

Занятие 27.

Микробиологическая диагностика инфекций, вызываемых вирусами группы арбовирусов (семейства *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Reoviridae* и *Filoviridae*) и семейства *Rhabdoviridae*.

Обсуждаемые вопросы

- 1. Семейство *Togaviridae*, общие свойства (классификация, морфология, репродукция, антигенная структура, устойчивость).
- Род *Alfavirus*, общие свойства, патогенез и клинические формы (лихорадка Синдбис, лихорадка леса Семлики, лихорадка Чикунгунья, энцефаломиелит лошадей). Микробиологическая диагностика альфавирусных инфекций
- 2. Семейство *Flaviviridae*, общие свойства (морфология, репродукция, устойчивость, классификация). Микробиологическая диагностика, лечение и профилактика заболеваний (желтая лихорадка, лихорадка денге, клещевой энцефалит, японский энцефалит, лихорадка Западного Нила, омская геморрагическая лихорадка)
- 3. Семейство *Arenaviridae*, классификация, общие свойства (морфология, репродукция, стойкость). Микробиологическая диагностика, лечение и профилактика заболеваний (лихорадка Ласса, лимфоцитарный хориоменингит, южноамериканские геморрагические лихорадки)
- 4. Семейство *Bunyaviridae*, общие свойства (морфология, репродукция, устойчивость). Микробиологическая диагностика, лечение и профилактика вызываемых им заболеваний (калифорнийский энцефалит, комариная лихорадка (флеботомная лихорадка), лихорадка Рифт-Валли, геморрагическая лихорадка Крым-конго, синдром хантавирусной пневмонии (СХП), геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС)).
- 5. Семейство *Reoviridae*, общие свойства (морфология, репродукция, стойкость). Морфобиологические особенности ротавирусов, эпидемиология, патогенез, микробиологическая диагностика, лечение, профилактика вызываемых ими заболеваний.
- 6. Семейство *Filoviridae*, классификация, общие признаки (морфология, репродукция, антигенная структура, устойчивость). Микробиологическая диагностика заболеваний, вызываемых вирусами Марбург и Эбола
- 7. Семейство *Rhabdoviridae*, общие свойства (классификация, морфология, репродукция, антигенная структура, устойчивость).
- Общие свойства вируса бешенства (морфология, культуральные и антигенные свойства, виды). Эпидемиология, патогенез и клиника бешенства. Микробиологическая диагностика, специфические проблемы профилактики и лечения бешенства

