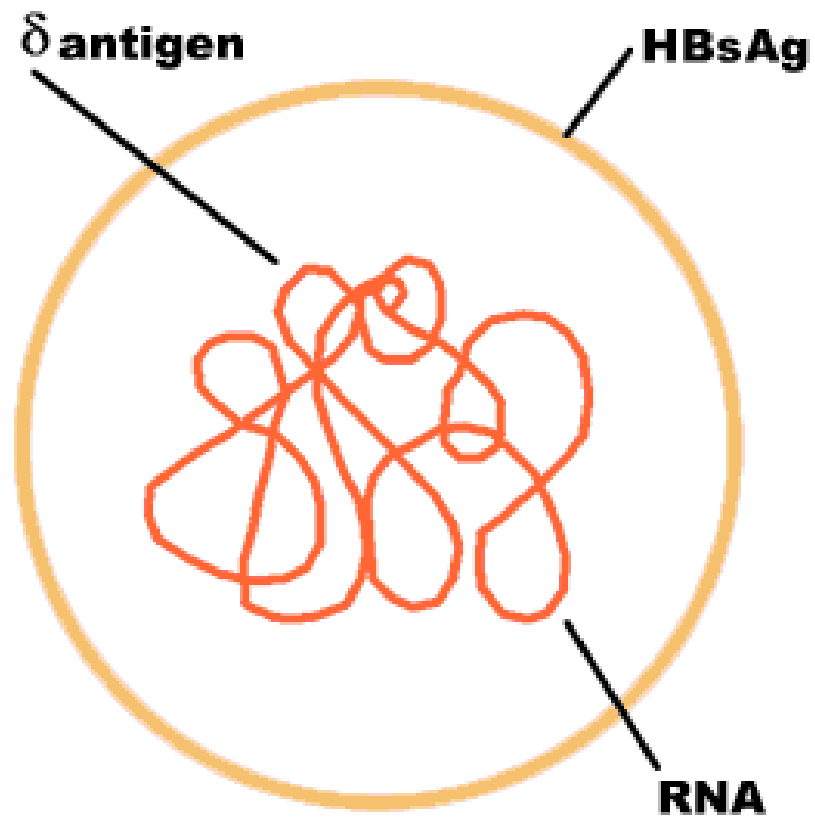
Лечение

- В настоящее время для лечения гепатита С применяют комбинацию ***альфа-интерферона и рибавирина***.
- У некоторых пациентов такое лечение является эффективным (50%). Вирус гепатита С ***1 генотипа*** в меньшей степени реагирует на воздействие интерферона и рибавирина.
- Пациенты, инфицированные вирусом гепатита ***2-генотипом*** С несколько легче поддаются лечению.

Вирус гепатита D

- **Вирус гепатита D** является сателлитом вируса гепатита В, в отдельности не вызывает заболевания. Вирус можно обнаружить у некоторых пациентов с гепатитом В.
- HDV не классифицирован
- Вирион сферической формы диаметром 35-37 нм. Поверхностный HBs-антиген формирует его наружную оболочку.
- Геном вируса образует однонитевая кольцевая минус-РНК. РНК-геном вируса гепатита D очень мал и кодирует только **сердцевинный** белок, называемый дельта-антиген.

Вирус гепатита D



Вирус гепатита D

- Вирус является сателлитом, не способным к самостоятельной репродукции.
- Вирус может реплицироваться только в клетке, уже инфицированной вирусом гепатита В, поскольку вирус гепатита D использует поверхностный HBs-антиген вируса гепатита В.
- Соответственно, моноинфекция вирусом гепатита D абсолютно невозможна. При одновременном инфицировании гепатит протекает значительно тяжелее.

Гепатит D

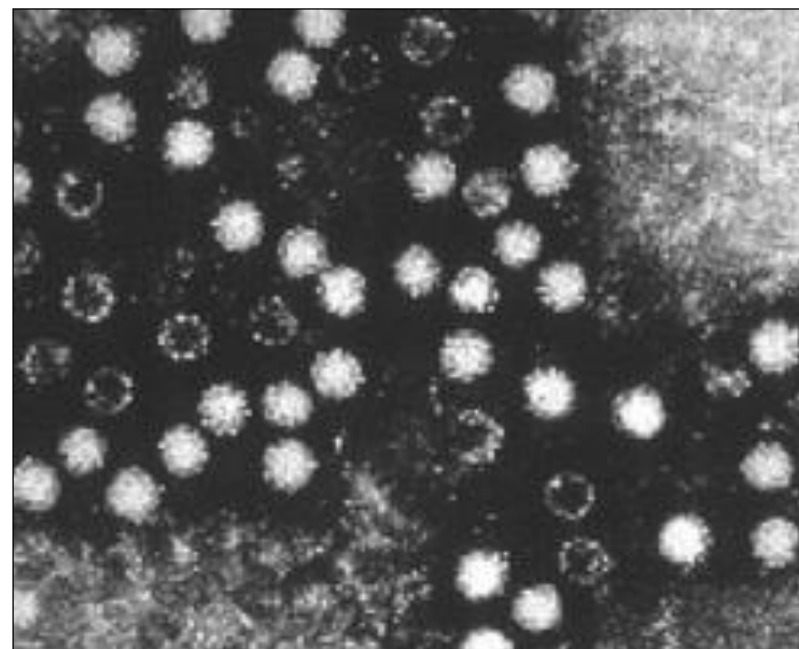
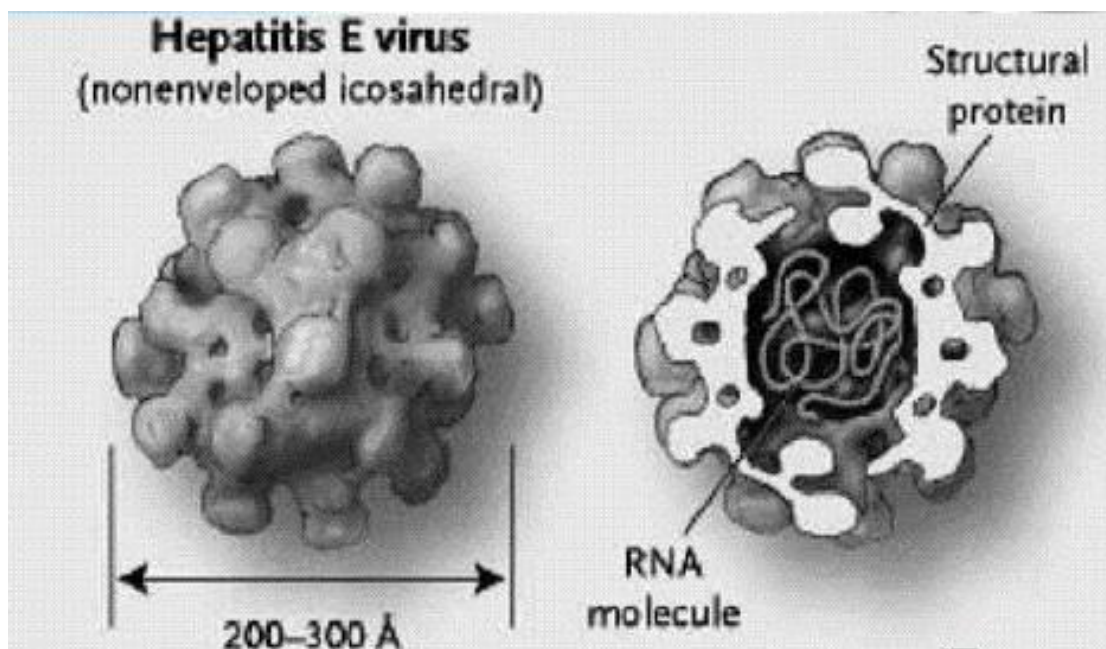
- Источником инфекции являются носители вируса гепатита В, заражение аналогично инфицированию вирусом гепатита В .
- Инкубационный период длится 2-12 недель. Одновременное инфицирование HBV и HDV – **коинфекция** приводит к развитию умеренной формы болезни.
- Инфицирование HDV больных хронической формой гепатита – **суперинфекция** утяжеляет течение инфекции, приводя к развитию острой печеночной недостаточности и цирроза печени (фульминантный гепатит).

Диагностика гепатита D

- Диагностика основана на определении дельта-антигена и антител (анти-HDV IgM) с помощью ИФА в сыворотке крови больного.
- РНК вируса выявляют методом ПЦР.

Вирус гепатита Е

- Вирус гепатита Е (HEV) относится к неизвестному семейству, роду *Hepevirus*.
- Вирус безоболочечный, сферической формы диаметром 30-40 нм.
- Геном – однонитевая плюс-РНК.

