

Занятие 16.

Микробиологическая диагностика инфекций, вызываемых
вирусами семейств Herpesviridae и Picornaviridae и
родом Rubivirus

prof. Akif Qurbanov

Обсуждаемые вопросы:

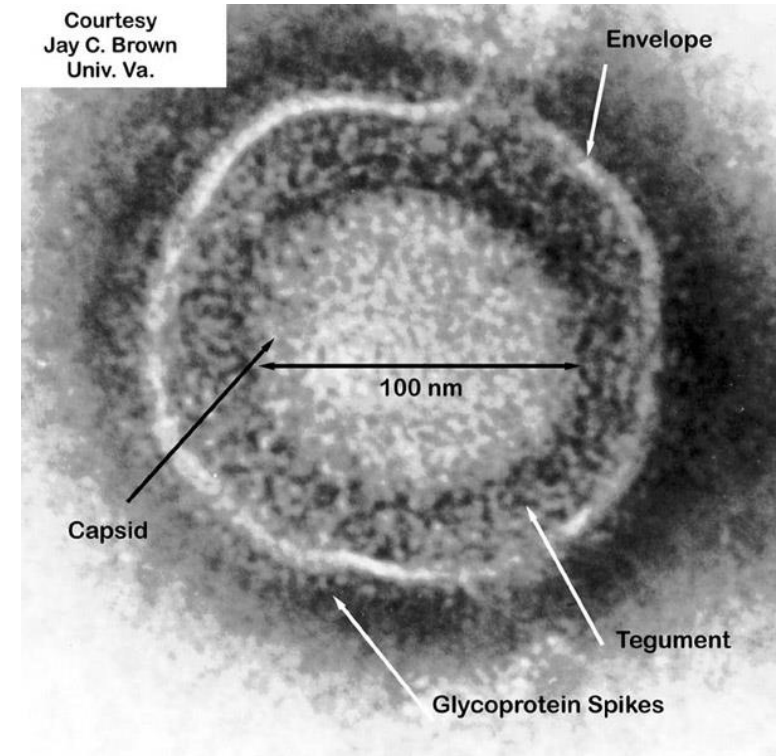
- 1. Семейство *Herpesviridae*, общая характеристика (классификация, морфология, культивирование).
 - Морфобиологические особенности вирусов простого герпеса (ВПГ-I и ВПГ-II), эпидемиология, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение и профилактика вызываемых ими заболеваний.
 - Вирус ветряной оспы - опоясывающего лишая (*Varicella-zoster*), морфобиологические особенности, эпидемиология, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика вызываемых им заболеваний.
 - Вирус Эпштейна-Барр, морфобиологические особенности, эпидемиология, патогенез и микробиологическая диагностика инфекционного мононуклеоза
 - Цитомегаловирус, морфобиологические особенности, эпидемиология, патогенез, микробиологическая диагностика и лечение вызываемых им заболеваний.
 - Другие вирусы герпеса человека (ВГЧ-6, ВГЧ -7, ВГЧ -8)
- 2. Семейство *Picornaviridae*, общие свойства (классификация, морфология, культивирование, антигены, персистенция).
 - Морфобиологические особенности вирусов полиомиелита, эпидемиология, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика полиомиелита.
 - Морфобиологические особенности вирусов Коксаки и ЕСНО, эпидемиология, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение вызываемых ими заболеваний.
- 3. Род *Rubivirus* - вирус краснухи, общие, культуральные свойства, патогенность, эпидемиология и патогенез краснухи, тератогенное действие вируса краснухи. Микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика краснухи

Цель занятия:

- дать информацию студентам о морфобиологических особенностях вирусов, относящихся к семействам *Herpesviridae*, *Picornaviridae*, и роду *Rubivirus* (вирусы Коксаки, ЕСНО) обучить их методам лабораторной диагностики полиомиелита и герпесвирусных инфекций.

Семейство *Herpesviridae* (герпесвирусы)

- Первый представитель этого семейства – вирус простого герпеса вызывает везикулезные высыпания на коже и слизистых оболочках с последующим их переходом в эрозии.
- Название семейства отражает производимый вирусами патологический эффект (от греч. «герпес» - «ползучий»)

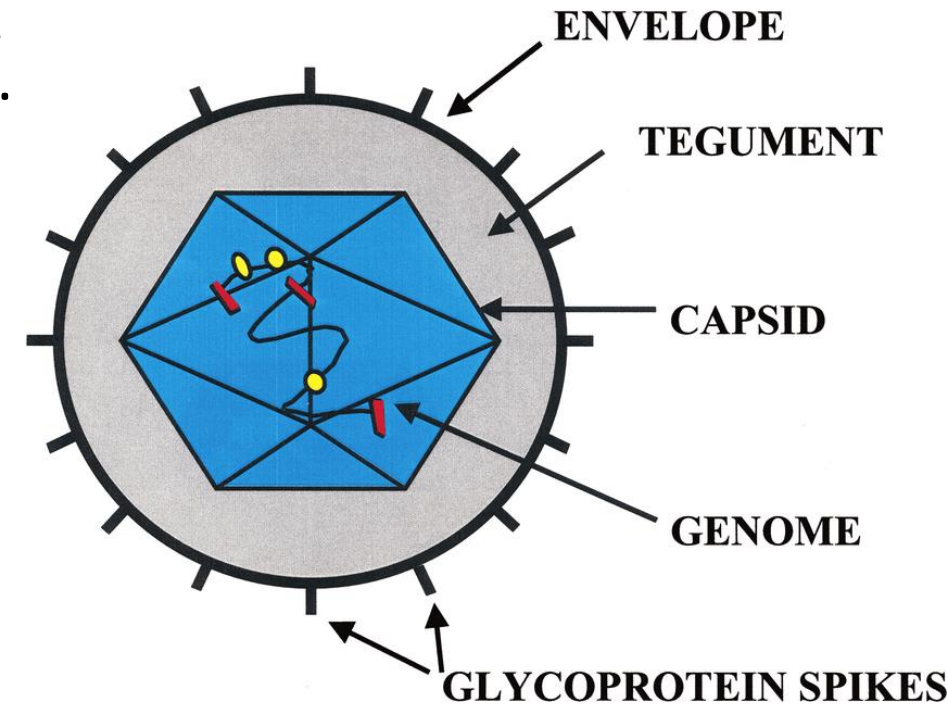


Классификация герпес-вирусов

- Различают 8 типов вирусов герпеса , патогенных для человека :
- 1- вирус простого герпеса – ВПГ тип 1 (Herpes simplex virus 1 - HSV-1);
- 2- вирус простого герпеса – ВПГ тип 2 (Herpes simplex virus 2 - HSV-2);
- 3-Вирус ветряной оспы – опоясывающего герпеса (Varicella-zoster virus - VZV), или герпес-вирус человека ГВЧ-3;
- 4-Вирус Эпштейна – Барр - ВЭБ (Epstein-Barr virus - EBV), или герпес-вирус человека ГВЧ-4;
- 5-Цитомегаловирус - ЦМВ, или герпес-вирус человека ГВЧ-5 ;
- 6-Герпес-вирус человека тип 6 – ГВЧ-6 (Human herpesvirus 6 - HHV-6)
- 7-Герпес-вирус человека тип 7 – ГВЧ-7 (Human herpesvirus 7 - HHV-7)
- 8-Герпес-вирус человека тип 8 – ГВЧ-8 (Human herpesvirus 8 - HHV-8)

Структура герпес-вирусов

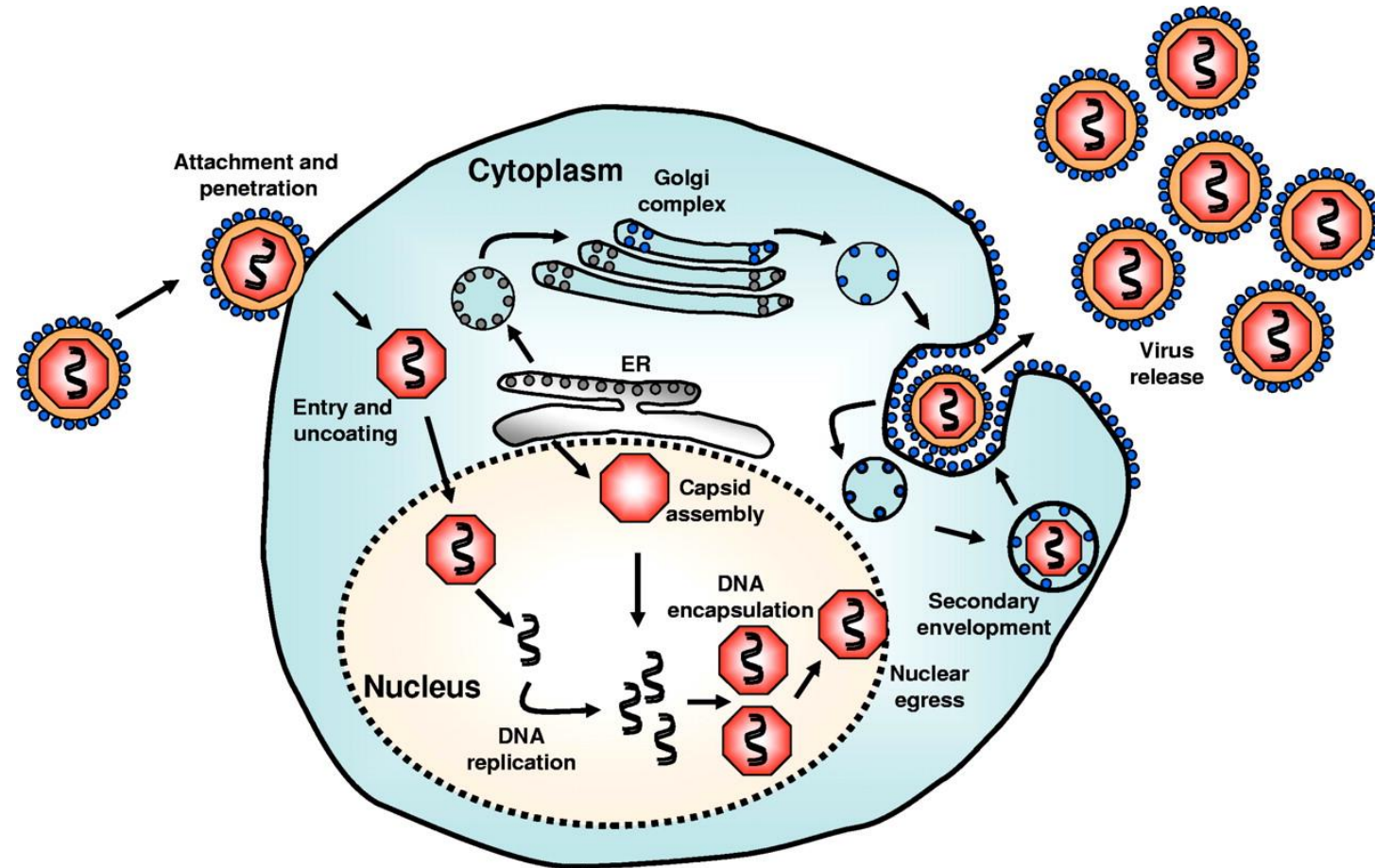
- Герпес-вирусы относятся к крупным оболочечным ДНК-содержащим вирусам , диаметр 150-200 нм .
- Вирион имеет овальную форму. В центральной части вириона находится ДНК , окруженная **икосаэдрическим капсидом** , состоящим из 162 капсомеров.
- Снаружи вирус окружает оболочка с гликопротеиновыми шипами . Пространство между капсидом и оболочкой называется **тегумент** , где содержатся вирусные белки и ферменты , необходимые для инициации репликации вируса .
- **Геном** – **двунитевая линейная ДНК** .



Репликация герпесвирусов

- Поверхностные гликопротеины вириона связываются с рецепторами клетки хозяина .
- Транскрипция вирусного генома (ДНК) происходит в ядре , образовавшиеся иРНК проникают в цитоплазму, где синтезируются не только белки с регулирующей активностью, но и структурные белки , включая капсидные и гликопротеины.
- Формирующийся капсид заполняется вирусной ДНК , синтезированные гликопротеины и нуклеокапсид диффузно прилегают к ядерной оболочке , где формируется суперкапсид.
- Вирионы почкуются через модифицированные мембраны ядерной оболочки и затем, перемещаясь через аппарат Гольджи, выходят из клетки путем экзоцитоза или лизиса клетки.
- Большинство зрелых вирионов покидают клетку, некоторые же сохраняясь внутри клеток, вызывают характерный для некоторых герпесвирусов цитопатический эффект, то есть образование многоядерных клеток – **симпластов**

Схема репродукции герпесвирусов

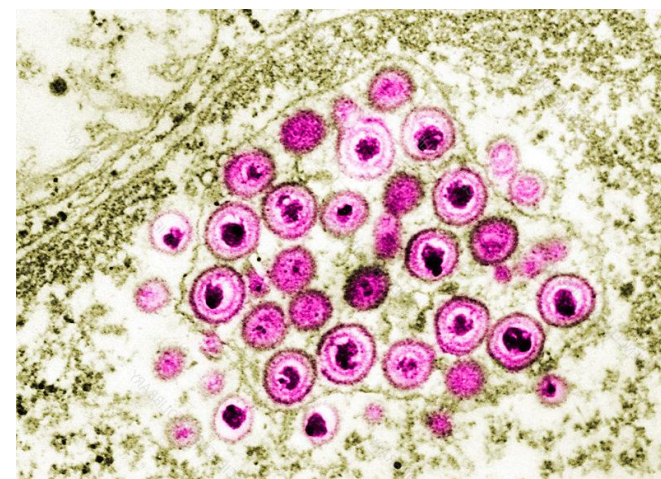
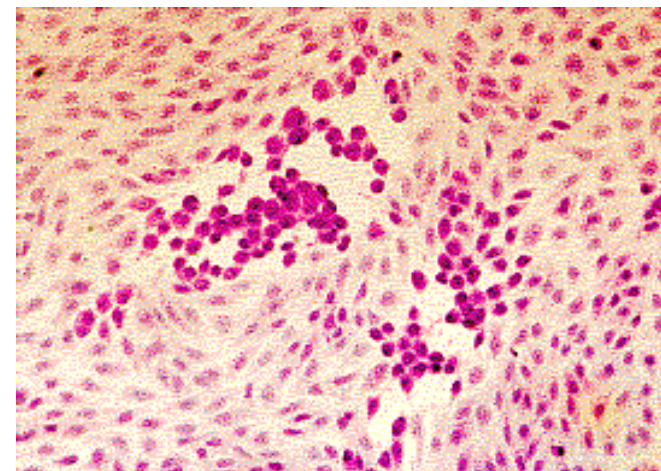


Вирус простого герпеса

- Вирус простого герпеса (*Herpes simplex virus*) относится к семейству *Herpesviridae* роду *Simplexvirus* . Различают два типа вируса простого герпеса:
- 1-ый тип вируса простого герпеса (ВПГ-1) – чаще поражает слизистые оболочки ротовой полости , глаз , ЦНС ;
- 2-ой тип вируса простого герпеса (ВПГ-2) - поражает половые органы.