Цель занятия

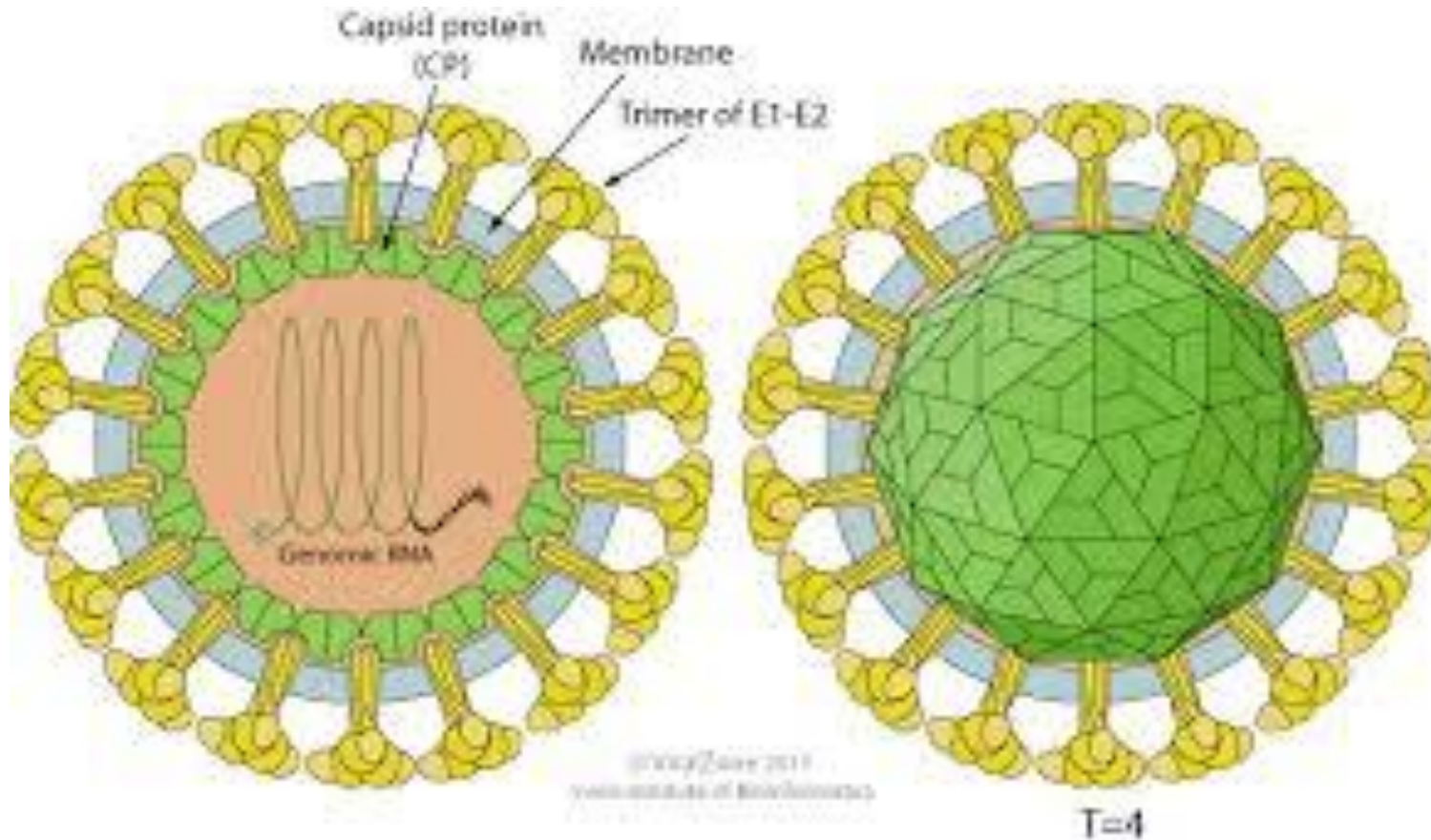
- Ознакомить учащихся с морфобиологическими особенностями вирусов, относящихся к группе арбовирусов (семейства *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Reoviridae* и *Filoviridae*) и семейству *Rhabdoviridae*, а также дать информацию о микробиологических методах диагностики заболеваний, вызываемых этими вирусами.

- Арбовирусы (arthropod-borne viruses) – экологическая группа вирусов, передающихся кровососущими переносчиками, которые также являются их резервуаром и природными хозяевами
- *Большая часть арбовирусов относится к семействам Togaviridae, Flaviviridae, Bunyaviridae*

Робовирусы выделены в экологическую группу возбудителей нетрансмиссивных геморрагических лихорадок (от англ. *rodent-borne* вирусы рожденные грызунами) -
Семейства Arenaviridae, Filoviridae

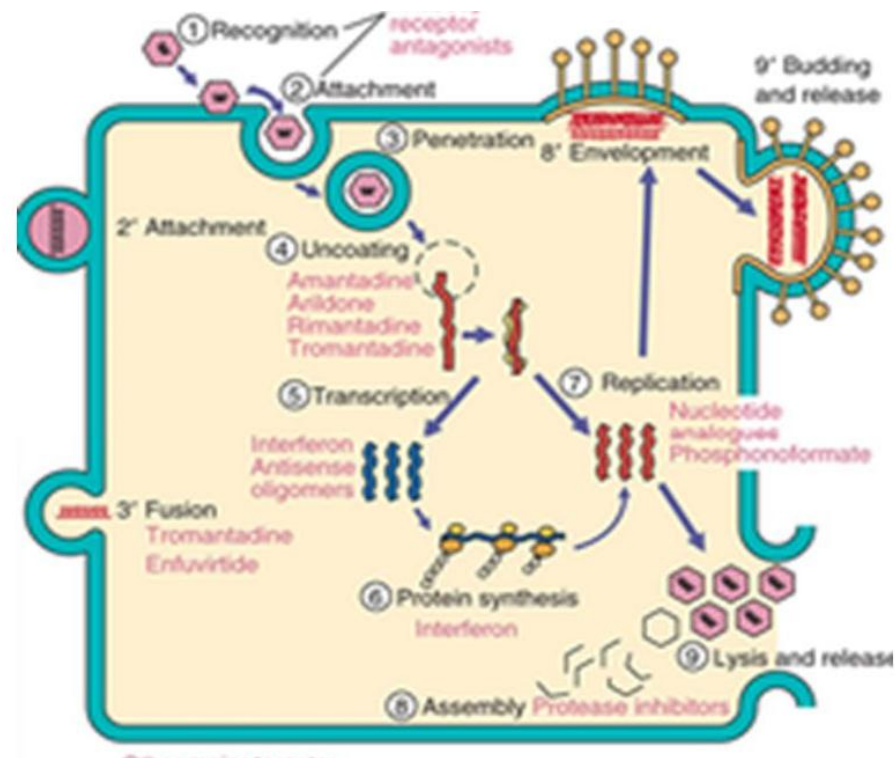
- Семейство *Togaviridae* (от лат. *toga* - плащ, или накидка) включает патогенные для человека р. *Alphavirus* (вирус Синдбис), р. *Rubivirus* (вирус краснухи).