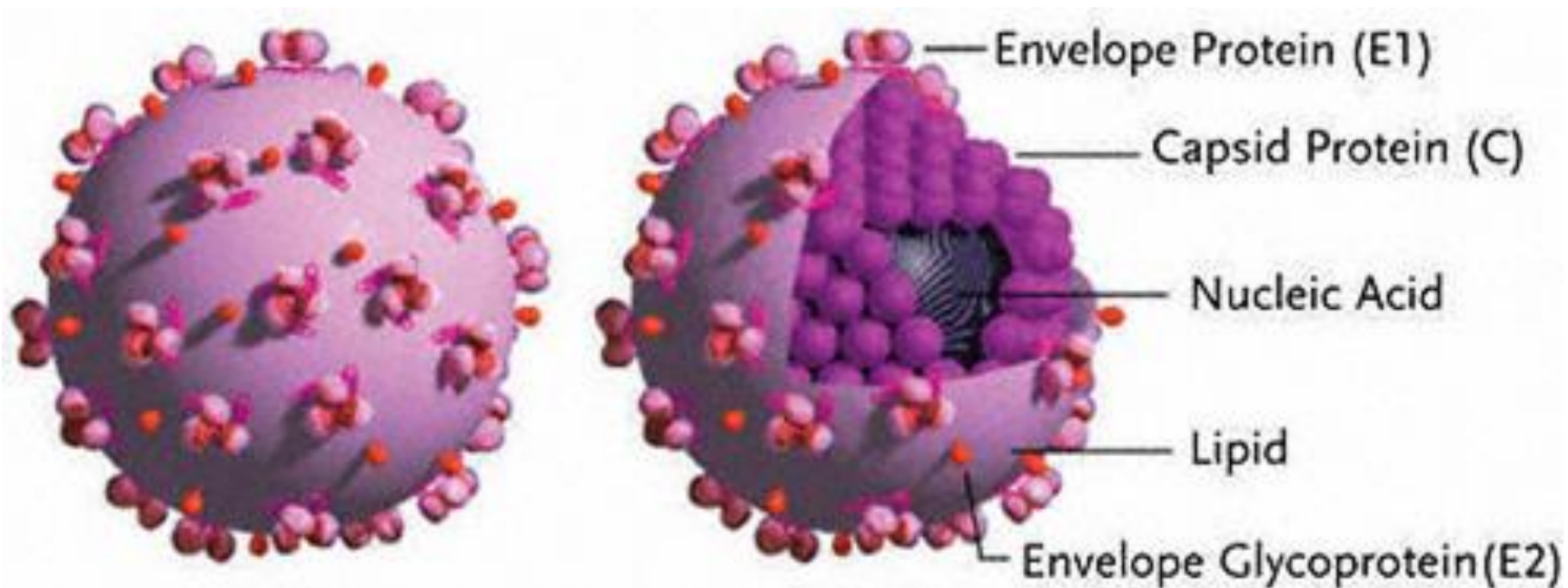


Гепатит Е (патогенез)

- Источник инфекции – больные люди , также может передаваться через некоторых животных (грызуны, кошки, свиньи и др.).
- Эпидемиология заболевания во многом аналогична гепатиту А , путь передачи – алиментарный, в основном через воду. Инкубационный период не превышает 2-6 недель. Заболевание сопровождается умеренным поражением печени, интоксикацией, реже желтухой.
- Инфицирование беременных может закончиться летально. После перенесенного заболевания формируется стойкий иммунитет.

Вирус гепатита G

- **Вирус гепатита G** как и HCV относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*. Известно 5 генотипов вируса (A, B, C, D, E) .



Гепатит G

- Гепатит G может вызывать хроническую инфекцию, длящуюся десятилетиями. Приблизительно 60-70% инфицированных излечиваются и у них вырабатывается иммунитет.
- ВГГ в основном передается при половом контакте и через кровь .
- В США возбудитель находят у 2% обследованных доноров крови, 15% инфицированных HBV и 35% инфицированных ВИЧ.
- У пациентов, одновременно инфицированных ВИЧ и гепатитом G, летальность ниже, а также уровень ВИЧ в крови ниже , чем у пациентов, **зараженных** только ВИЧ.

Семейство *Retroviridae* (ретровирусы)

- Семейство *Retroviridae* включает в себя однонитевые РНК содержащие вирусы. Наличие фермента (*reverse transcriptase* или РНК-зависимая ДНК-полимераза или обратная транскриптаза) обеспечивает обратную направленность потока генетической информации от РНК к ДНК, в связи с чем семейство и получило свое название.
- Ретровирусы имеют сферическую форму размером 80-110 нм. Вирион обладает оболочкой и нуклеокапсидной сердцевиной со спиральным типом симметрии. Липопротеиновая оболочка пронизана гликопротеиновыми шипами.
- В центре сердцевины расположен вирусный геном и связанная с ним обратная транскриптаза.
- Геном представлен двумя идентичными плюс-нить РНК.

Репродукция

- Вирусы связываются гликопротеинами оболочки с рецепторами клетки и проникают в нее путем эндоцитоза. После высвобождения вируса от суперкапсида обратная транскриптаза индуцирует синтез ДНК-**провируса**, используя в качестве матрицы молекулу РНК и интеграцию его с геномом клетки хозяина.
- Вирусная РНК синтезируется ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразы клетки-хозяина на ДНК провируса, а также информационной РНК, которая обеспечивает синтез вирусных белков. Информационная РНК обеспечивает синтез вирусных белков в рибосомах клетки-хозяина и в конечном итоге вирус, образованный комбинацией вирусной РНК и белков, покидает клетку путем отпочковывания. Интегрированная молекула ДНК транскрибируется клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразой с образованием вирусной РНК.

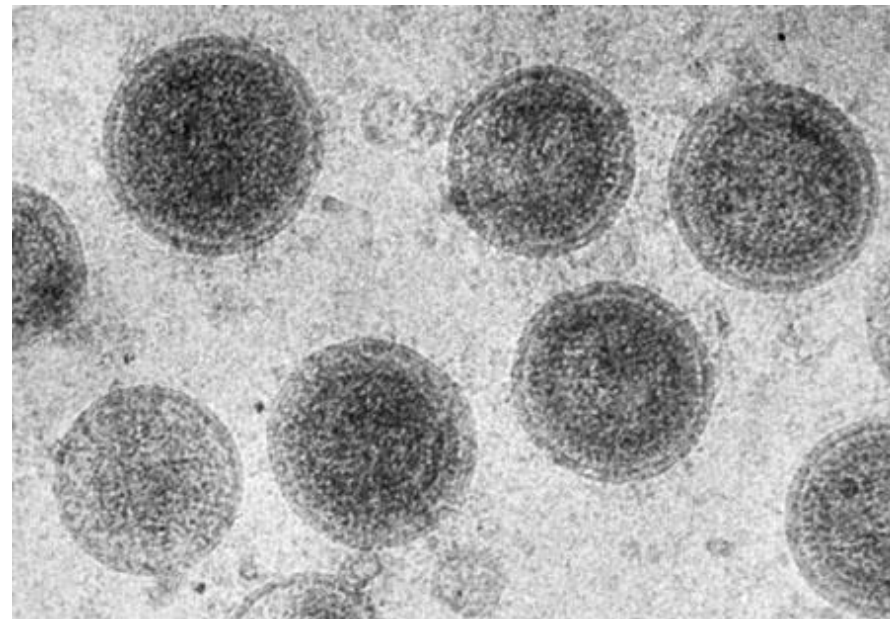
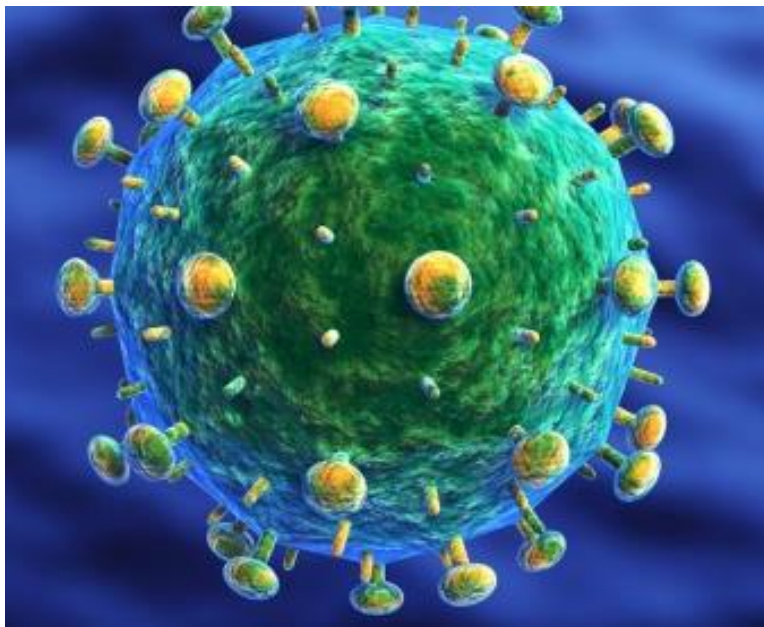
Классификация ретровирусов

- Семейство *Retroviridae* включает 7 родов. Большинство из них у различных животных вызывают злокачественные опухоли (саркома, рак, лейкоз и др.).
- В патологии человека значение имеют вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2) и вирусы Т-клеточных лейкозов (HTLV-1 и HTLV-2).

Вирус иммунодефицита человека

- Вирус иммунодефицита человека - HIV (от англ. *human immunodeficiency virus* или ВИЧ) – лимфотропный вирус, относящийся к семейству *Retroviridae* роду *Lentivirus*.
- HIV вызывает ВИЧ-инфекцию, заканчивающуюся синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД или от англ. *AIDS - acquired immunodeficiency syndrome*).