Культивация вируса простого герпеса

- Для культивирования ВПГ применяют куриный эмбрион (на хорион-аллантоисной оболочке образуются мелкие плотные бляшки) .
- В культуре клеток (HeLa, Нер-2, человеческие эмбриональные фибробласты) вызывают цитопатический эффект в виде появления гигантских многоядерных клеток с внутриядерными включениями – **включения Каудри** .

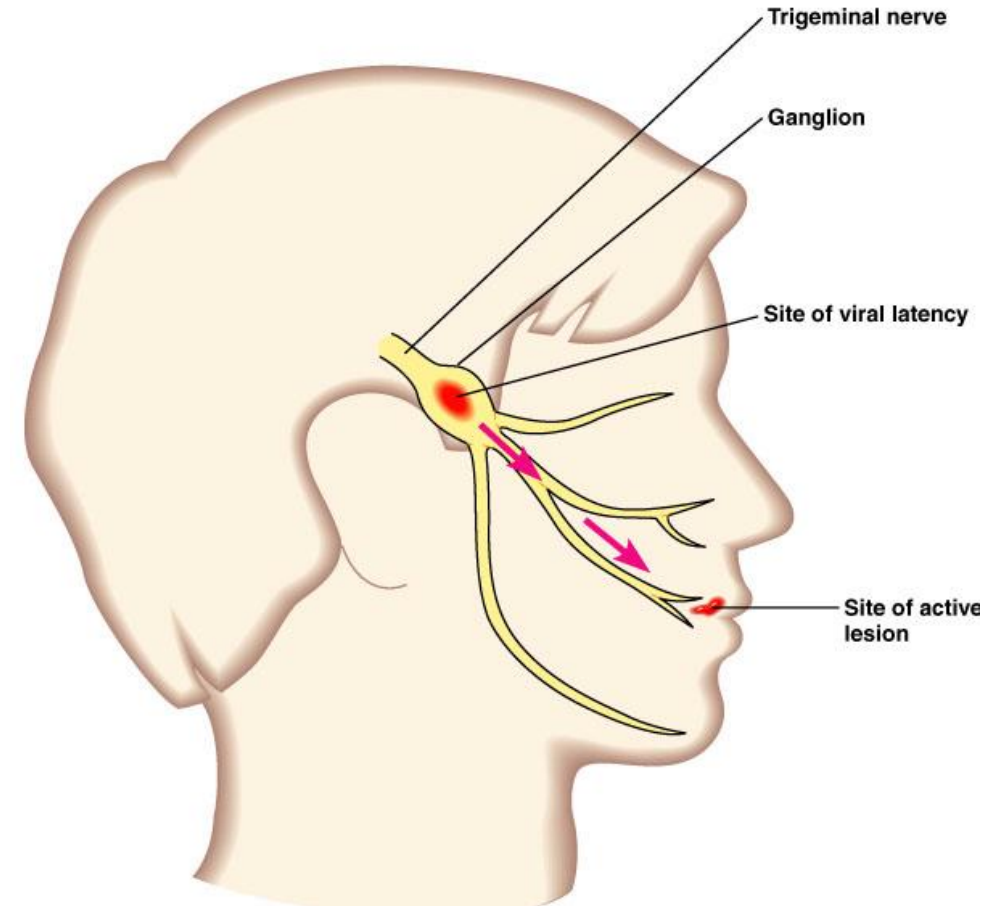


Патогенез

- ВПГ-1 передается преимущественно контактным путем , реже – воздушно-капельным. ВПГ-2 передается контактным путем , при половых контактах . Заражение ВПГ-2 возможно при прохождении плода через родовые пути, реже – трансплацентарно.
- Вирусы проникают через слизистые оболочки и поврежденную кожу . ВПГ-1 реплицируется на слизистых оболочках ротовой полости и глотки , ВПГ-2 - на коже и слизистой оболочке половых путей.
- **Первичная инфекция** протекает умеренно, в основном бессимптомно. Затем вирусы мигрируют в нейроны в результате ретроградного аксонного транспорта и вызывают латентную инфекцию (ВПГ-1 в тройничном ганглии , ВПГ-2 в поясничных и крестцовых ганглиях). В латентно инфицированных нейронах около 1% клеток в пораженном ганглии несет вирусный геном. При этом вирусная ДНК существует в виде свободных циркулярных эписом (около 20 копий в клетке).
- Большинство людей (около 80%) являются пожизненными носителями вируса, который сохраняется в ганглиях , вызывая в нейронах латентную персистирующую инфекцию.

Патогенез

- Вирусы в латентно инфицированных ганглиях сохраняются на протяжении всей жизни. Реактивация герпес-вирусов вызывается различными факторами (переохлаждение, лихорадка, травма, стресс, сопутствующие заболевания, действие УФ и др.) снижающими иммунитет.
- ДНК герпес-вирусов проходит по аксону обратно к нервному окончанию, где и может происходить развитие инфекции с репродукцией вируса в эпителиальных клетках.



Клинические проявления заболеваний , вызываемых вирусами простого герпеса

- Заболевания, вызываемые вирусами, разнообразны. Различают первичный и рецидивирующий простой герпес.
- **Орофарингеальные герпесвирусные инфекции вызывают ВПГ-1.** Первичная инфекция часто протекает бессимптомно, но у детей в возрасте 1-5 лет проявляется везикулярными и язвенными поражениями слизистой оболочки полости рта и десен (гингивостоматит).
- **Рецидив** заболевания проявляется в виде везикул, в основном в области губ - поэтому его называют губным герпесом (*herpes labialis*)



Клинические проявления инфекций, вызванных ВПГ

- **Генитальный герпес** в основном вызывается ВПГ-2. Поражение проявляется образованием везикул, которые в последствии изъязвляются.
- **Неонатальный герпес**, или герпес новорожденных вызывается в основном ВПГ-2. Заражение может происходить трансплацентарно, при родах, и после родов. Нелеченный неонатальный герпес приводит к летальному исходу примерно в 50% случаев.
- У **иммунодефицитных лиц** риск развития ВПГ-инфекций наиболее вероятен.



Микробиологическая диагностика

- Для диагностики используют содержимое герпетических везикул , слюну , соскобы с роговой оболочки глаз , кровь , цереброспинальную жидкость.
- При экспресс диагностике в мазках-отпечатках из высыпаний, окрашенных по Гимзе, выявляются многоядерные клетки с внутриядерными включениями (Тцанк-клетки)
- Для идентификации вируса используют амплификацию генов вирусной ДНК в реакции ПЦР.
- Для выделения вируса исследуемым материалом заражают культуры клеток HeLa, Нер-2, человеческих эмбриональных фибробластов. Вирусы идентифицируют в РИФ и ИФА с использованием моноклональных антител .
- Серодиагностику проводят с помощью ИФА по нарастанию титра специфических антител. В основном специфические антитела определяют на 4-7 день , на 2-4 неделе отмечается значительное повышение титра антител. IgG в крови сохраняются в течение всей жизни.

Лечение и профилактика

- Для лечения герпесвирусных инфекций применяют химиотерапевтические противовирусные препараты (ацикловир, валацикловир, видарабин и др.), ингибирующие синтез вирусной ДНК. Стандартным терапевтическим препаратом является **ацикловир (зовиракс)**.
- Эффективна генно-инженерная вакцина, содержащая гликопротеиновые антигены внешней оболочки вирусов. Вакцина помогает предотвратить первичное заражение.

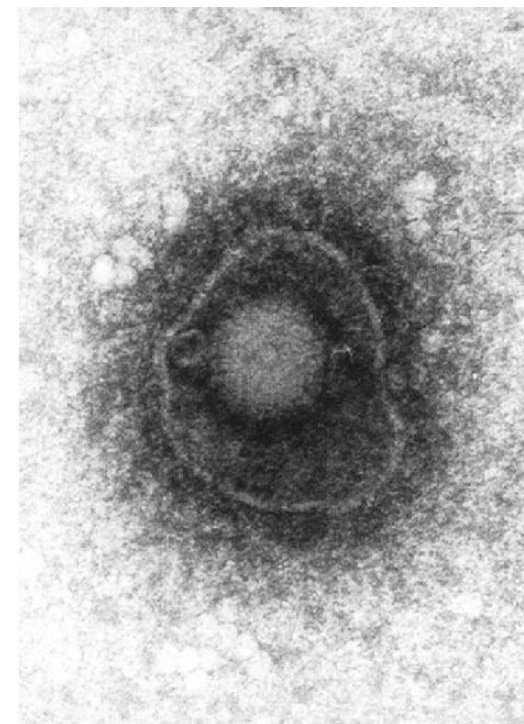


Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса (VZV)

- Вирус герпеса человека типа 3 или Varicella-zoster virus (VZV) относится к семейству *Herpesviridae* роду *Varicellovirus* .
- VZV вызывает две болезни . Первичное заражение приводит к развитию **ветряной оспы (*varicella*)** . После первичной инфекции вирусы пожизненно персистируют в ганглиях черепно-мозговых нервов. Последующая активация вирусов ведет **к** развитию **опоясывающего герпеса (*herpes zoster*)**. Поэтому возбудитель получил название вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса (*varicella-zoster virus*) .

Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса (VZV)

- Строение VZV сходно со строением других герпесвирусов .
- Вирус размножается в человеческих эмбриональных фибробластах с образованием внутриядерных включений.
- Вирус неустойчив в окружающей среде, при температуре 60⁰С гибнет в течение 30 мин. , чувствителен к жирорастворителям и дезинфицирующим средствам .



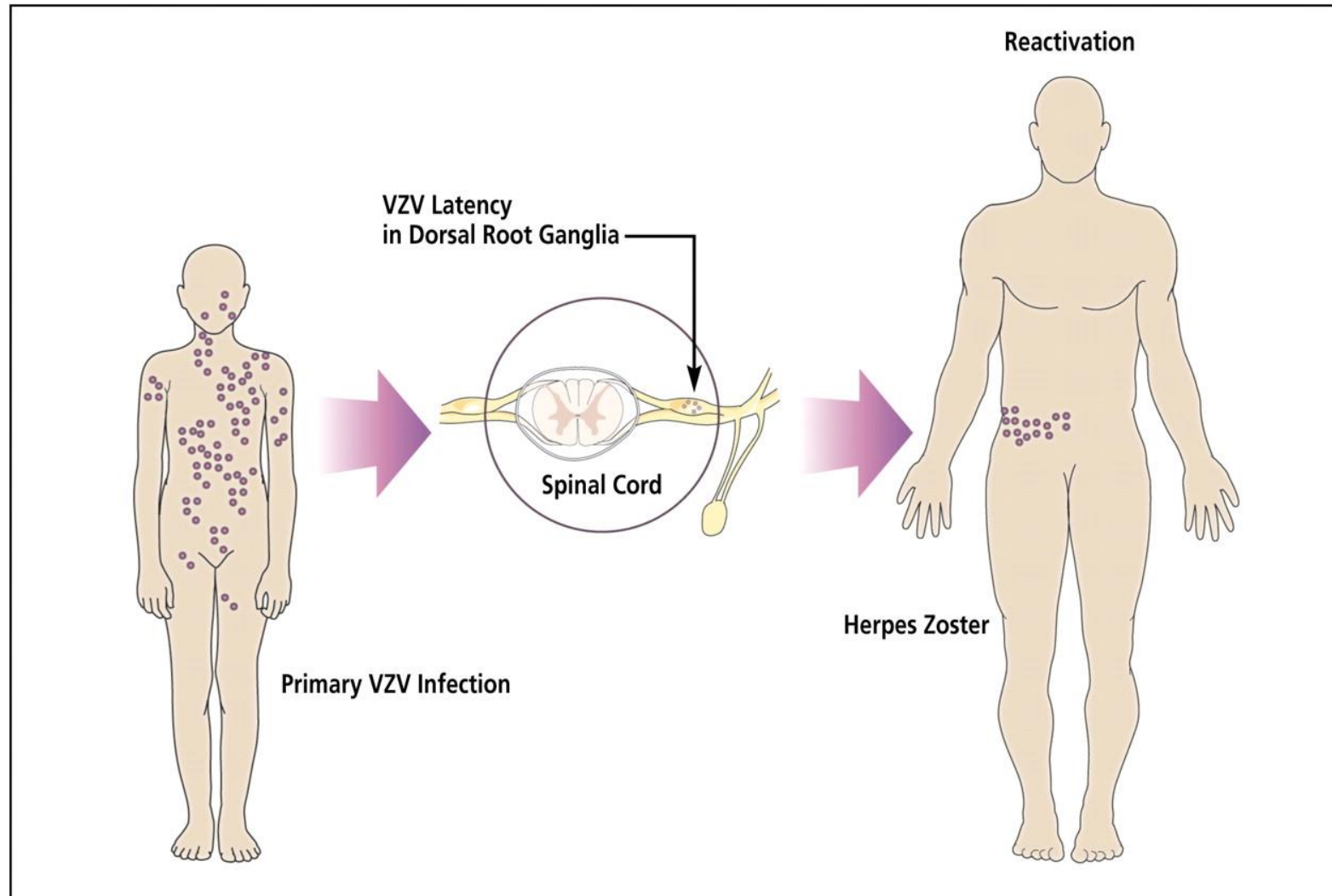
Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса

- **Ветряная оспа** – антропонозное заболевание, которым чаще болеют дети в возрасте до 10 лет. Источник инфекции – больной ветряной оспой или вирусоноситель; больной опоясывающим герпесом иногда бывает заразен. Вирус передается воздушно-капельным и контактным (через отделяемое везикул) путем. Возможна трансплантационная передача.
- После перенесенного заболевания (ветряной оспы) вирус длительно персистирует в ганглиях черепно-мозговых нервов, обуславливая латентную инфекцию. **Опоясывающим герпесом** болеют в основном взрослые, болезнь развивается в результате реактивации вируса, персистирующего в организме, т.е. вируса, сохранившегося в после перенесенной в детстве ветряной оспы.

Патогенез

- Возбудитель проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей, возможно – через конъюнктиву.
- После первичной репродукции в регионарных лимфоузлах возбудитель попадает в кровь и разносится по организму, вызывая **первичную вирусемию**.
- После репликации в печени и селезенке вирусы заносятся в различные органы и ткани, но главным образом в эпителий кожи (дерматотропное действие) и слизистых оболочек, вызывая **вторичную вирусемию**. Эпителиальные клетки подвергаются дистрофии, накоплению межтканевой жидкости с образованием пузырьков – **везикул**.
- После первичной инфекции вирус длительно персистирует в заднем корешке спинномозговых нервов или ганглии тройничного нерва. Активированный вирус, находящийся в нервных клетках спинного мозга, по нервным стволам достигает кожи, вызывая **опоясывающий герпес**.