Тогавирусы - сферические оболочечные вирусы с икосаэдрическим капсидом, заключенным в липидную оболочку. Поверхность вирусов покрыта гликопротеиновыми шипами, содержащими E1(гемагглютинин) и E2 (нейраминидаза). Геном однонитевая молекула +РНК.



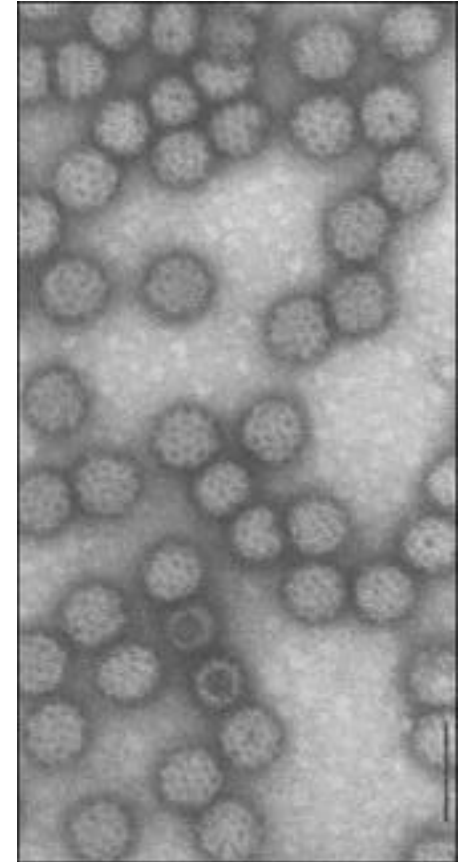
Репродукция

- Репродукция вирусов, попадающих в клетку, путем эндоцитоза рецепторов происходит в цитоплазме клетки-хозяина.
- Все процессы синтеза вирусоспецифических компонентов и образования нуклеокапсида происходят в рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума.
- В результате соединения нуклеокапсида, липидного слоя и гликопротеинов вирион образуется и удаляется путем экзоцитоза в плазматической мембране клетки-хозяина.
- Зрелые вирионы отпочковываются от мембран клеток-хозяев.



Классификация тогавирусов

- В патологию человека вовлечены два рода, входящие в род - Alphavirus и Rubivirus.
- Альфавирус, относящийся к экологической группе арбовирусов, вызывает заболевания, передающиеся членистоногими.
- Вирус краснухи относится к роду Rubivirus. краснухи, не относящийся к арбовирусам, передается воздушно-капельным путем.