Вирус иммунодефицита человека



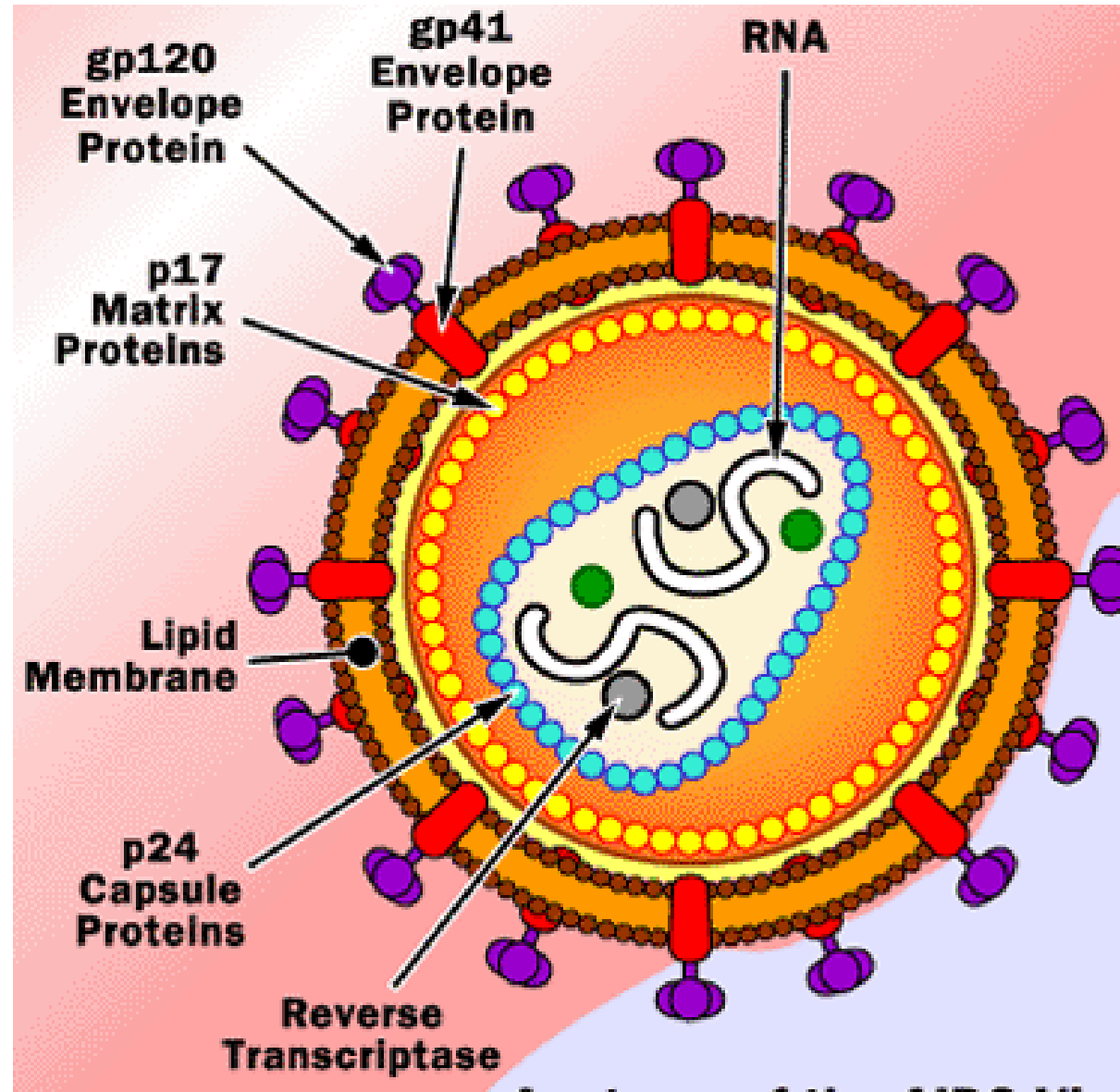
Строение ВИЧ

- ВИЧ - РНК-содержащий вирус сферической формы диаметром 100 нм. По структуре похож на прочие ретровирусы.
- Снаружи покрыт двухслойной липидной оболочкой. Оболочка пронизана гликопротеиновыми шипами gp160 с молекулярной массой 160 кДа. Гликопротеиновая молекула gp160 состоит из 2 субъединиц: gp120 (молекулярная масса 120 кДа), находящейся на поверхности вириона и трансмембранного гликопротеина gp41 (молекулярная масса 41 кДа), пронизывающей его липидную оболочку.
- В поверхностном белке gp120 имеется гипервариабельный участок (V), состоящий из 5 аминокислотных остатков, что обеспечивает антигенные различия его изолятов. Благодаря наличию этой зоны вариабельность МИА в сотни раз выше, чем у вируса гриппа.

Строение ВИЧ

- Сердцевина вируса имеет конусовидную форму и состоит из капсидных белков p24, матриксных белков p17 и белков протеазы p10.
- В сердцевине вируса как и у всех ретровирусов имеется обратная транскриптаза.
- Геном вируса представлен двумя идентичными линейными плюс-нитевыми РНК. Геном состоит из 4 основных структурных генов (*gag*, *pro*, *pol*, *env*) и 7 регуляторных генов (*tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr*, *vpu*, *vpx*). Ген *gag* (от англ. *group antigen* – групповой антиген) кодирует матриксные, капсидные, нуклеокапсидные белки, ген *pro* (от англ. *protease* – протеаза) кодирует протеазу, ген *pol* (от англ. *polymerase* – полимеразы) кодирует обратную транскриптазу, ген *env* (от англ. *envelope* – оболочка) кодирует гликопротеин gp160.

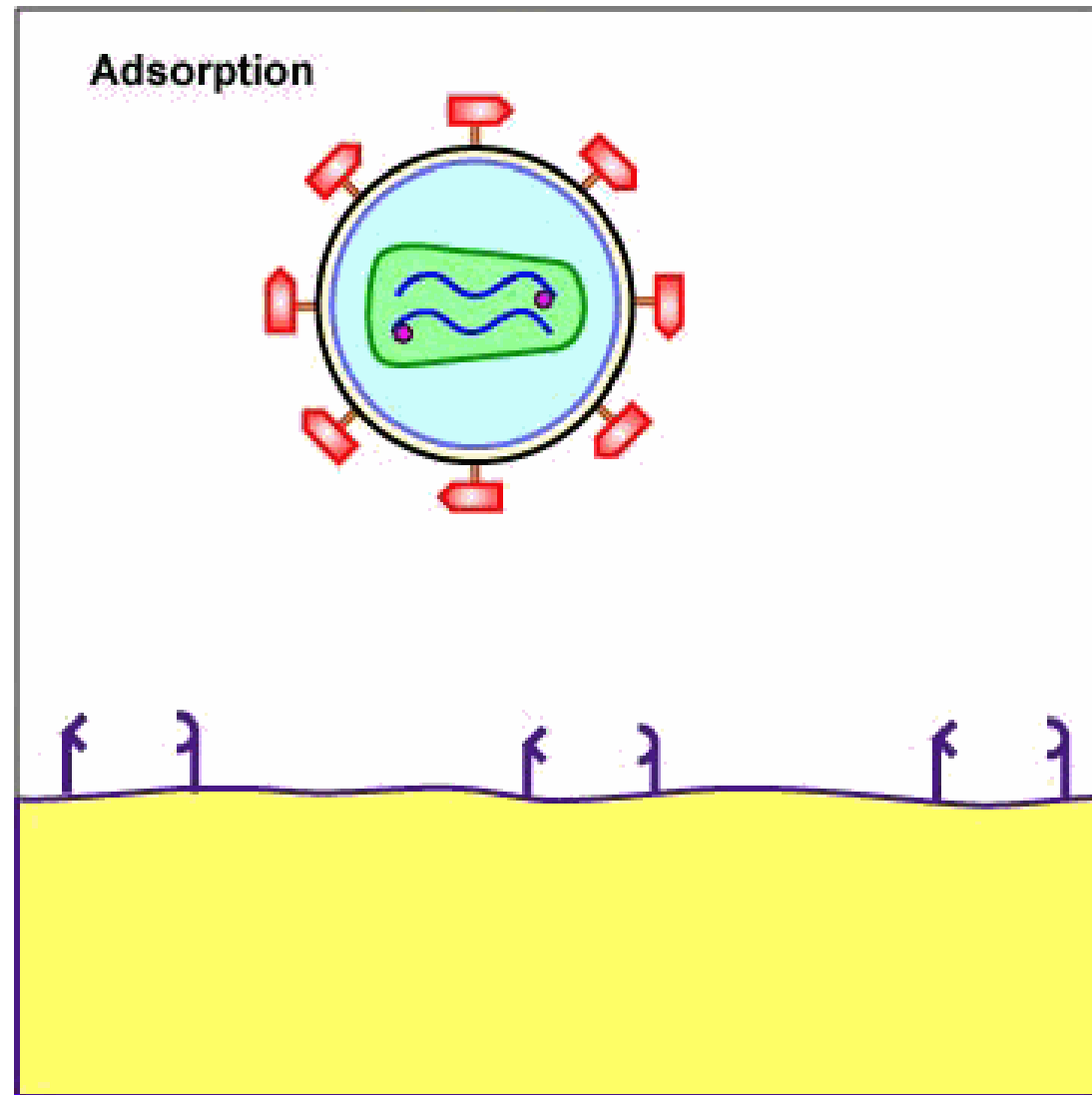
Схема строения ВИЧ



Репродукция ВИЧ

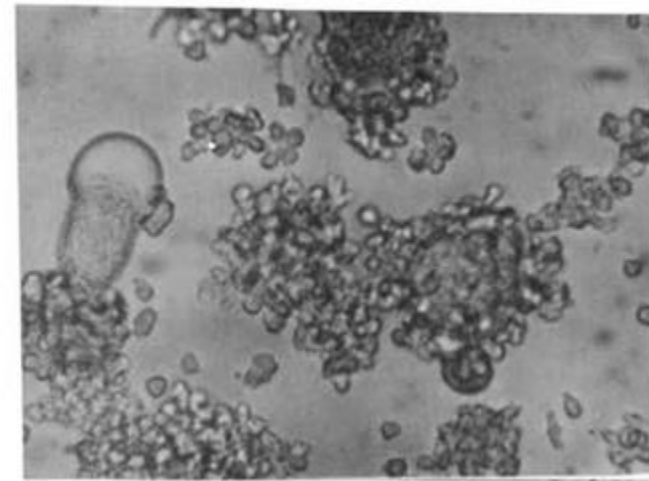
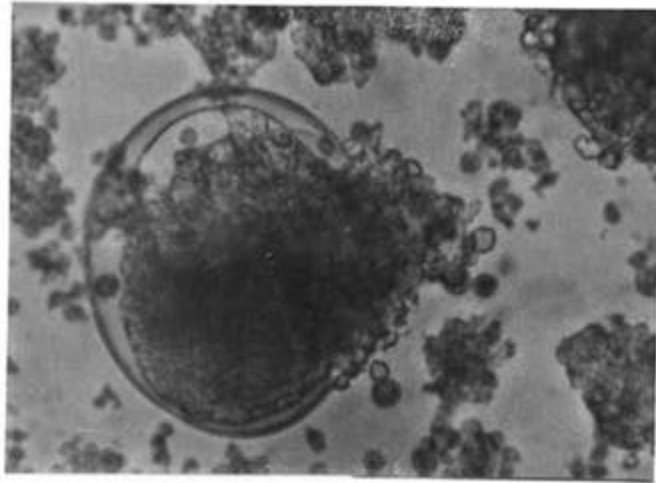
- Репродукция ВИЧ аналогична репродукции прочих ретровирусов, но в отличие от онкогенных ретровирусов, он может лизировать ВИЧ-инфицированную клетку.
- ВИЧ инфицирует клетки, несущие на своей поверхности CD4 – рецептор и хемокиновые рецепторы.
- Этими рецепторами обладают Т-хелперы, макрофаги, фолликулярные дендритные клетки, клетки островков Лангерганса и клетки микроглии мозга.
- Проникновение вируса в клетку происходит после прикрепления поверхностного gp120 белка вируса к клеточному рецептору CD4.