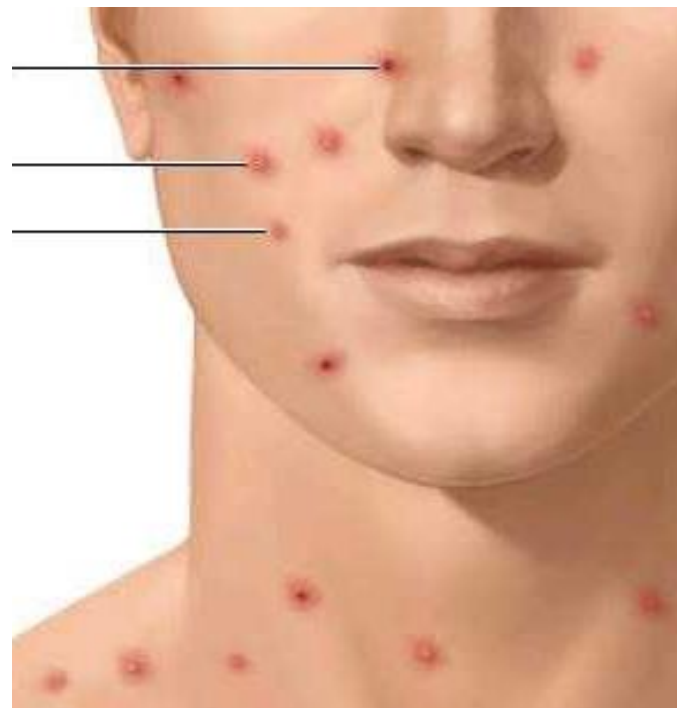
Патогенез



Клинические проявления ветряной оспы

- Инкубационный период при ветряной оспе (*varisella*) составляет 10-21 дня . Болезнь характеризуется лихорадкой , появлением **макулопапуловезикулярной сыпи** на коже туловища, шеи , лица и конечностей. Вначале сыпь появляется в виде макулы, папулы, а затем – в виде везикул с прозрачным содержимым.
- Заболевание у грудных детей, пожилых и лиц с иммунодефицитами протекает тяжело, осложняется пневмонией , гепатитом, энцефалитом, отитом, пиодермией .

Клинические проявления ветряной оспы



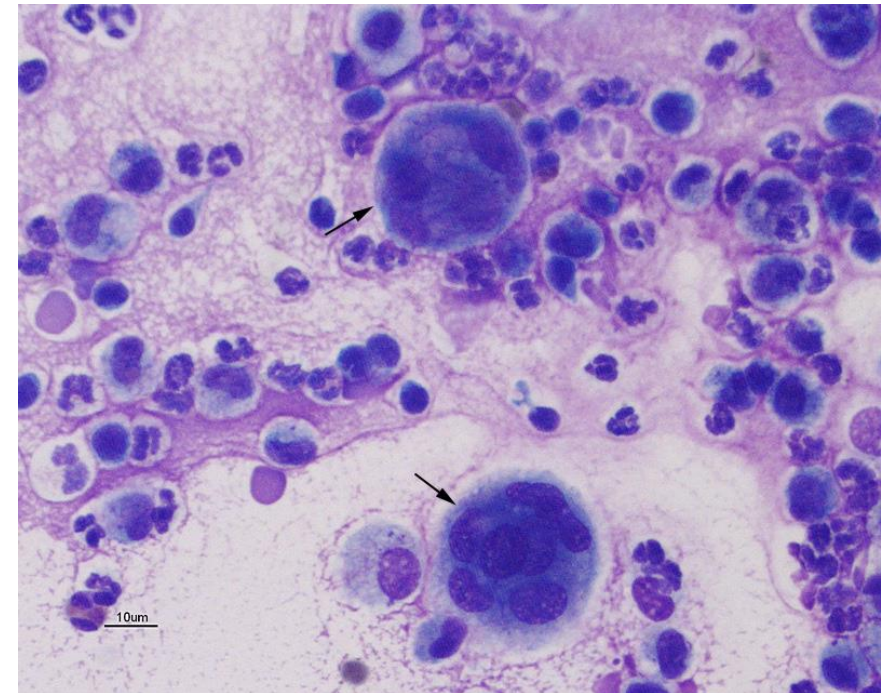
Клинические проявления опоясывающего герпеса

- Опоясывающий герпес (*zoster*) - эндогенная инфекция развивающаяся у лиц, перенесших в детстве ветряную оспу
- Инфекция развивается в результате активации вирусов, персистирующих в ганглиях задних корешков спинномозговых нервов и в ганглиях тройничного нерва. Активации вируса способствуют различные факторы, ослабляющие иммунную систему - болезни, простуды, травмы и т. д. Вирус проникает в кожу по поврежденным нервам (часто межреберным нервам), вызывая высыпания, покрывающие поверхность туловища в виде обруча (отсюда и название болезни).
- Заболевание сопровождается сильными болями. Наиболее частое осложнение опоясывающего герпеса - **постгерпетическая невралгия** может длиться в течение многих месяцев.



Микробиологическая диагностика

- Диагноз выставляется на основании клинических данных .
- Для подтверждения диагноза отбирают содержимое высыпаний , отделяемое носоглотки и кровь. Вирус можно выявить в мазках-отпечатках , окрашенных по Романовскому-Гимзе, по образованию **внутриядерных включений**.
- Вирус плохо реплицируется в культурах клеток , поэтому является маловажным.
- При серодиагностике специфические антитела выявляют РИФ и ИФА .
- **ВПГ-инфекции способствуют синтезу перекрестного иммунитета против VZV**



Лечение

- У детей с нормальным иммунитетом необходимости в противовирусной терапии при ветряной оспе нет.
- Лечение новорожденных и иммунокомпрометированных лиц является необходимым . Эффективным при лечении считается гамма-глобулин , в составе которого имеются высокие титры антител против VZV.
- Для лечения применяют ацикловир, видарабин , препараты интерферона и др. иммуномодуляторы.

Вирус Эпштейна-Барр

- Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ , вирус герпеса человека типа 4) относится к семейству *Herpesviridae* роду *Lymphocryptovirus* .
- Вирус был выделен в 1964 году М.Эпштейном и И.Барр при электронной микроскопии биоптата лимфомы Беркитта .

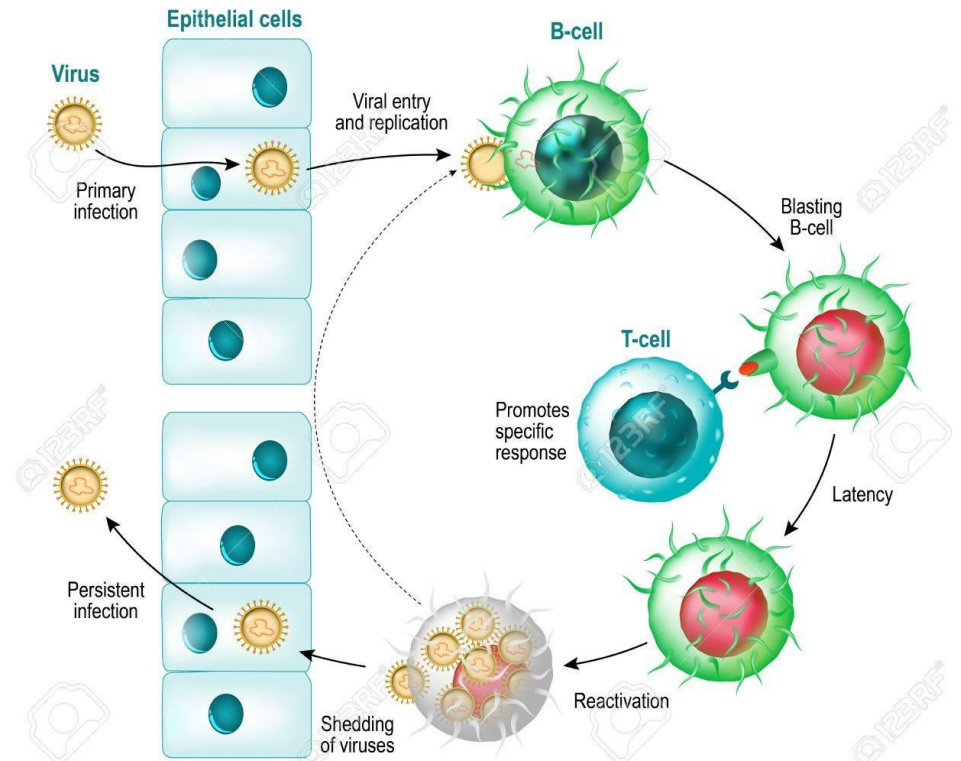
Вирус Эпштейна-Барр

- **Структура и антигены.** ВЭБ структурно и морфологически похож на другие герпесвирусы. По латентным ядерным антигенам (EBNA и EBER) делятся на два типа - ВЭБ-1 и ВЭБ-2 .
- **У ВЭБ-1** имеется EBNA антиген, который делится на шесть типов (EBNA 1, 2, 3А, 3В, 3С, LP) .
- **У EBV-2** имеется EBER антиген .Это маленькие Эпштейн-Барр-кодированные РНК молекулы - EBER1 и EBER 2.
- Вирус имеет латентные мембранные протеины LMP 1 и LMP 2. Эти антигены экспрессируются инфицированными В-лимфоцитами .

Патогенез инфекций , вызываемых ВЭБ

- Источником инфекции являются больной человек или вирусоноситель. Вирус передается воздушно-капельным путем , при контакте через слюну.
- Первичная репликация ВЭБ происходит в носоглотке или эпителиальных клетках слюнных желез.
- Вирус обладает тропизмом к В-лимфоцитам, взаимодействует с рецепторами к С3 компоненту комплемента, находящимися на поверхности В-лимфоцитов и , проникнув в них, разносится по всему организму .

The EBV replication cycle



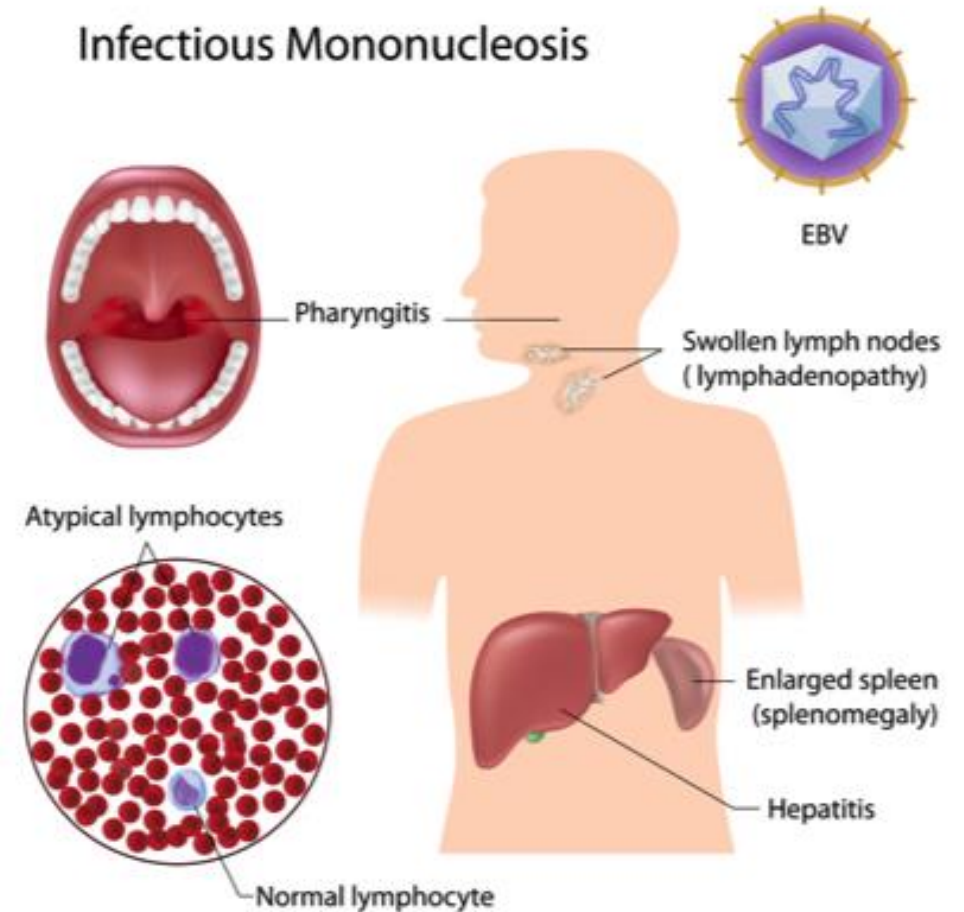
Патогенез инфекций, вызываемых ВЭБ

- Вирусы не реплицируются в В-лимфоцитах, но сохраняются в виде копий внехромосомных ДНК, вызывая латентную инфекцию.
- ВЭБ оказывает трансформирующее действие, **повышает способность В-лимфоцитов к пролиферации**, превращая их тем самым в «бессмертные».
- **Поликлональная стимуляция инфицированных В-лимфоцитов** способствует синтезу различных иммуноглобулинов, в том числе гетерофильных антител (например, к эритроцитам барана). Эти клетки становятся мишенями для цитотоксических Т-лимфоцитов, которые подавляют их пролиферацию.
- Вот почему ослабление клеточного иммунитета по разным причинам (прием иммунодепрессантов, СПИД и т. Д.) увеличивает восприимчивость к **ВЭБ-ассоциированным лимфомам**.

Клинические проявления инфекций , вызываемых ВЭБ

(инфекционный мононуклеоз)

- ВЭБ вызывает инфекционный мононуклеоз и лимфопролиферативные болезни , а также некоторые карциномы.
- **Инфекционный мононуклеоз** характеризуется интоксикацией, повреждением неба и миндалин лимфаденопатией, спленомегалией.