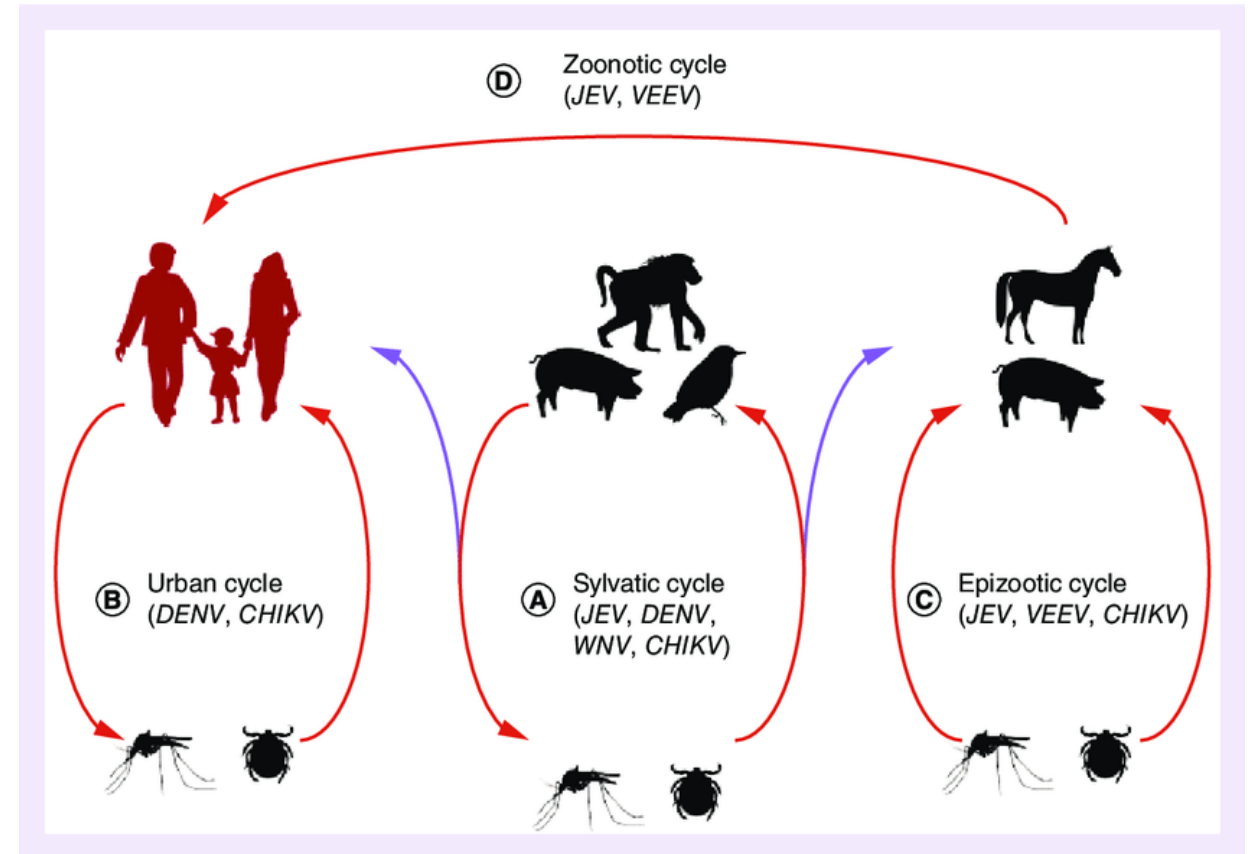


Род альфавирусов (альфавирусы)

- **Характеристики.** Альфавирусы культивируются в культуре HeLa, Vero, фибробластов куриных эмбрионов и проявляют выраженный цитопатический эффект.
- Универсальной моделью получения вирусов является заражение новорожденных белых мышей. Внутримозговое, подкожное и абдоминальное заражение белых мышей вызывает фатальный энцефалит и паралич.
- Благодаря антигенной специфичности поверхностных гликопротеинов E1 вирионов все альфавирусы образуют 4 антигенных комплекса, которые различаются ИФА и HALR: вирусы венесуэльского, западного и восточного энцефаломиелита лошадей и вирусный комплекс леса Семлики.

Источник инфекции и пути заражения

- Альфавирусы вызывают естественные зоонозные заболевания.
- В природных очагах резервуаром вируса являются позвоночные – птицы, грызуны, приматы и другие животные.
- При природных вспышках люди заражаются через укусы членистоногих.
- Вирус размножается в тканях и органах членистоногих, в том числе в слюнных железах.



Патогенез альфавирусных инфекций

- Вирусы, попавшие в организм от кровососущих членистоногих, сначала размножаются в местных подкожных тканях и регионарных лимфатических узлах.
- Затем вирусы попадают в кровь и распространяются по всему организму, и в зависимости от характера возбудителя их дальнейшее размножение происходит в моноцитах и макрофагах, эндотелии сосудов, легких, печени, мышцах и др
- Попадая в центральную нервную систему, нейротропные вирусы вызывают дегенеративные изменения в клетках головного мозга, в результате чего возникает энцефалит.