Репродукция ВИЧ



Культивирование ВИЧ

- Культивируется ВИЧ на культуре клеток Т-лимфоцитов и моноцитов периферической крови человека.



- Cytopathic effects of HIV in culture. Large, balloon-shaped syncytia with the the cytopathic effects of HIV-2 strains CBL-20 and ROD, respectively, on C8166 cells at day 5 post-infection (100 magnification).

Типы ВИЧ

- Выделяют 2 типа вируса – ВИЧ-1 и ВИЧ-2, которые различаются по структурным и антигенным характеристикам.
- На основе разновидности гена *Env* ВИЧ-1 делят на 3 группы (М, N и О). Большинство изолятов относится к группе М, в которой выделяют 10 генотипов или подтипов (А-Ј) .
- ВИЧ-2 подразделяется на 5 субтипов (А-Е).

Устойчивость ВИЧ

- Вирус чувствителен к физическим и химическим факторам. Инактивируется в течение 10 мин. под действием 50%-го спирта, 0,5%-го лизола, 0,5%-го формалина, 0,3%-ой перекиси водорода. ВИЧ погибает в течение 10 мин. при нагревании до 56⁰С, при 100⁰С – гибнет сразу. Однако вирус может длительно сохраняться в высушенном состоянии, в высохшей крови, а в донорской крови может сохраняться годами.

Источник инфекции и пути передачи

- Источник инфекции больной человек и вирусоноситель .
- Заражение в основном происходит половым путем, при переливании крови, а также парентеральным путем.
- Возможен трансплацентарный путь передачи – от матери ребенку во время беременности, а также при кормлении грудью.



Патогенез

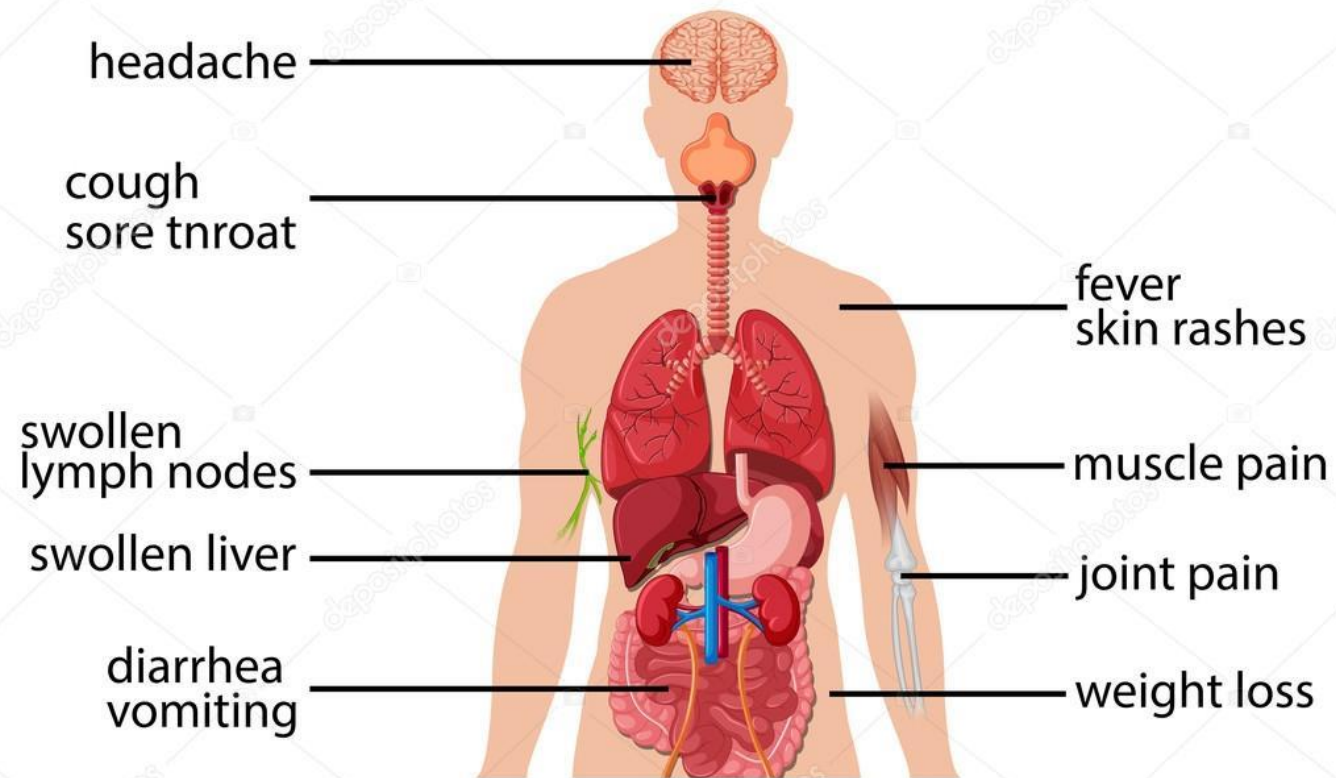
- ВИЧ обладает лимфотропностью. Вирус после попадания в организм человека поражает клетки, несущие на своей поверхности CD4-рецепторы, в основном Т-хелперы и макрофаги.
- При ВИЧ-инфекции нарушается функция CD4-лимфоцитов, естественных киллеров, В-лимфоцитов и других факторов, регулирующих иммунные функции (ИЛ, ИНФ и др.), в результате чего наступает дисфункция иммунной системы и расстройство всей ее деятельности – ***синдром иммунодефицита***.
- Поражение иммунной системы приводит к развитию иммунодефицитов и появлению вторичных заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, в первую очередь гнойно-воспалительных заболеваний, вызываемых условно-патогенной флорой, а также злокачественных опухолей.

Клинические проявления ВИЧ-инфекции

- СПИД - заболевание с полиморфными клиническими проявлениями, длительным течением и высокой летальностью, в основном характеризующееся поражением иммунной системы. Развитие клинических симптомов после заражения, например СПИДа, может начаться через 10 лет.
- **Первичная инфекция** сопровождается вирусемией продолжительностью 2-3 месяца. В этот период у большинства пациентов проявляются симптомы, похожие на мононуклеоз, количество лимфоцитов CD4 значительно снижается. Начальные симптомы инфекции неспецифичны и включают усталость, головные боли, тошноту, сыпь и ночную потливость.
- Позже, в связи с развитием иммунного ответа, виремия уменьшается, количество лимфоцитов CD4 восстанавливается, но вирус сохраняется в инфицированных клетках лимфатических узлов. Этот период может длиться 10 лет без клинических проявлений. Однако вирус продолжает активно размножаться в клетках-мишенях, особенно в лимфоцитах CD4, что приводит к развитию манифестной инфекции - СПИДа.

Клинические проявления ВИЧ-инфекции

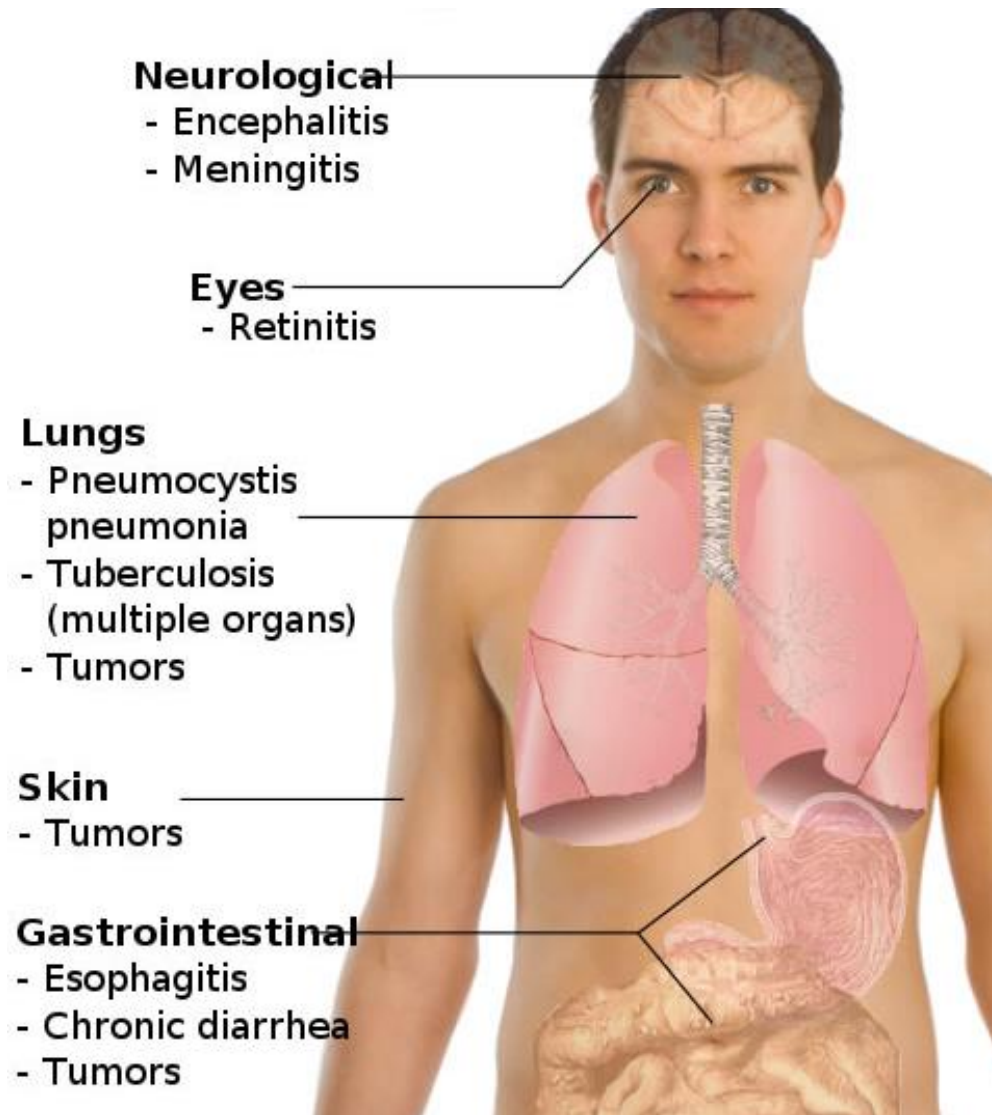
SYMPTOMS OF ACUTE HIV INFECTION



Клинические проявления ВИЧ-инфекции (СПИД)