Клинические проявления заболеваний , вызываемых ВЭБ

(лимфопролиферативные заболевания)

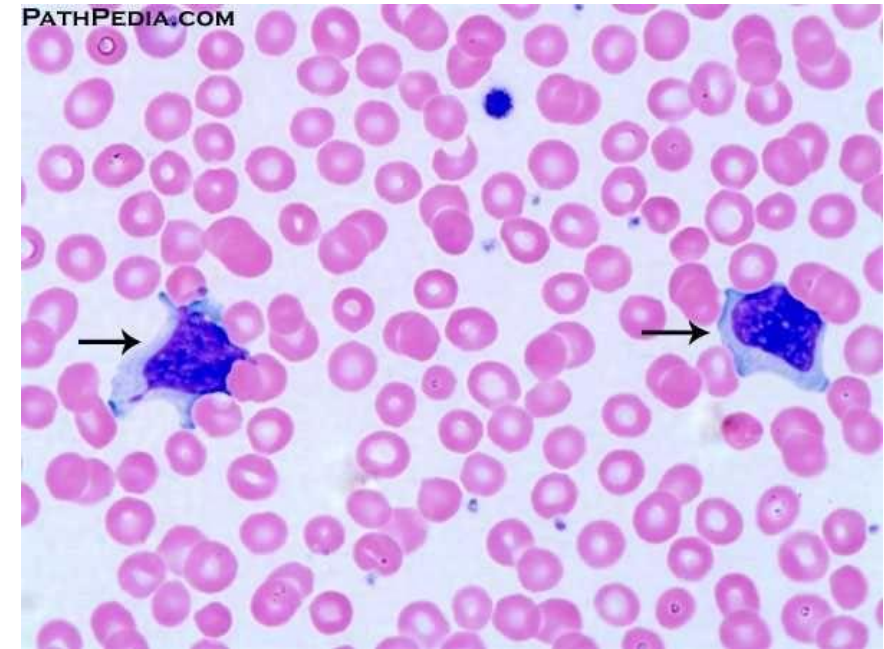
- **Волосистая оральная лейкоплакия** – характерное для СПИДа поражение слизистой оболочки рта.
- **Лимфома Беркитта** ассоциирована с малярией в Африке, относится к злокачественным, быстро прогрессирующим опухолям. Развивается в основном у детей 5-8-летнего возраста, сопровождается деструкцией верхней челюсти. Возможны метастазы в другие органы.
- **Носоглоточная карцинома** эндемичное для Китая заболевание, наиболее встречается среди мужского населения. Опухолевые клетки имеют эпителиальное начало и содержат последовательности ДНК ВЭБ.
- Также у значительного количества больных с **лимфомой Ходжкина** обнаруживаются ДНК ВЭБ.
- **Лимфопролиферативные болезни у лиц с иммунодефицитом** также могут индуцироваться ВЭБ.

Лимфома Беркитта



Микробиологическая диагностика инфекций, вызываемых ВЭБ

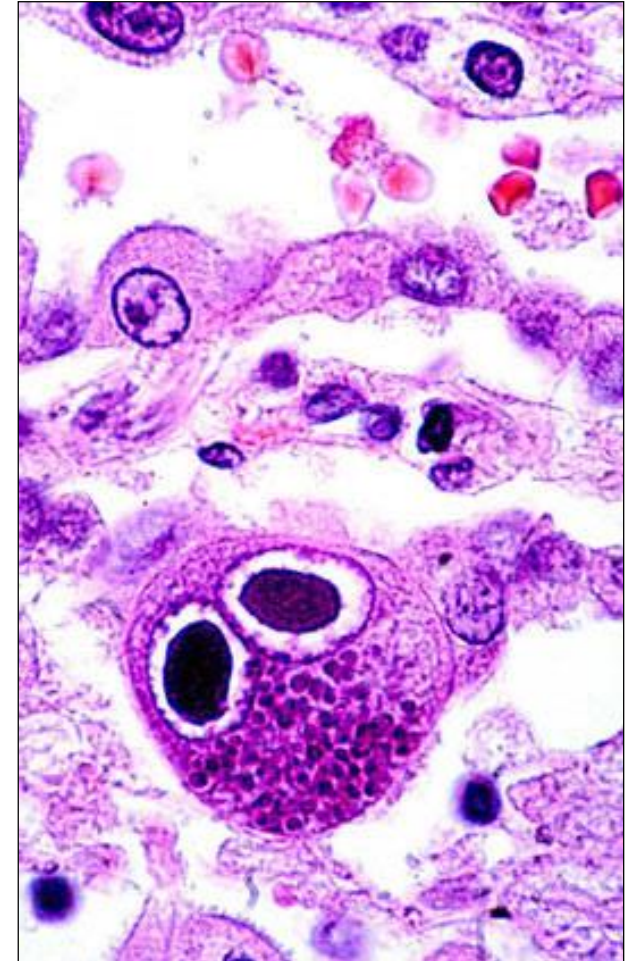
- Инфекционный мононуклеоз документируется обнаружением **атипичных лимфоцитов, лимфоцитозом** (моноциты составляют 60-70% белых кровяных клеток с 30% атипичных лимфоцитов)
- Применяют также вспомогательные реакции для выявления гетерофильных антител (агглютинация эритроцитов барана сывороткой крови больного и др.)
- На ранних стадиях заболевания определяются против капсидного антигена, далее образуются IgG-антитела, которые сохраняются на протяжении всей жизни. Через несколько недель после острой инфекции обнаруживаются антитела к EBNA и мембранным антигенам, которые сохраняются на протяжении всей жизни.



Цитомегаловирус

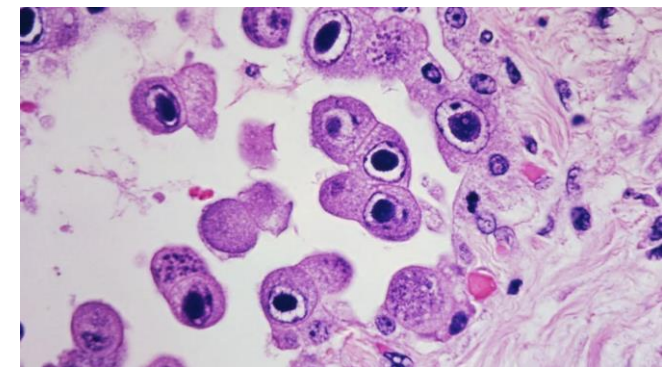
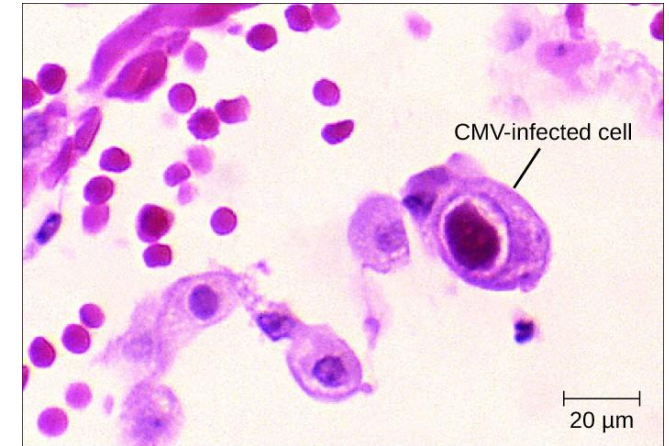
Цитомегаловирус (ЦМВ), или вирус цитомегалии, или вирус герпеса типа 5 относится к семейству *Herpesviridae* роду *Cytomegalovirus*.

- Название вируса указывает на патологические изменения морфологии культуры клеток, возникающие в результате цитопатического действия.
- В пораженных очагах обнаруживаются гигантские клетки размером 25-40 мкм (от греч. *cytos* – клетка, *megas* – большой), содержащие тельца включений. Внутрядерные включения от ядерной мембраны отделены прозрачной неокрашенной зоной и имеют форму в виде **«глаза совы»**.



Цитомегаловирус (особенности)

- ЦМВ имеет самый большой ДНК-геном среди герпес-вирусов. Вирус культивируется в культуре фибробластов человека.
- Вирус вызывает цитопатический эффект с образованием гигантских, или цитомегалических клеток с внутриядерными включениями, который обнаруживается через 30-50 дней после заражения.
- Вирус неустойчив, термолабилен, чувствителен к дезинфектантам и жирорастворителям.



Пути передачи ЦМВ-инфекции

- По некоторым данным, все люди в возрасте до 50 лет инфицированы ЦМВ.
- Источник инфекции – человек, больной острой или латентной формой .
- Заражение происходит через кровь, слюну, мочу, сперму, грудное молоко и др. контактно-бытовым , воздушно-капельным , иногда фекально-оральным путем.
- Инфицирование может быть при половых контактах , переливании крови и трансплантации органов.

Патогенез и клинические проявления ЦМВ-инфекции

- Входными воротами инфекции служат кожа , слизистые оболочки, дыхательные пути и плацента (врожденная цитомегалия).
- Вирус проникает в организм и вызывает системную инфекцию с поражением слюнных желез, легких, печени, почек, моноцитов, Т- и В-лимфоцитов. Инкубационный период 1-2 месяца
- Заболевание сопровождается симптомами, сходными с инфекционным мононуклеозом, но в большинстве случаев протекает субклинически. К основным клиническим симптомам относятся длительная лихорадка, слабость, мышечные боли, нарушение функции печени и лимфоцитоз .
- Точная локализация персистирующего в организме ЦМВ неизвестна, предположительно, что в моноцитах и макрофагах.
- Чаще всего активация вируса наблюдается у беременных и пациентов с иммунодефицитами.

ЦМВ-инфекция у иммунодефицитных лиц

- *У пациентов с иммунодефицитами* ЦМВ-инфекция имеет более тяжелое течение.
- Диссеминированная ЦМВ-инфекция в виде различных осложнений (чаще всего пневмонии) может развиваться после трансплантации органов, у пациентов со злокачественными опухолями и у пациентов со СПИДом.
- Вирус потенциально может вызывать опухоли (аденокарциному предстательной железы и др.)

Врожденная ЦМВ-инфекция

- При первичном инфицировании а также при реактивации вируса у беременных может произойти внутриутробное заражение плода. У новорожденных развивается гепатоспленомегалия, желтуха, кахексия, микроцефалия и другие пороки, приводящие к смерти примерно в 20% случаев.
- У большинства рожденных жизнеспособными детей до 2 лет, наряду с ослаблением зрения и слуха (иногда, глухота) наблюдаются **различные патологии центральной нервной системы**



Микробиологическая диагностика ЦМВ-инфекции

- Антитела(IgM и IgG) к вирусу в сыворотке крови больного определяют посредством **ИФА** . Обнаружение IgG указывает на перенесенную инфекцию и возможность потенциальной активации вируса, тогда как IgM указывает на текущую инфекцию (или активацию инфекции).
- Вирус в крови и моче выявляют с помощью **ПЦР**.
- Вирус-позитивные лейкоциты у пациентов можно определить **РИФ** с использованием моноклональных антител .
- Из за длительных сроков культивирования в клинической лаборатории не проводится культивирование вируса в культуре клеток.



Лечение цитомегаловирусной инфекции

- Для лечения используют аналоги нуклеозидов - **ганцикловир**
- Назначение **ацикловира** и **валацикловира** облегчает течение ЦМВ-инфекции, развившейся после пересадки костного мозга и почек
- Из-за полученных противоречивых результатов ограничено применение **цитомегаловирусного иммуноглобулина**, содержащего высокие титры антител против ЦМВ, применяемого для облегчения течения ЦМВ-инфекций после трансплантации органов



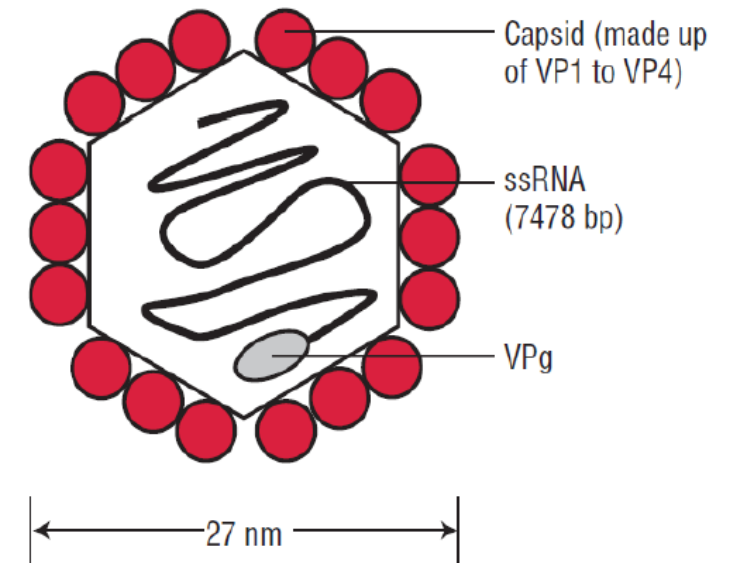
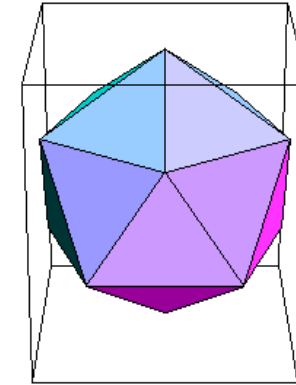
Другие герпесвирусы человека

- **ГВЧ 6 типа** лимфотропный вирус, поражающий Т-лимфоциты. Заражение ГВЧ-6 происходит в раннем детстве. Вызывает **внезапную экзантему** (*roseola infantum*) или **«шестую болезнь»**, сопровождаемую внезапным повышением температуры на фоне экзантемы.
- **ГВЧ- 7 типа** заражает в раннем детстве, персистирует в слюнных железах и выделяется со слюной. Предположительно ГВЧ-7 вызывает **синдром хронической усталости** с субфебрильной температурой, потливостью, артралгией и слабостью.
- **ГВЧ-8 типа** выделен при изучении ткани больных саркомой Капоши у ВИЧ-инфицированных и получил название **герпес-вирус, ассоциированный с саркомой Капоши**