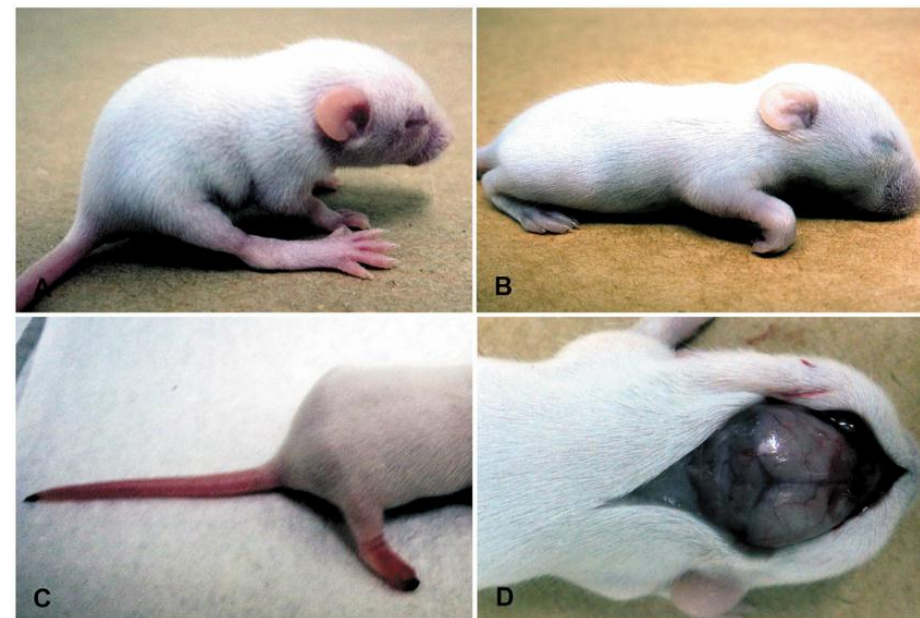
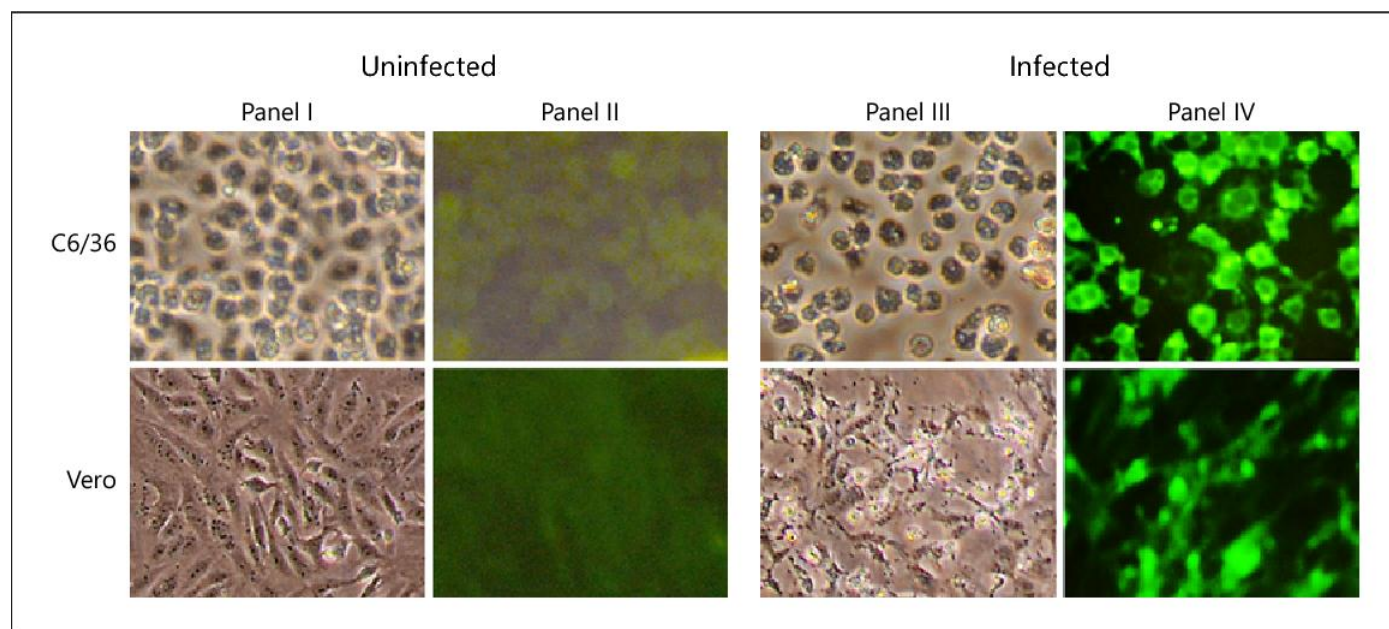
Клинические формы альфавирусных инфекций