- СПИД сопровождается тяжелыми вторичными инфекциями и необычными опухолями (особенно саркомой Капоши) на фоне подавления иммунной системы. В этот период количество вируса в крови пациентов достигает максимума.
- Одним из самых ранних симптомов СПИДа у взрослых является хроническая диарея, приводящая к прогрессирующей потере веса.
- Характерны белые пятна с проявлениями волосистой лейкоплакии и кандидоза в полости рта, особенно на слизистой оболочке языка, а также лимфаденопатия.
- Если болезнь не лечить после появления клинических симптомов, она обычно приводит к смерти в течение 2 лет.

Kliniķeskie proāvleniā SPĪDa



Клинические проявления ВИЧ-инфекции(СПИД)

- **Оппортунистические инфекции** - одни из наиболее распространенных клинических проявлений СПИДа, в котором участвуют самые разнообразные микроорганизмы - простейшие (*Toxoplasma gondii*, род *Cryptosporidium*), грибы (*Pneumocystis jiroveci*, *Candida albicans*, *Cryptococcus aureus*, *Cryptococcus neoformans*, *neoformansserpes*) и вирусы (симплексный вирус, вирус ветряной оспы и др.).
- **Злокачественные опухоли.** Еще одно проявление подавления иммунной системы у больных СПИДом - злокачественные опухоли. Лимфомы, в основном вызываемые вирусами, саркома Капоши, лимфома Беркитта, в тысячи раз чаще встречаются у больных СПИДом, чем у других людей.

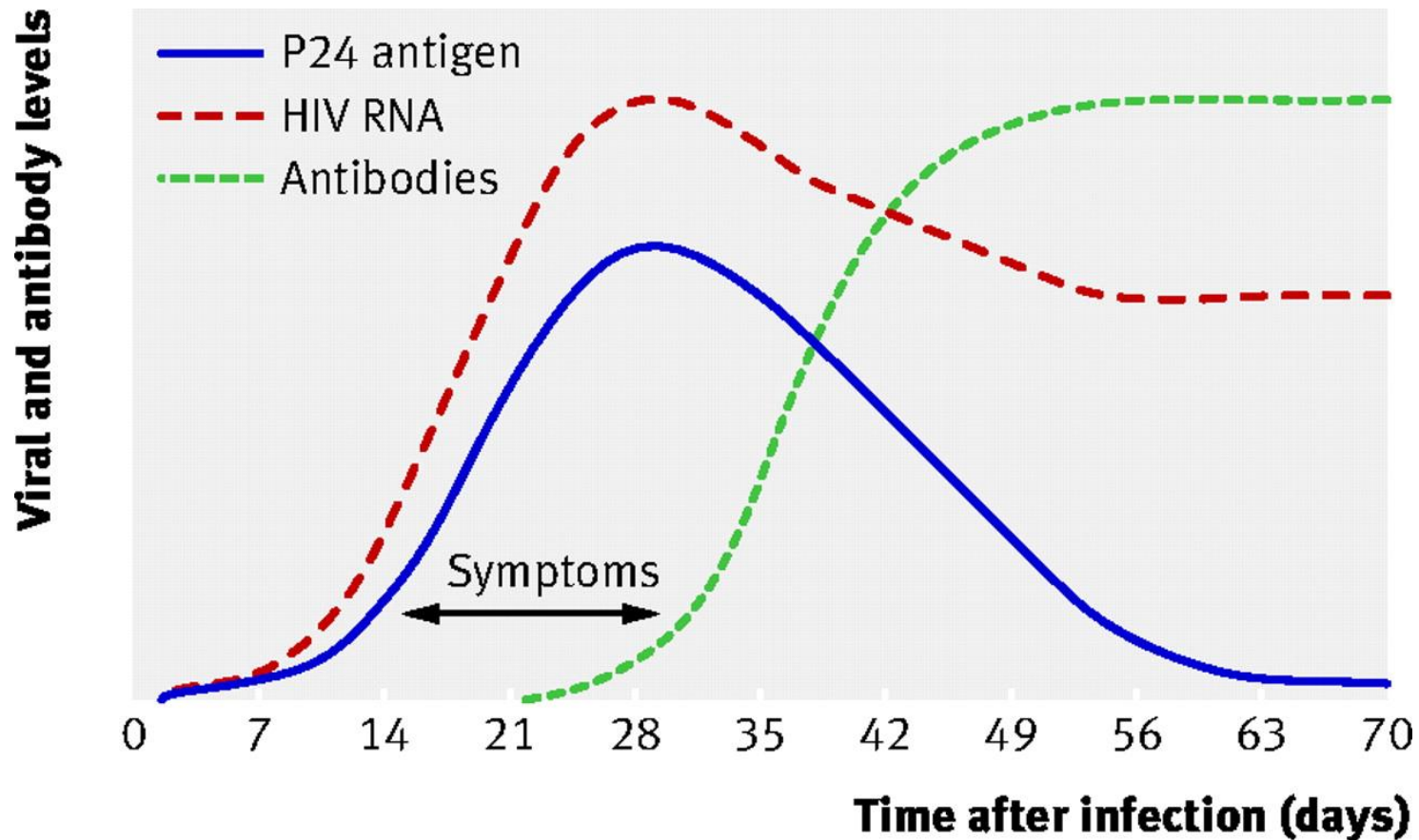
Микробиологическая диагностика ВИЧ-инфекции

- При диагностике ВИЧ-инфекций используют вирусологический, молекулярно-генетический методы.
- **Вирусологический метод основан** на выявлении вируса в крови, лимфоцитах.
- Самым чувствительным методом выявления вируса является культивирование материалов исследования в культуре моноклеаров периферической крови, стимулированных митогенами.

Микробиологическая диагностика ВИЧ-инфекций

- **Серологический метод** основан на выявлении антител в сыворотке ВИЧ-инфицированных больных. Для этого используют **ИФА**. При «+» ИФА, проведенном с целью скрининга, надо повторить проверку. При повторном положительном результате, для исключения ложно-положительных реакций проводят иммуноблотинг. **Иммуноблотинг** позволяет по отдельности обнаружить специфические антитела к антигенам, в основном к белкам p24, gp 160 (gp41 и gp120).
- Антитела в сыворотке больного появляются через 3-4 недели, у некоторых больных их можно обнаружить через 6-12 недель. Нужно отметить, что у всех больных через 6 месяцев возможно обнаружить антитела .