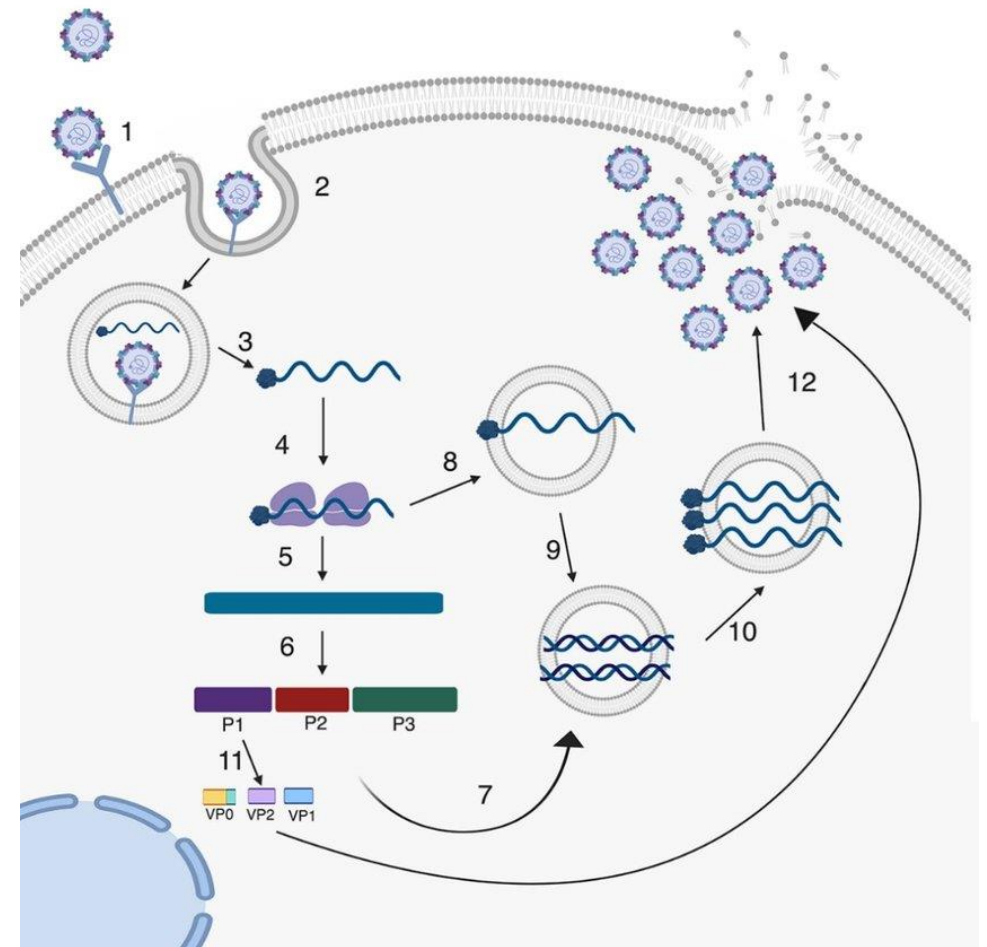
Семейство Picornaviridae

- Члены семейства Picornaviridae представляют собой простые вирусы с одноцепочечной РНК. Название семейства связано с очень малыми размерами этих вирусов (*pico*-маленький, *rna*-РНК).
- Вирусы имеют простое строения (без оболочки), размером 28-30 нм.
- Капсид имеет 12 пентамеров с икосаэдрической симметрией. На поверхности каждого пентамера имеются специальные бороздки («каньоны»), обеспечивающие связь вируса с клеткой-хозяином, а также с Fab-фрагментами антител.
- Геном вирусов состоит из положительной РНК инфекционной природы и связанного с ней VPg-белка..



Репродукция пикорнавирусов

- Репродукция происходит в цитоплазме клеток-хозяев.
- Вирус проникает в клетку-хозяина путем эндоцитоза.
- Геномная РНК играет роль информационной РНК и участвует в синтезе вирусных белков, в том числе РНК-зависимой РНК-полимеразы.
- Этот фермент синтезирует отрицательную РНК комплементарную положительной РНК и снова положительную РНК (геномную РНК) из отрицательной.
- Геномная РНК окружается капсидом из структурных белков и образует зрелый вирион.
- В результате лизиса клеток высвобождаются вирионы.



Классификация пикорнавирусов:

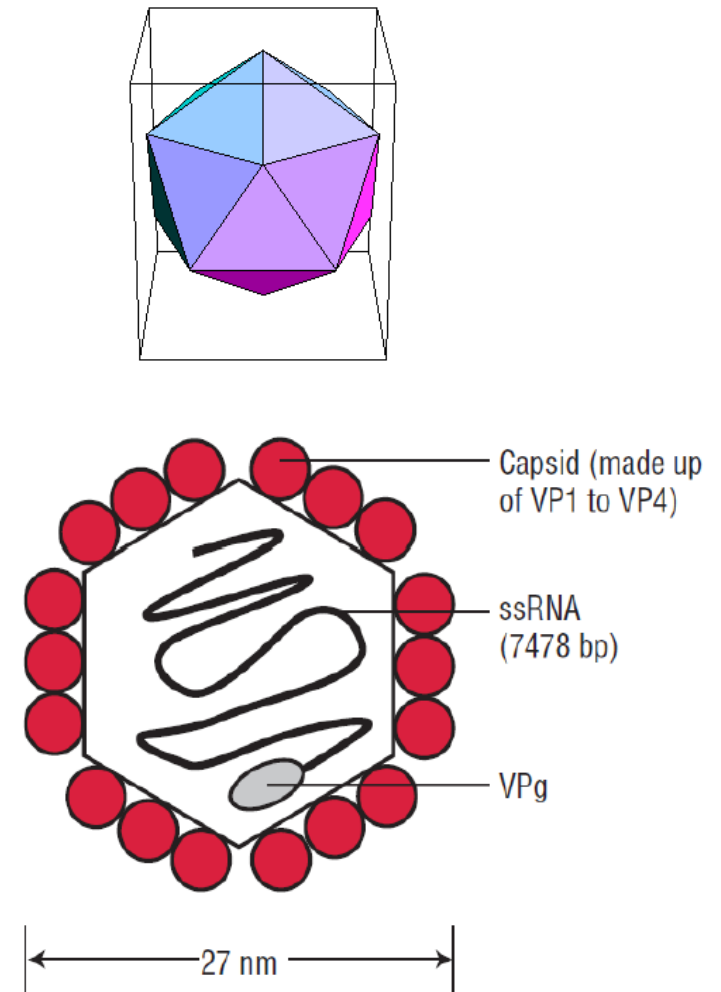
- Семейство *Picornaviridae* состоит из 9 родов: Enterovirus (энтеровирусы), Hepatovirus (вирусы гепатита А), Rhinovirus (риновирусы), Arhtovirus (кожные вирусы), Parechovirus (пареховирусы), Cardiovirus и др. Первые 5 родов имеют большее значение в патологии человека.

Род *Enterovirus* (энтеровирусы)

- Энтеровирусы (от греч. *enteron* – кишка) вызывают разнообразные по клиническим проявлениям заболевания преимущественно в кишечнике человека.
- Энтеровирусы относятся к семейству *Picornaviridae* рода *Enterovirus* . Род включает вирусы полиомиелита , Коксаки А и В (по названию населенного пункта в США , где они были впервые выделены), ЕСНО (аббревиатура от англ. Enteric cytopathogenic human orphans – кишечные цитопатогенные человеческие вирусы сироты), энтеровирусы типов 69-71 и 73-78 .
- В настоящее время 72-ой тип энтеровирусов (вирус гепатита А) отдельно включен в род *Hepatovirus*

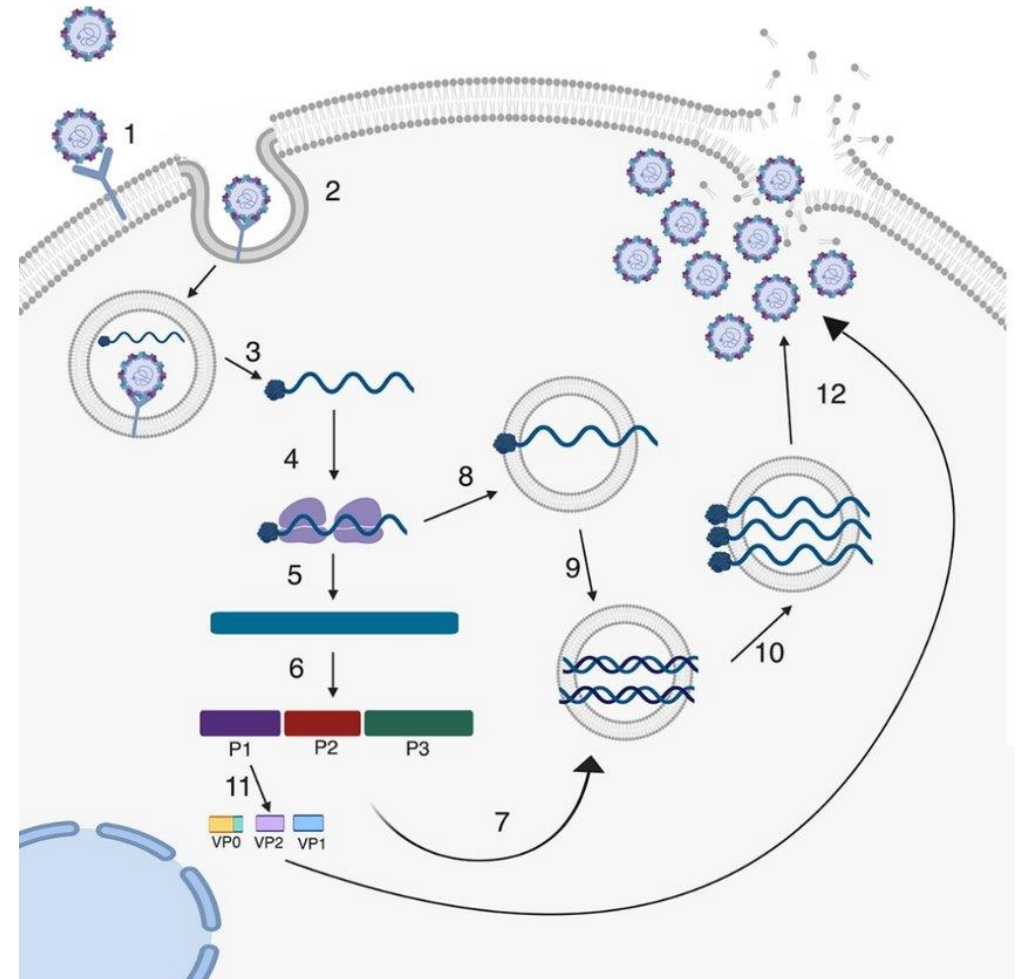
Энтеровирусы (особенности)

- Просто организованные (безоболочечные) вирусы, размером 28-30 нм.
- Капсид с икосаэдрическим (кубическим) типом симметрии, состоит из 12 пентамеров. Углубления (каньоны) на поверхности каждого пентамера являются областью соединения с рецепторами клетки хозяина, а также Fab-фрагментом антител.
- Геном вируса - инфекционная однонитевая плюс РНК, связанная с белком VPg.



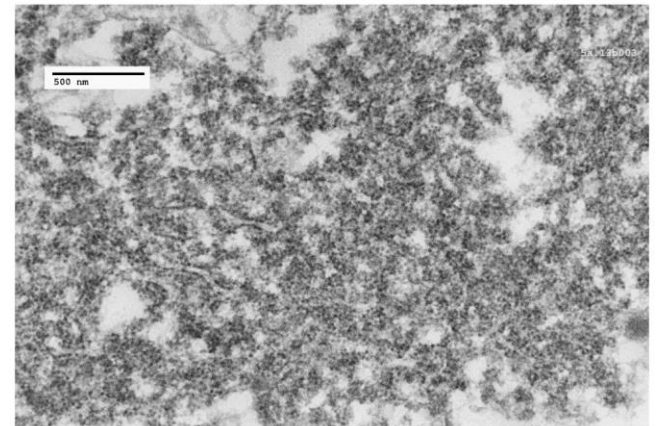
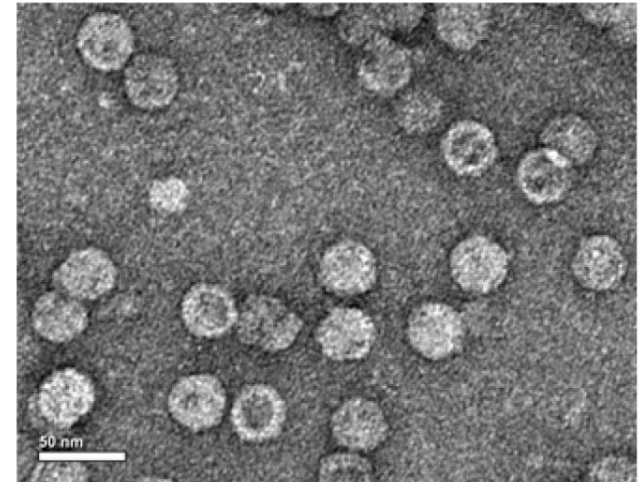
Репродукция энтеровирусов

- Репродукция энтеровирусов происходит в цитоплазме клетки хозяина.
- Вирус поступает в клетку путем эндоцитоза.
- Геномная РНК функционирует как иРНК для синтеза белка, включая РНК-зависимую полимеразу.
- Полимераза синтезирует минус-нить матрицу с поверхности плюс-нити и реплицирует геном.
- Структурные белки собираются в капсид, в него включается геном, образуется вирион.
- Вирионы освобождаются из клетки посредством ее лизиса.



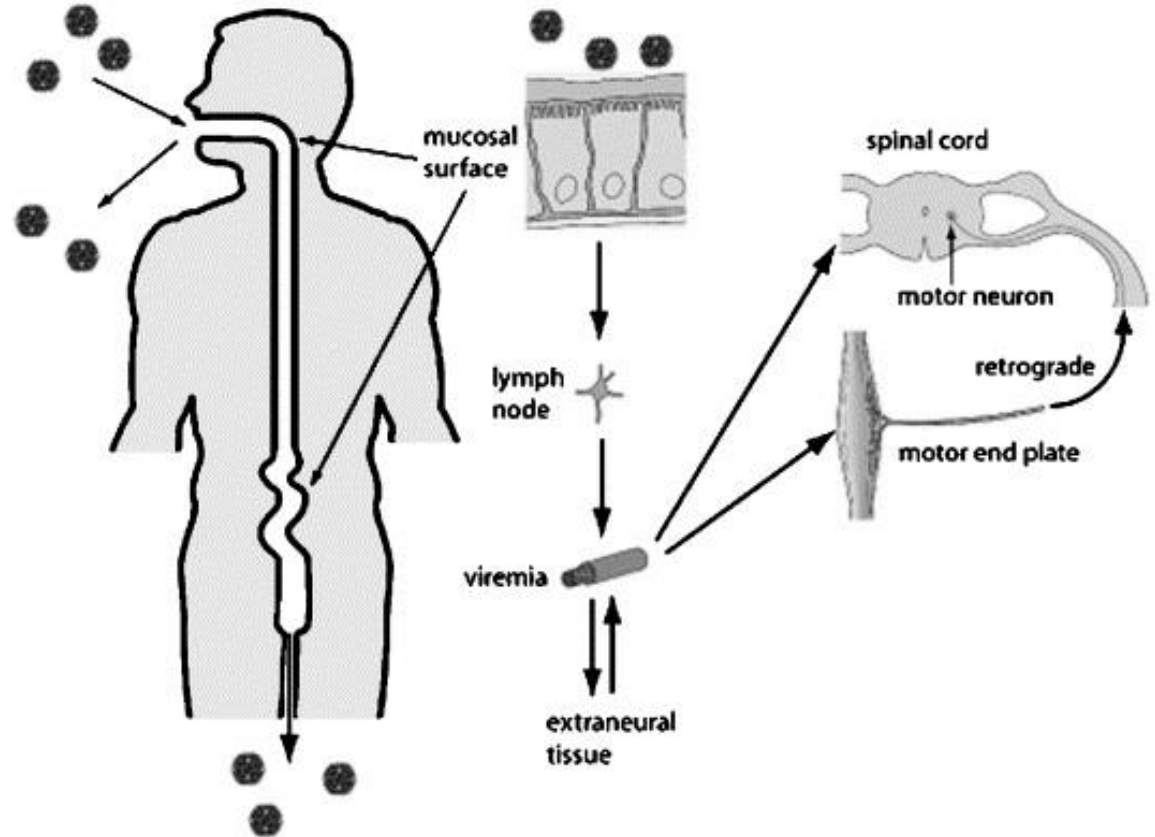
Вирусы полиомиелита(полиовирусы)

- Вирус полиомиелита относится к семейству *Picornaviridae* роду *Enterovirus*.
- По структуре полиовирусы – типичные представители рода *Enterovirus*. Различают 3 серотипа внутри вида: 1, 2, 3, не вызывающие перекрестного иммунитета.
- Полиовирусы хорошо репродуцируются в первичных и перевиваемых культурах клеток из тканей человека и обезьян (например, в культуре клеток почек) и в течение 3-6 дней вызывают цитопатический эффект .
- Полиовирусы сохраняются в воде, почве, в некоторых пищевых продуктах и на предметах обихода месяцами. Погибают при температуре 55⁰С в течение 30 мин. , при кипячении – за несколько секунд.