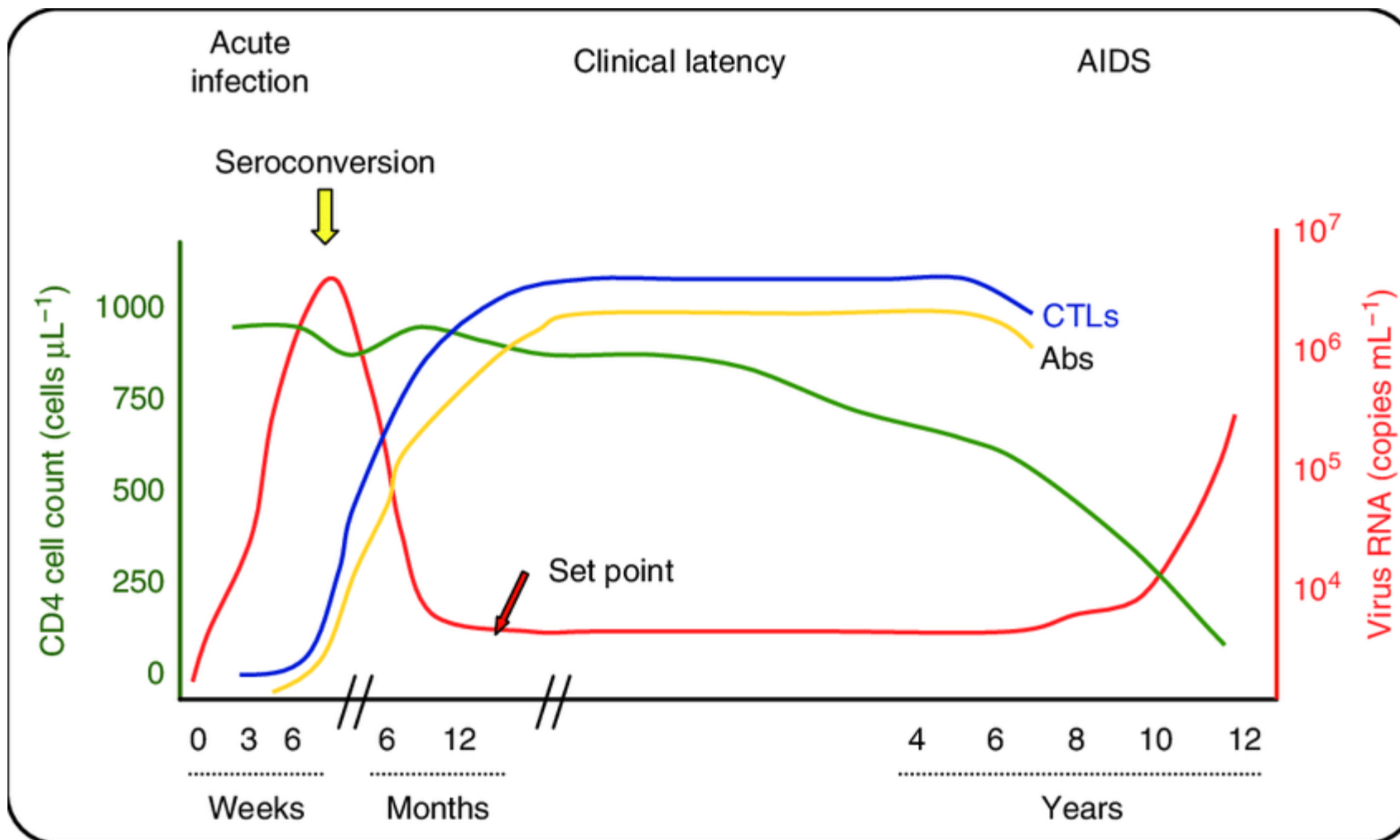
Серологические маркеры ВИЧ-инфекции



Микробиологическая диагностика ВИЧ-инфекции

- Среди молекулярно-генетических методов , которые основаны на выявлении процесса амплификации РНК вирусов, **REAL-TIME ПЦР** более широко применен.
- ПЦР широко применяется для оценки вирусной нагрузки в крови и обладает высокой чувствительностью.
- Концентрация вируса в крови - вирусная нагрузка резко меняется в зависимости от периода заболевания.

Динамика вирусной концентрации при ВИЧ-инфекции



Лечение

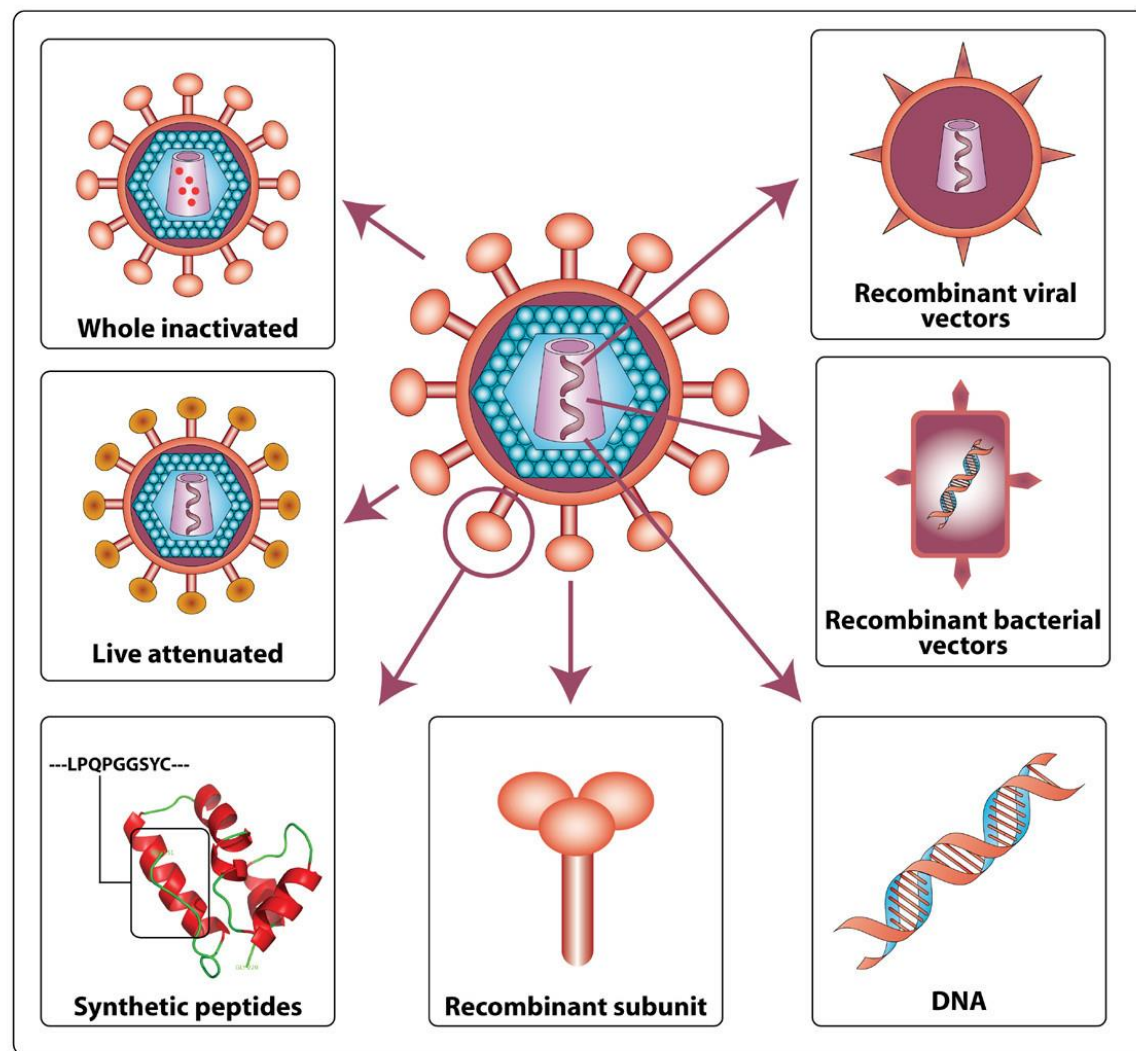
- Современная **противовирусная терапия** основана на комплексном применении ингибиторов обратной транскриптазы (зидовудин или азидотимидин и др.) и ингибиторов протеазы (саквинавир, ритонавир и др.).
- Такое лечение снижает вирусную нагрузку в крови и тканях за счет ослабления репликации вируса, тем самым помогая восстановить функции иммунной системы. Лечение продолжается, и его прекращение приводит к восстановлению интенсивности репликации вируса.



Проблемы специфической профилактики ВИЧ-инфекции

- Высокая частота мутаций вируса; сформированный иммунитет не приводит к элиминации возбудителя из организма.
- Сложности биологической модификации ВИЧ-инфекции. Хотя и обезьяны-шимпанзе чувствительны к вирусу, у них наблюдается вирусемия и выявляют антитела, иммунодефицит не развивается. Это служит причиной усложнения экспериментального применения предложенных вакцин.
- В настоящее время проходят испытания многочисленные рекомбинантные вакцины на основе поверхностных гликопротеинов вируса.

Вакцина против СПИДа?

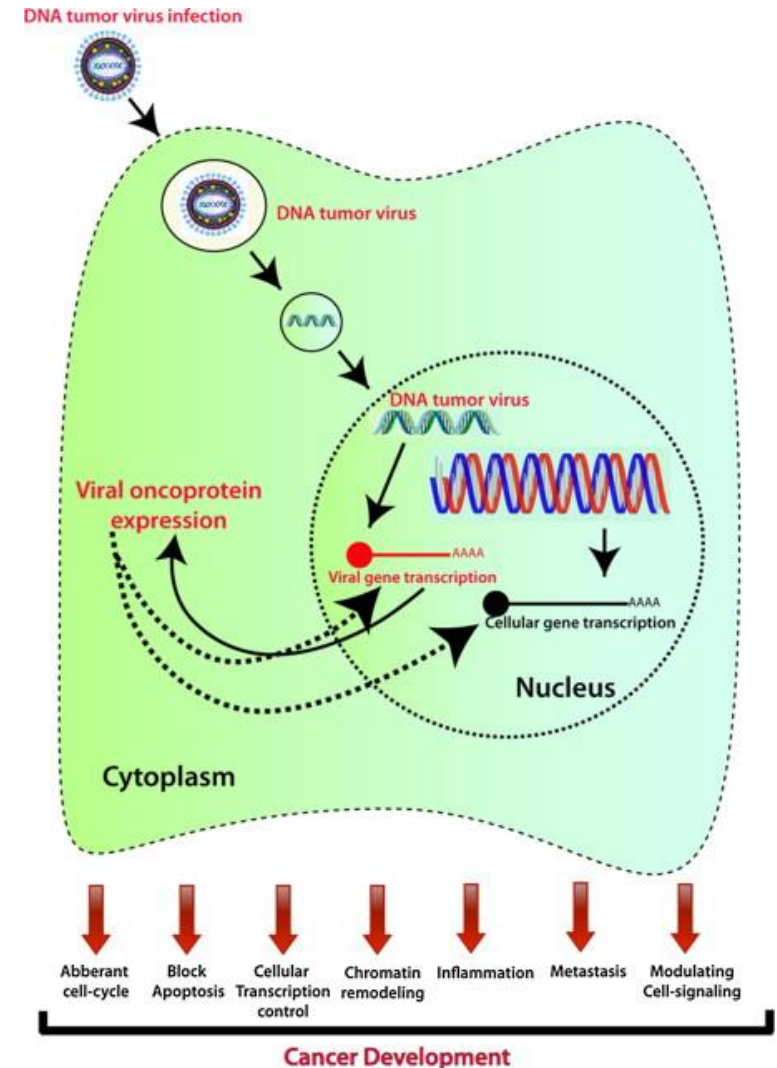


Онкогенные вирусы

- Онкогенные вирусы, вызывая трансформацию нормальных клеток, способствуют развитию опухолей не только у животных, но и у человека.
- При онкогенезе, т.е. трансформации опухолевых клеток, впервые этиологическая роль вирусов была продемонстрирована в 1910 г. П. Раусом на примере саркомы кур.
- В 1946 г. Российский вирусолог Л.А. Зильбер опубликовал монографию «Вирусная теория происхождения злокачественных новообразований», в которой изложил свою вирусогенетическую теорию происхождения опухолей. Основу этой теории составляет постулат о необходимости тесного взаимодействия геномов вируса и клетки для последующей ее трансформации.