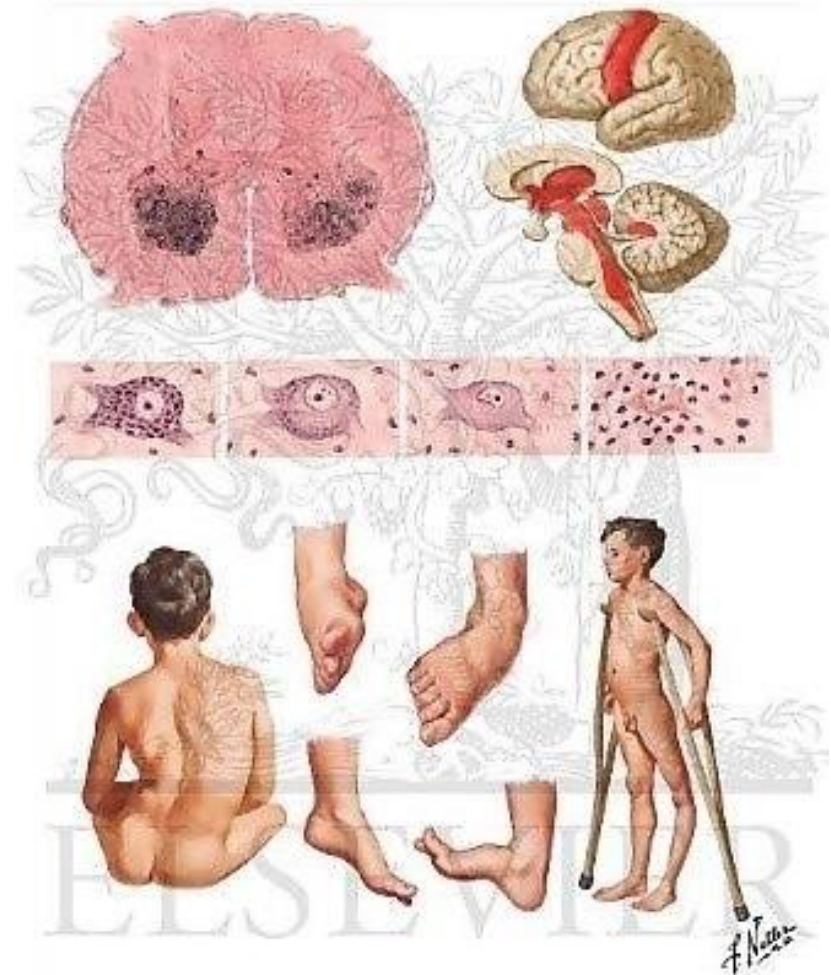
Патогенез полиомиелита

- Источник инфекции – человек и вирусоноситель. Заражение происходит фекально-оральным механизмом – через пищевые продукты, воду, предметы обихода, грязные руки. В первые 1-2 недели заболевания вирус может передаваться через носоглоточный секрет воздушно-капельным путем.
- Полиовирус проникает в организм через слизистые оболочки носоглотки и тонкого кишечника. Первичная репродукция вирусов происходит в лимфатических узлах глоточного кольца и тонкого кишечника.
- Вирусы проникают в центральную нервную систему, где избирательно поражают клетки передних рогов спинного мозга (двигательные нейроны). В результате этого возникают вялые параличи конечностей и туловища.



Клинические проявления полиомиелита

- Полиомиелитом болеют преимущественно дети. Инкубационный период продолжается в среднем 7-14 дней. Проявления полиомиелита могут варьировать от бессимптомных до очень тяжелых клинических форм, сопровождающихся параличом.
- Чаще встречается **легкая форма заболевания**, которая длится несколько дней, сопровождается температурой, общей слабостью, головной болью, рвотой и болью в горле.
- **Менингеальная форма (асептический менингит)** – продолжается в течение 2-10 дней, проходит без остаточных признаков.
- **Паралитическая форма** возникает в результате повреждения мотонейронов спинного мозга. В основном вызывается вирусом 1 серотипа (развивается примерно в 1% случаев). Часто наблюдаются асимметричные параличи нижних конечностей. Паралитическая форма заболевания длится долго, у больных сохраняются остаточные параличи.
- Спустя десятилетия после перенесенной в детстве паралитической формы полиомиелита у некоторых людей может развиваться **прогрессирующая мышечная атрофия**

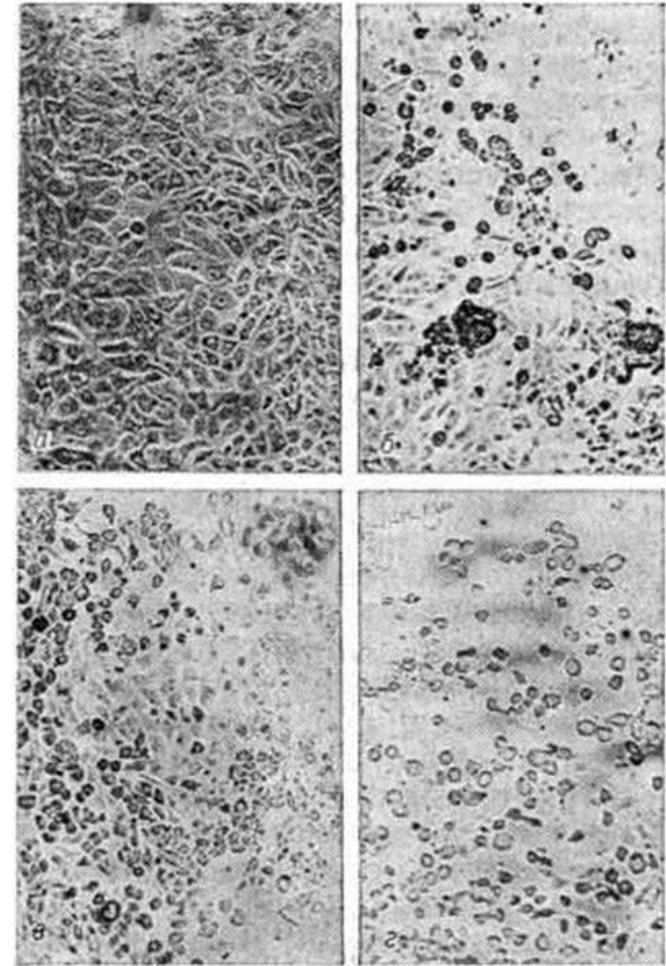


Иммунитет

- После перенесенной болезни остается пожизненный типоспецифический иммунитет. Невосприимчивость связана наличием вируснейтрализующих антител.
- Естественный пассивный иммунитет новорожденных обусловлен материнскими антителами и сохраняется в течение 6 месяцев
- Пассивный искусственный иммунитет сохраняется только в течение 3-5 недель.

Микробиологическая диагностика

- Материалом для исследования служат отделяемое носоглотки, испражнения.
- Вирусы полиомиелита выделяют путем заражения исследуемым материалом **первичных и перевиваемых культур клеток человека и обезьян. О репродукции вирусов судят по цитопатическому действию.** Идентификацию проводят с помощью типоспецифических сывороток в реакции нейтрализации в культуре клеток, а также в ПЦР.
- Серодиагностика основана на нарастании титра специфических антител с использованием парных сывороток больных .



Лечение полиомиелита

- Средства специфической профилактики отсутствуют, поэтому проводят симптоматическое лечение.
- Применение *иммуноглобулина* до начала заболевания дает положительный эффект.
- И хотя препарат на короткое время предотвращает развитие паралитических форм, он не защищает от субклинического течения инфекции.

Профилактика полиомиелита

- **Первая инактивированная** (формалином) вакцина для профилактики полиомиелита была разработана Дж. Солком в 1953 году. Она создавала лишь общий гуморальный иммунитет, не формируя при этом местной резистентности слизистых оболочек.
- В 1956 г. А.Сэбин получил **живую культуральную вакцину** из аттенуированных штаммов вирусов полиомиелита всех трех типов. Вакцина Сэбина индуцирует выработку IgM и IgG и синтез секреторного IgA в кишечнике. Данная вакцина вводится перорально и используется для массовой иммунизации детей.



Вирусы Коксаки

- Вирусы Коксаки относятся к семейству *Picornaviridae* роду *Enterovirus* . В отличие от прочих энтеровирусов вирусы Коксаки являются наиболее патогенными для новорожденных мышей . По патогенности для новорожденных мышей вирусы разделены на группы А и В (29 серотипов) .
- Вирусы Коксаки А вызывают диффузный миозит и очаговый некроз поперечно-полосатых мышц.
- Вирусы Коксаки В вызывают поражение ЦНС , развитие параличей, некроз скелетной мускулатуры, иногда – миокарда.

Патогенез и клинические проявления заболеваний , вызываемых вирусами Коксаки

- Несмотря на репликацию в гастроинтестинальном тракте , характерную для многих энтеровирусов , вирусы Коксаки не вызывают кишечных инфекций. Вирусы вызывают у человека асептический менингит , респираторные заболевания и лихорадку. Инкубационный период заболеваний , вызываемых вирусами Коксаки составляет 2-9 дней.
- **Асептический менингит.** Может сопровождаться мышечной слабостью, напоминающую параличи при полиомиелите.
- **Герпангина** , вызванная вирусами Коксаки А , сопровождается тяжелым лихорадочным фарингитом .Отмечается повышение температуры, боль в горле , герпетиформные высыпания в глотке , миндалинах и на языке.
- **Пузырчатка полости рта и конечностей.** Заживление везикул без образования корочек , что отличает их от заболеваний , вызываемых герпес- и поксвирусами.
- **Плевродиния** ,или **эпидемическая миалгия.** Сопровождается лихорадкой и болями в грудной клетке .
- **Миокардиты.** В основном сопровождаются у детей тяжелыми воспалениями сердца и его оболочек, среди новорожденных наблюдается высокая летальность.

Микробиологическая диагностика

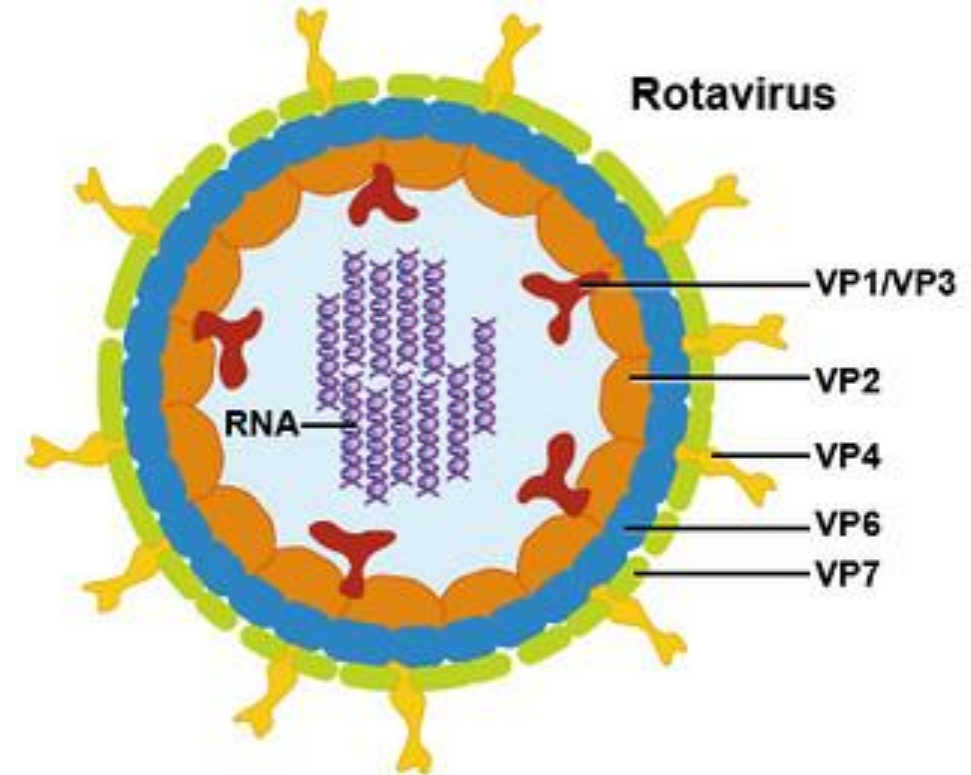
- Вирусы выделяют из отделяемого носоглотки в первые дни заболевания , из испражнений – в первые недели.
- При асептическом менингите возбудитель возможно выделить из спинномозговой жидкости и испражнений . Заражают культуры клеток *Hela* , тканевые культуры почек обезьян (через 5-14 дней становится видимым цитопатический эффект) или мышей-сосунков .
- В клиническом материале вирусы выявляют с помощью ПЦР.

Вирусы группы ЕСНО

- Вирусы группы ЕСНО (от англ. *Enteric cytopathogenic human orfans* – **кишечные цитопатогенные человеческие вирусы сироты**) относятся роду *Enterovirus* семейства *Picornaviridae*. Вызывают ОРВИ, асептический менингит, полиомиелитоподобные заболевания
- Наиболее часто встречаемые в детском возрасте заболевания обычно сопровождаются появлением сыпи

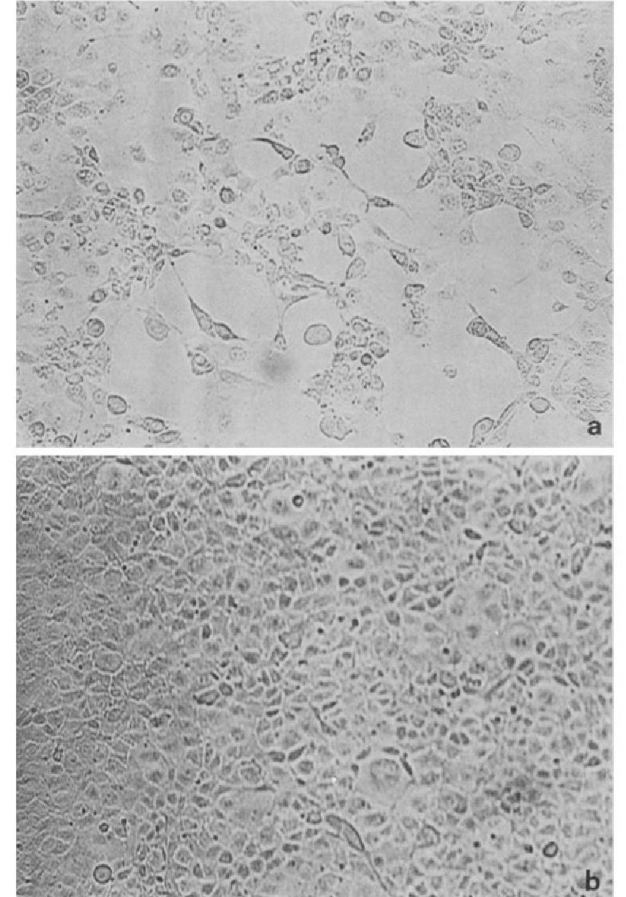
Род Rotavirus (ротавирусы)

- Ротавирусы относятся к семейству *Reoviridae* роду *Rotavirus*. Свое название получили из-за строения вириона, напоминающего зубчатое колесо (от лат. *rota* - колесо).
- Вирион ротавирусов сферической формы, содержит двунитевую фрагментированную (11 сегментов) РНК. Двухслойный (внутренний и внешний) капсид имеет форму колеса с отходящими внутрь «спицами». Вирион имеет 8 белков. Внутренний капсид содержит VP-1, VP-2, VP-3, VP-6 белки. Наружный капсид содержит VP-4 и VP-7 белки.
- Белок VP-7 – основной компонент наружного капсида (типоспецифический антиген), по антигенной структуре которого ротавирусы делятся на 6 серотипов (A-F).
- У человека заболевания вызывает серогруппа А.



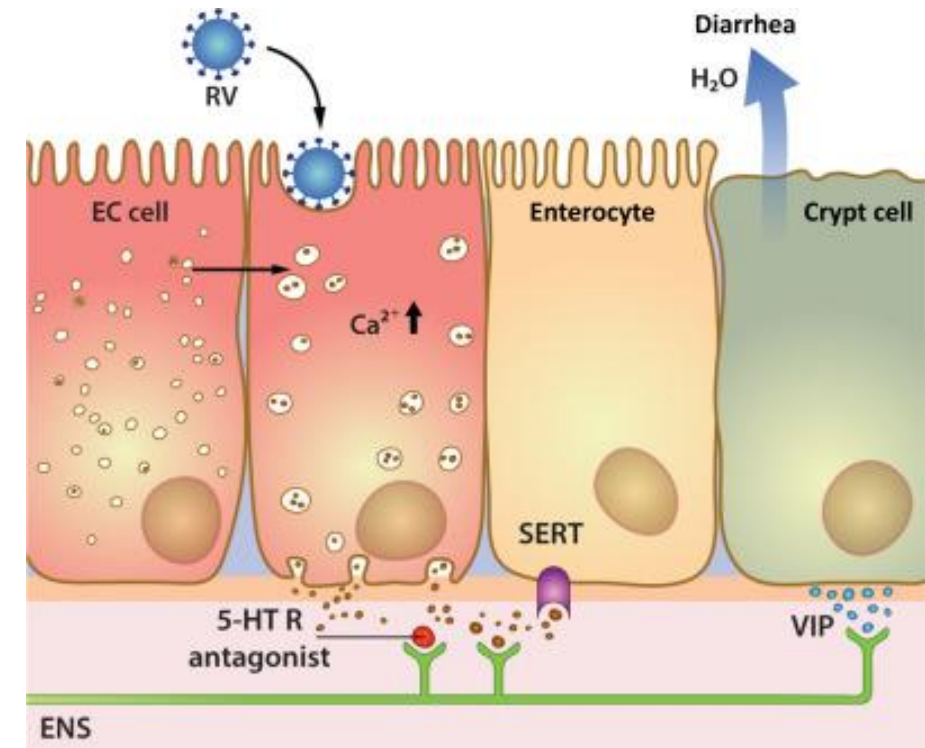
Ротавирусы (культивирование)

- Ротавирусы трудно культивируются в клеточных культурах.
- Ротавирусы серогруппы А возможно культивировать в присутствии протеолитического фермента - **трипсина**. Протеолиз происходящий под действием фермента, повышает инвазивную активность вирусов и приводит к образованию инфекционных субвирусных частиц.



Патогенез и клинические проявления ротавирусных инфекций

- Источник инфекции – больные или вирусоносители. Вирусы выделяются с фекалиями (фекально-оральный механизм). Пути передачи – водный (основной), пищевой, контактно-бытовой.
- Ротавирусы размножаются в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки, вызывая их гибель. NSP4 белок вируса обладает свойством энтеротоксина. Диарея развивается в результате нарушения всасывания глюкозы и солей в кишечнике.
- Ротавирусные инфекции в основном у новорожденных и детей младшего возраста (от 6 мес. до 2 лет) вызывают острые энтериты. Инкубационный период – 1-3 дня. Основные клинические симптомы заболевания – лихорадка, рвота, боли в животе и диарея, могут стать причиной потери жидкости и электролитов и привести к смерти.



Микробиологическая диагностика

- Основана на выделении вируса в испражнениях с помощью иммунной электронной микроскопии , реакции латекс-агглютинации , ИФА и ПЦР.
- Антитела выявляют в парных сыворотках крови с помощью ИФА.



Род Rubivirus (вирус краснухи)

- Вирус краснухи подобен другим вирусам семейства Togaviridae.
- Вирус краснухи можно культивировать во многих культурах клеток, но он не дает заметного цитопатического эффекта.
- Следовательно, можно обнаружить вирус в первичных культурах клеток благодаря явлению интерференции. Для этого используют любой цитопатогенный вирус, репродукция которого в тканевых культурах всегда сопровождается цитопатическим эффектом. Однако в культуре клеток, ранее инфицированных вирусом краснухи, эти вирусы не вызывают цитопатического эффекта (феномен интерференции).
- В отличие от других тоговирусов вирус краснухи не культивируется в культуре клеток членистоногих и обладает нейраминидазной активностью.

Род *Rubivirus* (вирус краснухи)

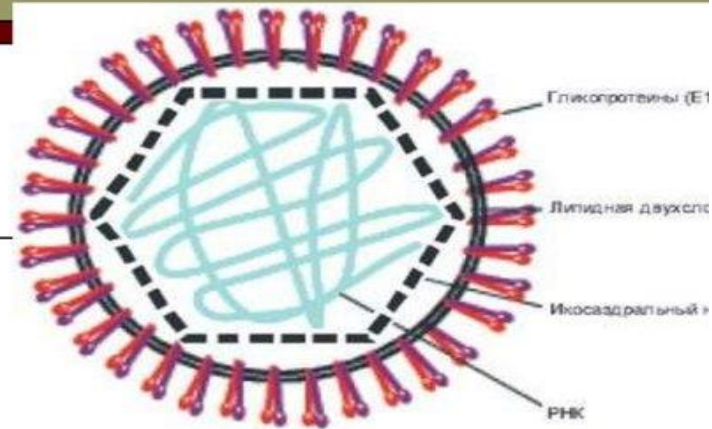
- Краснуха — острое лихорадочное заболевание с сыпью и лимфаденопатией, которое встречается преимущественно у детей.
- Вирус краснухи относится к роду *Rubivirus* семейства *Togaviridae*. Следует отметить, что данный вирус не относится к группе арбовирусов как исключительный представитель семейства *Togaviridae*.
- Однако по своей структуре и физико-химическим свойствам он принадлежит к семейству *Togaviridae*.
- Название рода (лат. *rubrum* — красный) относится к красной пятнисто-массивной сыпи, появляющейся на коже больных во время кори.

ВИРУС КРАСНУХИ -Относится к роду *Rubiviridae* (от лат. *rubrum* – красный, что связано с появлением пятнисто-папулезной сыпи на коже).

Вызывает приобретенную и врожденную краснуху и подострый краснушный панэнцефалит

1.Морфология

- ❑ Форма: сферическая
- ❑ Диаметр: 60-70 нм
- ❑ Наружная липидная оболочка имеет на поверхности гликопротеиновые шипы:
 - ❖ E1 – обладает гемагглютинирующими свойствами
 - ❖ E2 – выполняет функцию рецептора при взаимодействии с клеткой.
- ❑ Под оболочкой капсид кубического типа симметрии
- ❑ *Геном*: однонитевая плюс-РНК
- ❑ Вирус имеет собственную нейраминидазу

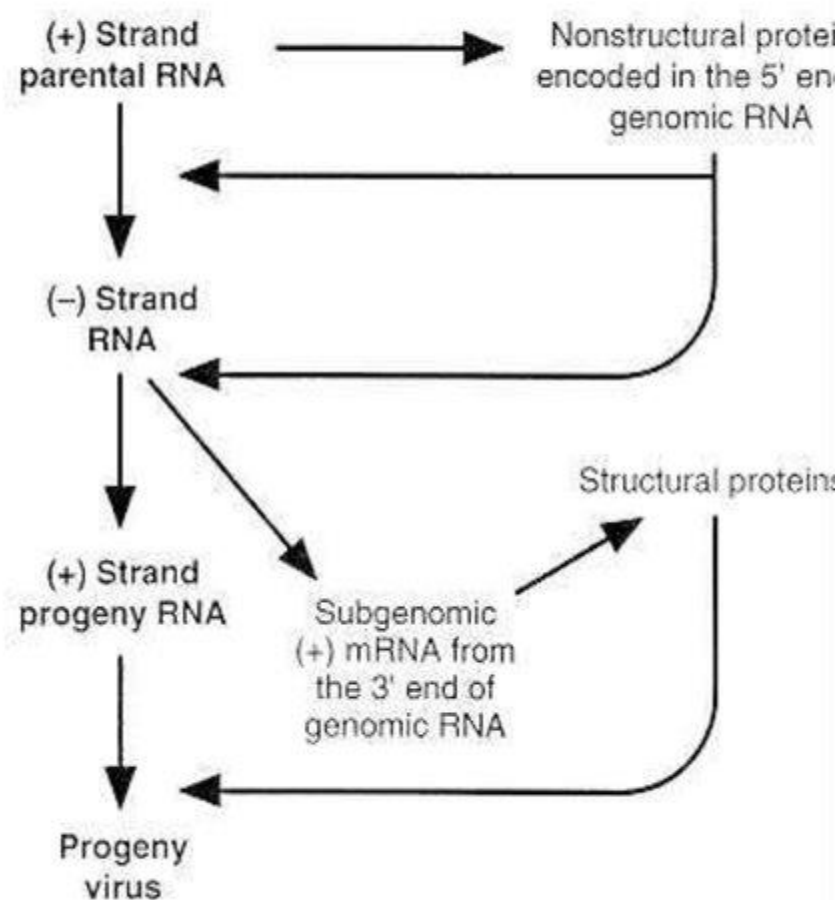


АНТИГЕННАЯ СТРУКТУРА

- ВИРУС ИМЕЕТ ОДИН СЕРОТИП
 - С-антиген – нуклеокапсидный выявляется в РСК
 - Е2 протективный (гемагглютинин)– выявляется в РН
 - Е1 участвует в прикреплении вируса
-
- Культивируется в ВНК21 и Vero вызывая ЦПД в виде бляшек, очаговой деструкции монослоя
 - Вирус можно обнаружить по феномену интерференции
 - К вирусу чувствительны куриные и утиные эмбрионы

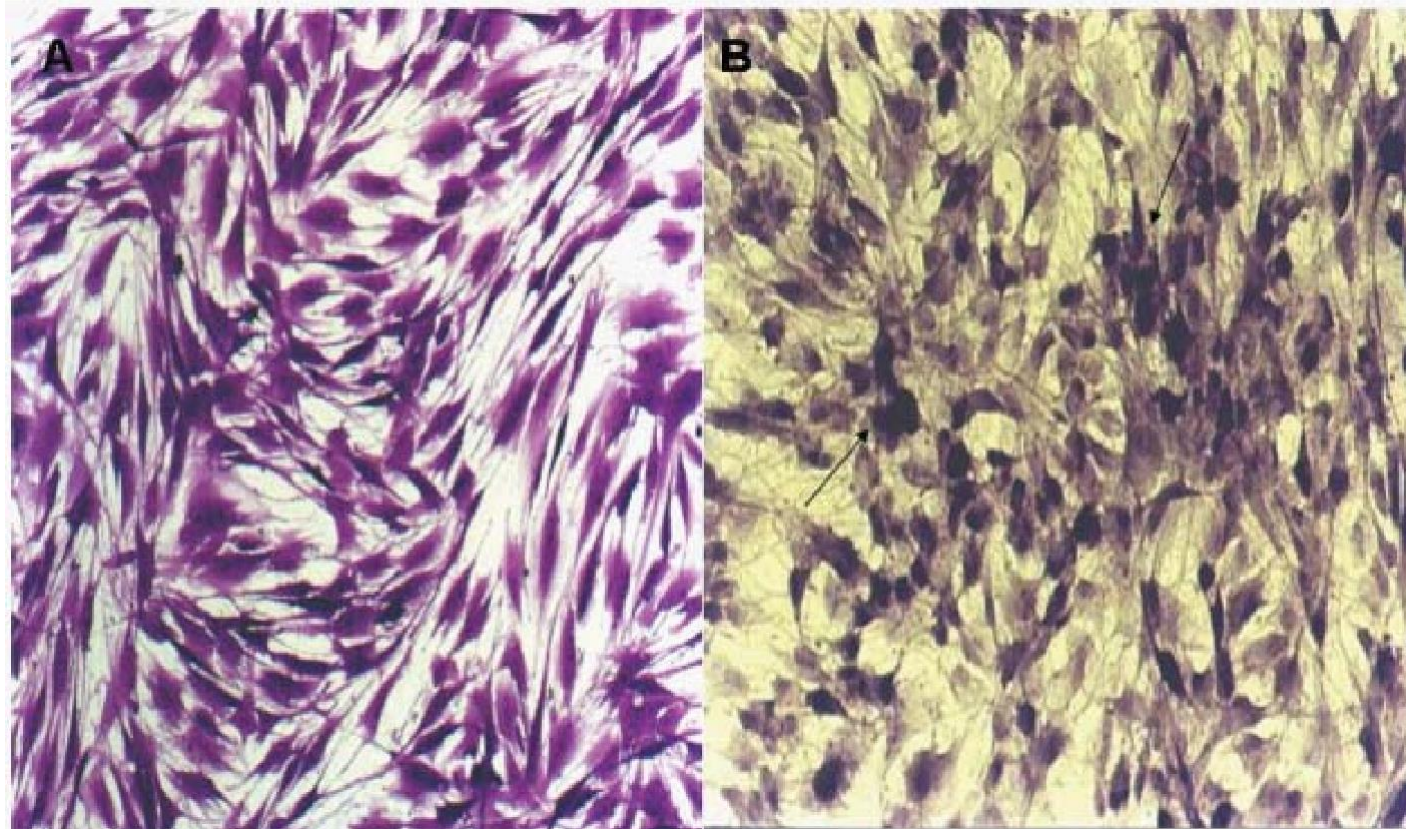
Репродукция вируса (продуктивная инфекция)

- ❑ Проникновение вируса в цитоплазму клетки происходит путем рецепторного эндоцитоза
- ❑ После «раздевания» синтезируется вирусная РНК-зависимая РНК-полимераза.
- ❑ Затем при помощи этого фермента матрице плюс-РНК образуется комплементарная минус-РНК. Она служит матрицей для образования двух нитей плюс-РНК – полной и короткой. Полная нить кодирует генс вируса и вирусные полипептиды а короткая нить используется для синтеза капсидных и оболочечных белков. Белки расщепляются, образу гликопротеины E1 и E2.