Механизм онкогенеза вирусов

- Механизм онкогенеза, вызываемого онковирусами, связан с функционированием **онкогенов** (*onc*-генов), которые имеются в геноме всех клеток человека и животных. В нормальных здоровых тканях этот *onc*-ген находится в неактивном состоянии, в так называемой форме **про-онкогена**.
- Помимо онковирусов активацию протоонкогена могут вызвать различные мутагенные факторы: химические факторы, излучение, а также активация прото-онкогена онкогенными вирусами.
- Включение в геном клетки ДНК-провируса может приводить к активации *onc*-гена, результатом чего будет развитие трансформации клетки.



Механизм онкогенеза вирусов

- Мутация онкосупрессивных генов в клетках, соединение или блокада синтеза белков кодируемых данными генами.
- **Rb-ген** (от англ. *retinoblastome*) в норме контролирует процесс пролиферации клеток, при мутации возникает ретинобластома (опухоль сетчатки глаза). Папилломавирус человека и SV40 синтезируют протеин (белок) который соединяет или блокирует белок кодируемый Rb геном.
- **p53 ген** – кодирует синтез белка-супрессора опухолевого развития. Папилломавирус человека протеин который блокирует белок p53 . У более половины онкобольных наблюдается мутация p53 гена в опухолевых клетках.

ДНК-содержащие онкогенные вирусы

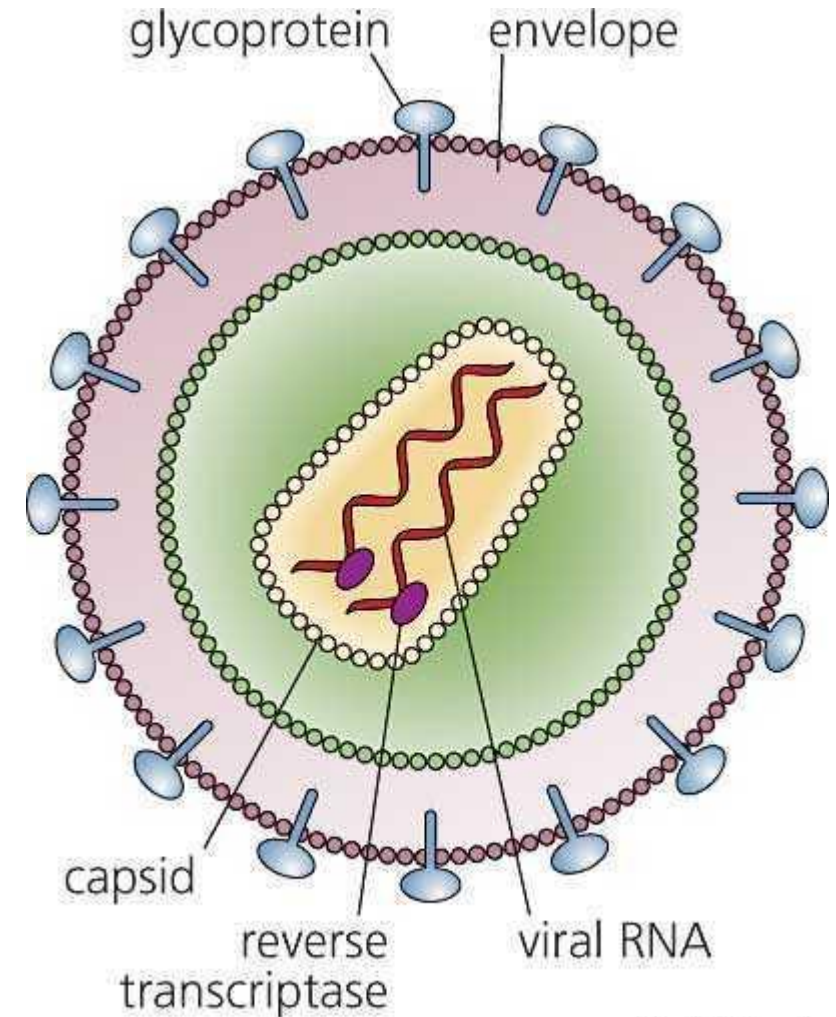
- **Семейство *Poxviridae*.** В состав семейства входит вирус контагиозного моллюска, который вызывает образование эритематозных узелков, локализирующихся на коже лица, шеи, век, половых органов.
- **Семейство *Herpesviridae*.** Онкогенез у человека связан с вирусом простого герпеса 2 типа (ВПГ-2), вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) и вирусом герпеса человека 8 типа.
- *Вирус простого герпеса 2 типа связывают с развитием рака шейки матки у женщин.*
- *С вирусом Эпштейна-Барр связывают лимфомы Беркита – опухоли верхней челюсти, встречающейся у детей и юношей в странах Африки.*
- *Лимфотропный вирус герпеса человека связывают с развитием саркомы Капоши у ВИЧ-инфицированных лиц.*
- **Семейство *Adenoviridae*.** Некоторые аденовирусы человека индуцируют саркомы у новорожденных хомячков и трансформируют культуры клеток грызунов. Данные о способности аденовирусов вызывать онкогенез у человека отсутствует.

ДНК-содержащие онкогенные вирусы

- **Семейство *Hepadnaviridae* (вирус гепатита В).** ВГВ вызывает развитие первичного рака печени. Опухоль развивается у хронических носителей вируса.
- **Семейство *Papillomaviridae*** насчитывает более 100 типов вируса папилломы человека, большинство из которых вызывает образование доброкачественных бородавок, папиллом и кандилом в области половых органов, ануса, на слизистых оболочках дыхательных путей и пищеварительного тракта, а также на коже.
- **Семейство *Polyomaviridae*.** Заболевания у человека вызывают два вируса: ВК-вирус и JC-вирус, а также вакуолизирующий вирус обезьян SV-40

РНК-содержащие онкогенные вирусы

- РНК содержащие онкогенные вирусы входят в **семейство *Retroviridae***. Большинство представителей этого семейства, включающий 7 родов, обладает онкогенными свойствами.
- РНКсодержащие онкогенные вирусы являются сложноорганизованными вирусами. Вирионы построены из сердцевины окруженной липопротеиновой оболочкой с шипами.
- Размеры и формы шипов, локализация сердцевины служат основой для подразделения вирусов на четыре морфологических типа – А, В, С и D.
- Большинство онкогенных вирусов относится к типу С, который распространен среди рыб пресмыкающихся птиц и млекопитающих включая человека. К типу В относятся вирусы, вызывающие рак молочной железы у мышей, некоторые онковирусы обезьян и вирус иммунодефицита человека(ВИЧ) принадлежит к типу D.



РНК-содержащие онкогенные вирусы

- К семейству *Retroviridae* относится примерно 150 видов вирусов, вызывающих развитие опухолей у животных, и только четыре вида вызывают опухоли у человека: HTLV-1, HTLV-2, ВИЧ-1, ВИЧ-2.
- **Вирусы Т-клеточного лейкоза человека (*Human T-lymphotropic virus, HTLV*)** входят в семейство *Retroviridae* род *Deltaretrovirus*. Вирусы поражающие в основном CD4+ Т-лимфоциты, доказана этиологическая роль в развитии опухолевого процесса у людей.
- Среди них HTLV-1 - возбудитель Т-клеточного лимфолейкоза взрослых, HTLV-2 вызывает волосисто-клеточный лейкоз.
- Оба вируса передаются половым, трансфузионным и трансплацентарным путями. Заболевания, вызываемые вирусами характеризуются медленным развитием (инкубационный период – до 20 лет с момента заражения) и летальным исходом.
- Патогенез и течение инфекции напоминают ВИЧ-инфекции, т.к. в обоих случаях поражается иммунная система. В крови у больных можно обнаружить антитела к вирусам.

Медленные вирусные инфекции

- Некоторые хронические дегенеративные болезни ЦНС вызываются вирусами. Например, вирус кори - ПСПЭ, вирус краснухи- прогрессирующий краснушный панэнцефалит.
- Часть заболеваний (болезнь Крейтцфельда-Якоба, куру и др.) – вызываются необычными инфекционными агентами - прионами. Инкубационный период этой болезни может продолжаться необычно длительно (месяцами даже годами), непрерывно прогрессируя и неизбежным летальным исходом.

Возбудители медленных вирусных инфекций

- **Медленные вирусные инфекции человека** вызывают вирус кори, вирус краснухи, JC-вирус семейства *Poliomaviridae* и др.
- **Типичную медленную вирусную инфекцию животных** вызывает вирус Мэди-Висна, относящийся к семейству *Retroviridae* роду *Lentivirus*.
- Вирус Висна является возбудителем медленной вирусной инфекции и прогрессирующей пневмонии овец. Заболевание сопровождается поражением внутренних органов овец, возникают патологические изменения, особенно в головном мозге, легких и ретикулоэндотелиальной системе.
- Сходные по признакам медленных вирусных инфекций вызывают прионы – возбудители прионных болезней.