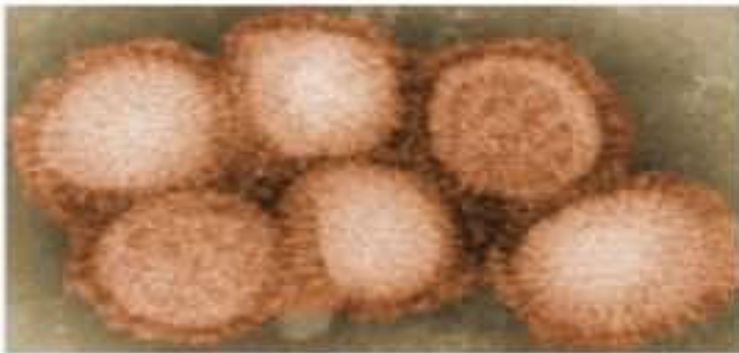
- ❑ Завершение сборки и выход вирионов из клетки происходит путем почкования

цитопатический эффект вируса краснухи в культуре клеток
«*Rabbit cornea cell line*»



Источник инфекции и пути заражения

- Вирус краснухи вызывает постнатальную краснуху, врожденную краснуху и прогрессирующий краснушный энцефалит.
- Источником инфекции являются больные клиническими и бессимптомными формами.
- Заражение происходит воздушно-капельным путем.
- У беременных возможно трансплацентарное заражение плода. В это время происходит гибель плода, либо ребенок рождается с врожденной корью.



Вирус краснухи (вверху) и
типичная краснушная сыпь
у взрослого (справа)



Приобретенная краснуха

Патогенез краснухи

- **Врожденная краснуха** возникает в результате трансплацентарного заражения плода.
- Заражение краснухой особенно опасно в первом триместре беременности, так как в этот период формируются все органы и ткани плода. В этот период у 85% инфицированных детей формируются врожденные аномалии.
- При заражении во II триместре беременности примерно 16% детей рождаются с врожденными симптомами краснухи. Инфекция спинного мозга также может вызывать гибель плода и самопроизвольные аборты.
- После 20-й недели беременности при трансплацентарном инфицировании дефектов обычно не наблюдается.

Врожденная краснуха

Классификация

Врожденная краснуха:

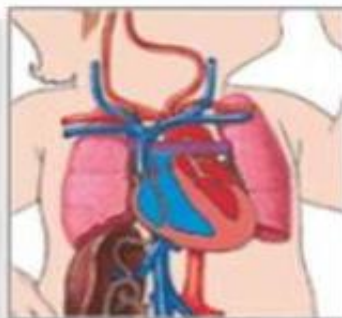
Развивается при внутриутробном заражении. Может развиваться и после бессимптомной (иннапарантной) краснухи у матери.

Характеризуется триадой Грегга:

- 1 – поражения органов зрения;
- 2 – патология органов слуха;
- 3 – врожденные пороки сердца.



Микроцефалия



Пороки сердца



Катаракта

Патогенез

Предполагаемый механизм патогенеза врожденной краснухи



Патогенез краснухи

- **Послеродовая краснуха.** Воротами инфекции являются слизистые оболочки верхних дыхательных путей. Вирус размножается в эпителии дыхательных путей, в лимфатических узлах шеи и затылка, попадает в кровь, вирусемия продолжается до образования в крови антител (13-15 дней).
- Латентный период кори длится в среднем 2-3 недели. Заболевание начинается с незначительного повышения температуры тела, слабовыраженных катаральных явлений, а также роста шейных и затылочных лимфатических узлов. Позже на всей поверхности тела образуются кореподобные пятнисто-папулезные высыпания. Высыпания сначала наблюдаются на лице, затем распространяются на туловище и конечности, причем высыпания держатся самое большее 3 дня (с этим связано название болезни «трехдневная корь»), бесследно исчезают.



Подострый Краснушный Панэнцефалит – медленная вирусная инфекция, которая может развиться через десятилетия после перенесенной в детстве краснухи а также у лиц с врожденной краснухой

- **Болезнь характеризуется комплексом прогрессирующих нарушений двигательной и умственной функций ЦНС, и завершается летальным исходом**

Тератогенные эффекты рубивируса

- Персистенция вируса в тканях плода сопровождается тератогенным эффектом. Последнее связано с ослаблением митотической активности клеток, ишемией плода вследствие повреждения сосудов плаценты, а также с прямым цитопатогенным действием вируса на клетки плода - вирус повреждает моноциты и лимфоциты и персистирует в них длительное время.
- Вирус, сохраняющийся в организме детей с врожденной краснухой, обладает высокой вирулентностью.

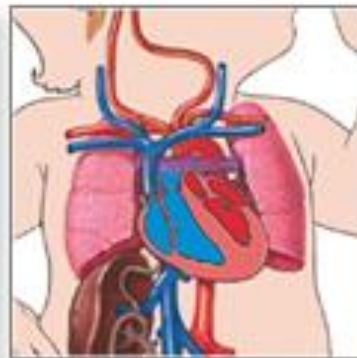
Врожденная краснуха

- Врожденная краснуха сопровождается классическими симптомами триады - катарактой, пороками сердца и глухотой, но возможны и другие аномалии развития - сыпь, гепатоспленомегалия, желтуха, менингоэнцефалит.
- Глухота, вызванная поражением центральной нервной системы, также вызывает умственную отсталость. Внутрочерепные мальформации также могут быть вызваны вирусами простого герпеса, цитомегаловирусом, вирусами гриппа и кори, но лидером является вирус краснухи

Rubella syndrome



Microcephaly



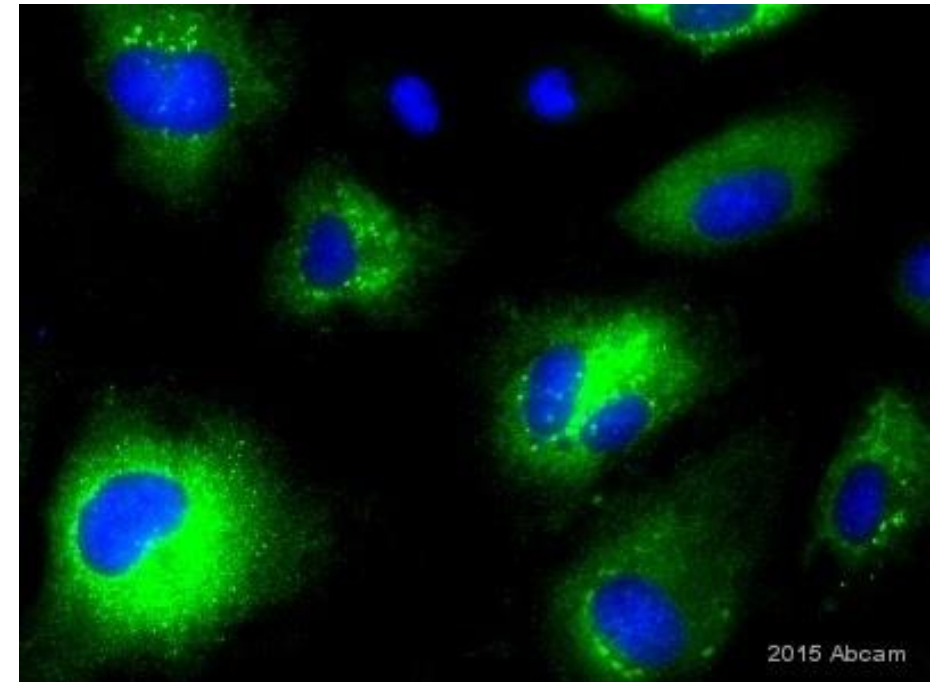
PDA



Cataracts

Микробиологическая диагностика краснухи

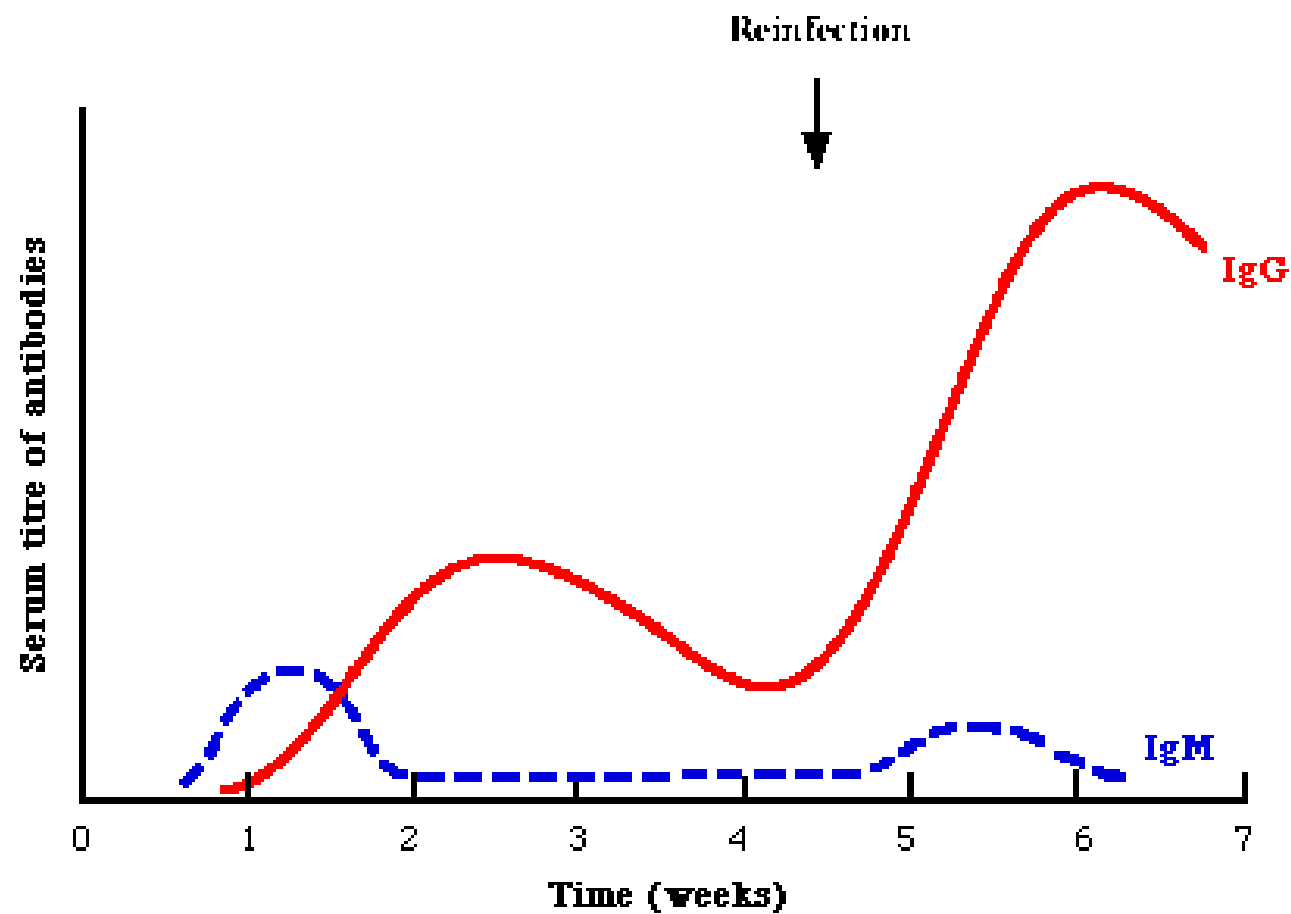
- Вирус краснухи может быть обнаружен вирусологическим методом в материалах, взятых из носоглотки или зева мазком.
- Поскольку он не оказывает заметного цитопатического действия, обнаружить вирус краснухи методом ИФР можно уже через 3-4 дня в инфицированных культурах клеток.



Микробиологическая диагностика краснухи

- **Серологическая диагностика** основана на обнаружении специфических антител к вирусу краснухи (IgG и IgM) в сыворотке крови методом ИФА и считается одним из обязательных тестов при обследовании беременных.
- При выявлении у беременных антител IgG к вирусу краснухи следует изучить динамику нарастания антител в другом образце крови, взятом с 10-дневным интервалом (титр увеличивается в 4 раза и более), а также наличие антител IgM в сыворотке крови следует определить.
- Если через 2 недели после контакта с источником инфекции в сыворотках крови беременной обнаруживается повышение титра IgG, а также IgM, то это свидетельствует о первичном заражении и может считаться показанием к прерыванию беременности.
- В динамике заболевания четырехкратное и более повышение титра антител свидетельствует о недавнем заболевании, а определение специфических антител IgM свидетельствует о наличии заболевания на момент обследования.
- Наличие специфических IgM-антител у плода указывает на внутриутробное инфицирование.

Динамика антител в сыворотке крови при краснухе



Профилактика краснухи

- В настоящее время во многих странах мира используется живая вакцина, изготовленная из ослабленных штаммов вируса в виде моновакцины или ассоциированной вакцины (паротит-корь-краснуха).
- Ассоциированные вакцины предназначены для детей и применяются с 12 месяцев жизни.
- Моновакцины и селективная вакцинация в основном используются для взрослых. Около 95% привитых вырабатывают иммунитет и сохраняют его в течение 20 лет.