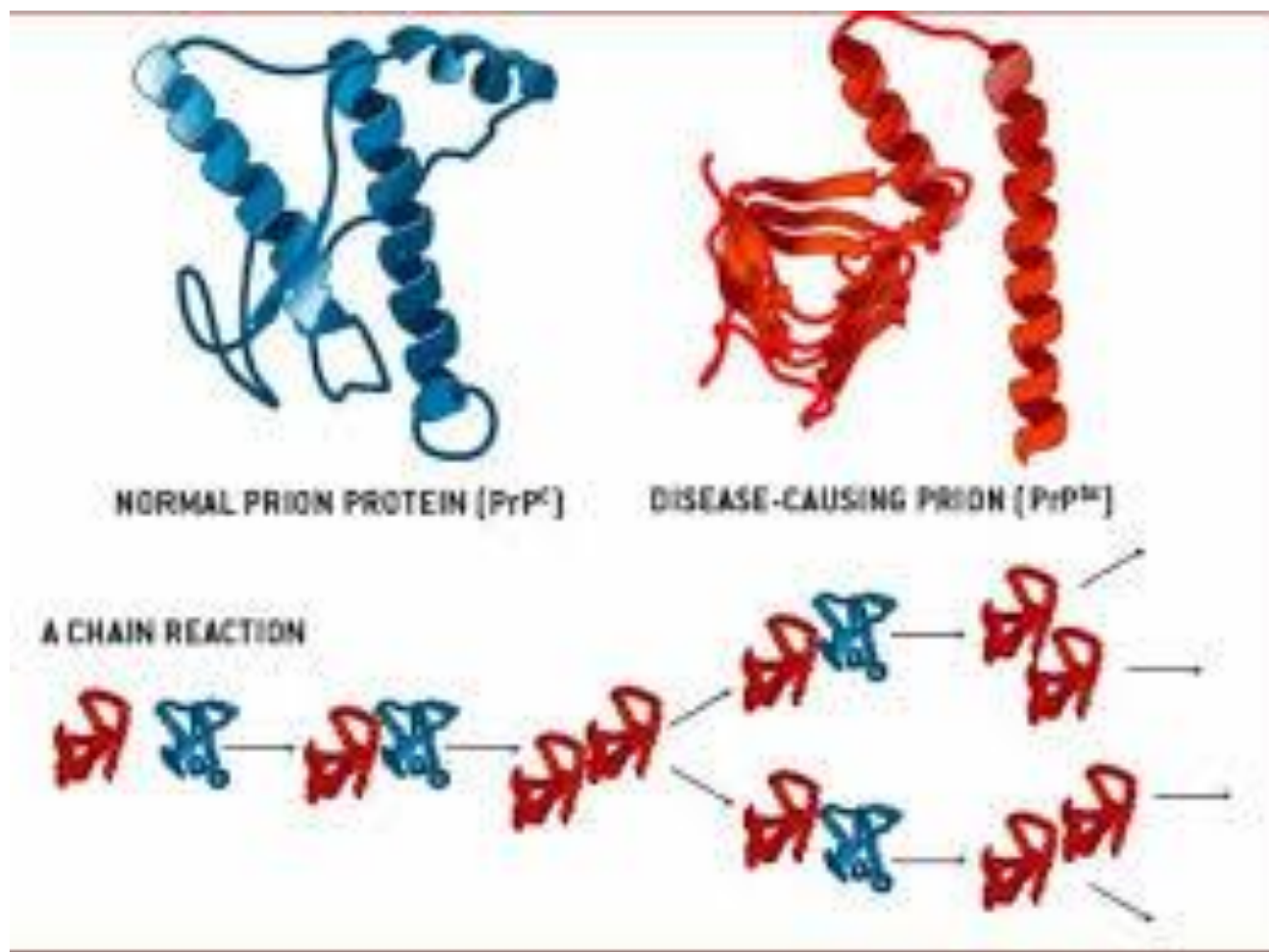
Прионы

- **Прион** - термин , предложенный С.Прузинером, представляет собой анаграмму английских слов «*proteinaceous infectious particle*» и обозначает «инфекционная белковая частица». Прионный белок (PrP - *prion protein*) может быть в двух изоформах: клеточной нормальной (PrP^C) и измененной, патологической (PrP^{SC}).
- **Нормальный прионный белок (Pr^c)** встречается как в животном, так и в человеческом организме. PrP^C появляется на поверхности клетки (заякорен в мембрану гликопротеином молекулы) и регулирует передачу нервных импульсов, циркадные ритмы (суточные циклы).

Инфекционный прионный белок

- При прионных болезнях происходит превращение нормального прионного белка в инфекционную форму и отмечается как PrP^{Sc} (Sc – от англ. «scrape» - от названия прионной болезни овец и коз).
- **Инфекционный прионный белок** отличается от нормального прионного белка по третичной и четвертичной структуре. PrP^{Sc} - патологические, измененные посттрансляционными модификациями изоформы прионного белка с молекулярной массой 27-30 кДа .
- Прионы устойчивы к протеазе, кипячению, высокой температуре, к излучениям, 50%-ому этиловому спирту, 3,7%-ому раствору формальдегида, глютаральдегиду, бета-пропионлактонам .
- Они инактивируются под действием 90%-ого этилового спирта, эфира, сильных детергентов, а также автоклавированием при температуре 121⁰С в течение 1 часа. Эффективным является обезвреживание медицинских оборудования и инструментов гуанидин тиоцианатом.

PrP^c и PrP^{Sc}



Прионные болезни

- Прионы – неканонические патогены, вызывающие трансмиссивные губкообразные энцефалопатии:
- человека (Куру, болезнь Крейтцфельда-Якоба);
- Животных (скрепи овец и коз, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота и др.)

Патогенез прионных болезней

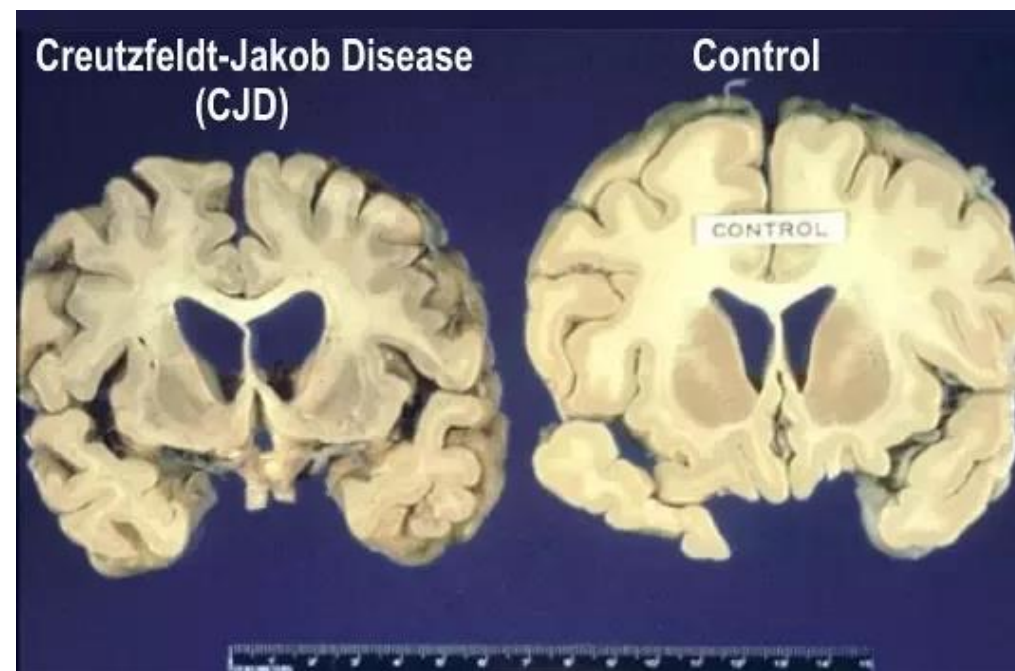
- При прионных болезнях происходит превращение нормального прионного протеина(PrP^{C}) в инфекционную форму(PrP^{SC}).
- Инфекционный прион является глобулярным гидрофобным белком, образующим агрегаты на поверхности нормального прионного белка, в результате PrP^{C} преобразуется в PrP^{SC} .
- Клетка синтезирует новый PrP^{C} и далее цикл продолжается. Процесс усиливается при возрастании количества патологического PrP или экзогенного приона. Патологическая форма PrP^{SC} накапливается в нейронах, придавая клетке губкообразный вид.
- Патологический прионный белок не вызывает воспаления и иммунной реакции. Заболевание не зависит от состояния иммунной системы.

Патогенез прионных болезней

- Прионные инфекции в основном поражают ЦНС (нервные ткани). Нервные клетки, в отличие от других клеток, не обладают способностью делиться. Каждый раз, когда клетки начинают делиться, концентрация патологических прионных белков в них уменьшается. Таким образом, накопление патологических прионных белков наблюдается только в нервных клетках.
- Прионные инфекции характеризуются губкообразными изменениями мозга (**трансмиссивные губкообразные энцефалопатии**). При этом развиваются церебральный амилоидоз (внеклеточный диспротеиноз, характеризующийся отложением амилоида с развитием атрофии и склероза ткани) и астроцитоз (разрастание астроцитарной нейроглии, гиперпродукция глиальных волокон), формируется амилоид.

Клиническая форма прионных болезней

- **Болезнь Крейтцфельдта-Якоба** - прионная болезнь, заражение человека происходит при употреблении недостаточно термически обработанных продуктов животного происхождения, например мяса, мозга коров, больных губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота, а также при трансплантации тканей, например роговицы глаза, при применении гормонов и других биологически активных веществ животного происхождения.



Клиническая форма прионных болезней

- **Скрепи** (от англ.*scrape* - скрести) –прионная болезнь овец и коз , характеризующаяся сильным кожным зудом, выпадением шерсти («почесуха овец»), поражением ЦНС, прогрессирующим нарушением координации движений и неизбежной гибелью животного.



Клиническая форма прионовых болезней

- **Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота («болезнь бешеной коровы», «коровье бешенство»)** –прионная болезнь, имеющая сходство с болезнью скрепи. Считается, что ЭПИЗООТИЯ была вызвана скармливанием скоту МЯСО-КОСТНОЙ МУКИ, изготовленной из останков «инфицированных» животных, в частности, овец
- Заболевание характеризуется поражением центральной нервной системы, нарушением координации движений, атаксией и неизбежной гибелью животного.



Диагноз прионных болезней

- *Диагноз прионных болезней основан на гистологическом исследовании разрезов мозга .*
- При прионной патологии характерны губкообразные изменения мозга, астроцитоз(глиоз), астроцитоз, амилоидоз.
- Конго красный применяют для выявления амилоидных участков .
- Отсутствие инфильтратов воспаления.