- ***лихорадка Синдбис.*** Вирус-возбудитель был получен от комаров в деревне Синдбис в районе Каира (Египет). Заболевание начинается с лихорадки, головной боли, артралгий, кожной сыпи и продолжается 5-8 дней. Хотя имеет доброкачественное течение, при развитии артроза может перейти в хроническую форму и стать причиной инвалидности.
- ***лихорадка леса Семлики.*** Вирус-возбудитель был получен от комаров леса Семлики в Уганде. Заболевание спорадическое у людей и проявляется лихорадкой, энцефалитом и в некоторых случаях асептическим менингитом.
- ***Лихорадка чикунгунья*** широко распространена в странах с тропическим и субтропическим климатом, для нее характерны двухволновая лихорадка, интоксикация, миалгии, сильные боли в суставах, лимфаденопатия, макуло-папулезная сыпь, иногда менингеальные и геморрагические симптомы.
- ***Энцефаломиелит лошадей.*** Заболевания среди людей встречаются в основном во многих странах американского континента (Бразилия, Аргентина, Мексика, США, Канада и др.) и сопровождаются в основном симптомами энцефалита — помрачением сознания, головной болью, лихорадкой, параличами.

Микробиологическая диагностика альфавирусных инфекций

- Вирусы могут быть обнаружены в крови на ранних стадиях заболевания, а позже в спинномозговой жидкости. Для этого белых мышей заражают интрацеребрально.
- Вирусы также можно получить путем инфицирования соответствующих клеточных культур патологическим материалом. Идентификацию альфавирусов проводят РН на мышах и культурах клеток, РТГА с эритроцитами, ИФР и ИФА.
- ПЦР используется в диагностике некоторых заболеваний.
- В сыворотке крови больных можно определить вируснейтрализующие и антигемагглютининовые антитела, которые образуются через несколько дней после заболевания и сохраняются в течение многих лет. Самым простым методом определения этих антител является тест РТГА. Определение вирусспецифических IgM в спинномозговой жидкости считается более чувствительным тестом.
- 4-кратные и более нарастание титра антител в двукратных сыворотках крови, взятых в начале заболевания и через 2-3 нед, также подтверждает диагноз.

Микробиологическая диагностика альфавирусных инфекций

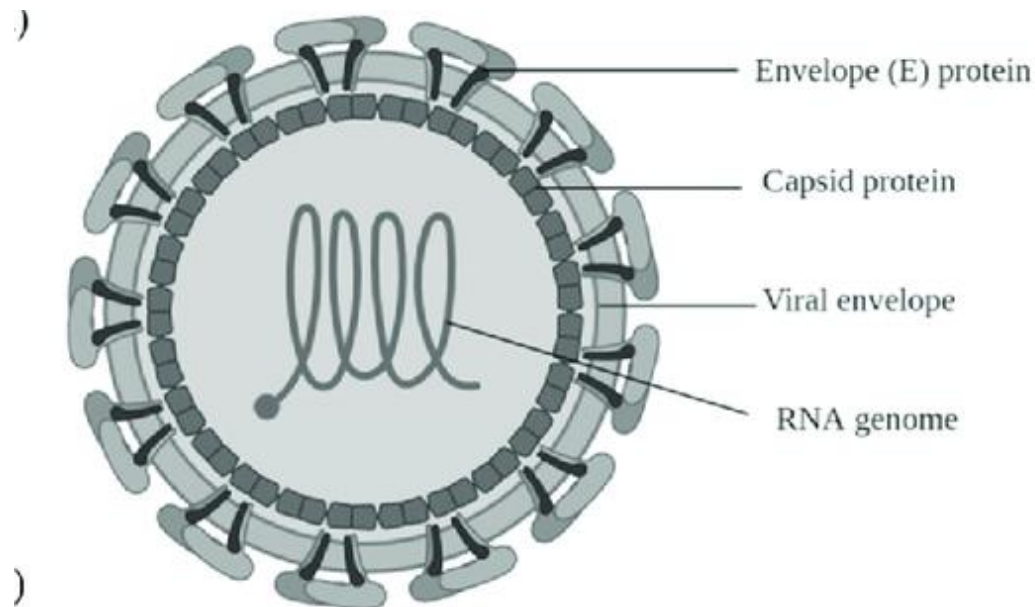


Семейство Flaviviridae (флавивирусы)

- Семейство *Flaviviridae* включает некоторые вирусы, ранее классифицированные как *Togaviridae*. Типичным представителем рода является вирус желтой лихорадки, относящийся к роду *Flavivirus* (с этим связано и название рода: латинское, *flavus* — «желтый»).
- Это семейство включает два рода, патогенных для человека: род *Flavivirus* включает возбудителей арбовирусных инфекций, а род *Hepacivirus* включает вирус гепатита С (HCV) и вирус гепатита G (HGV).

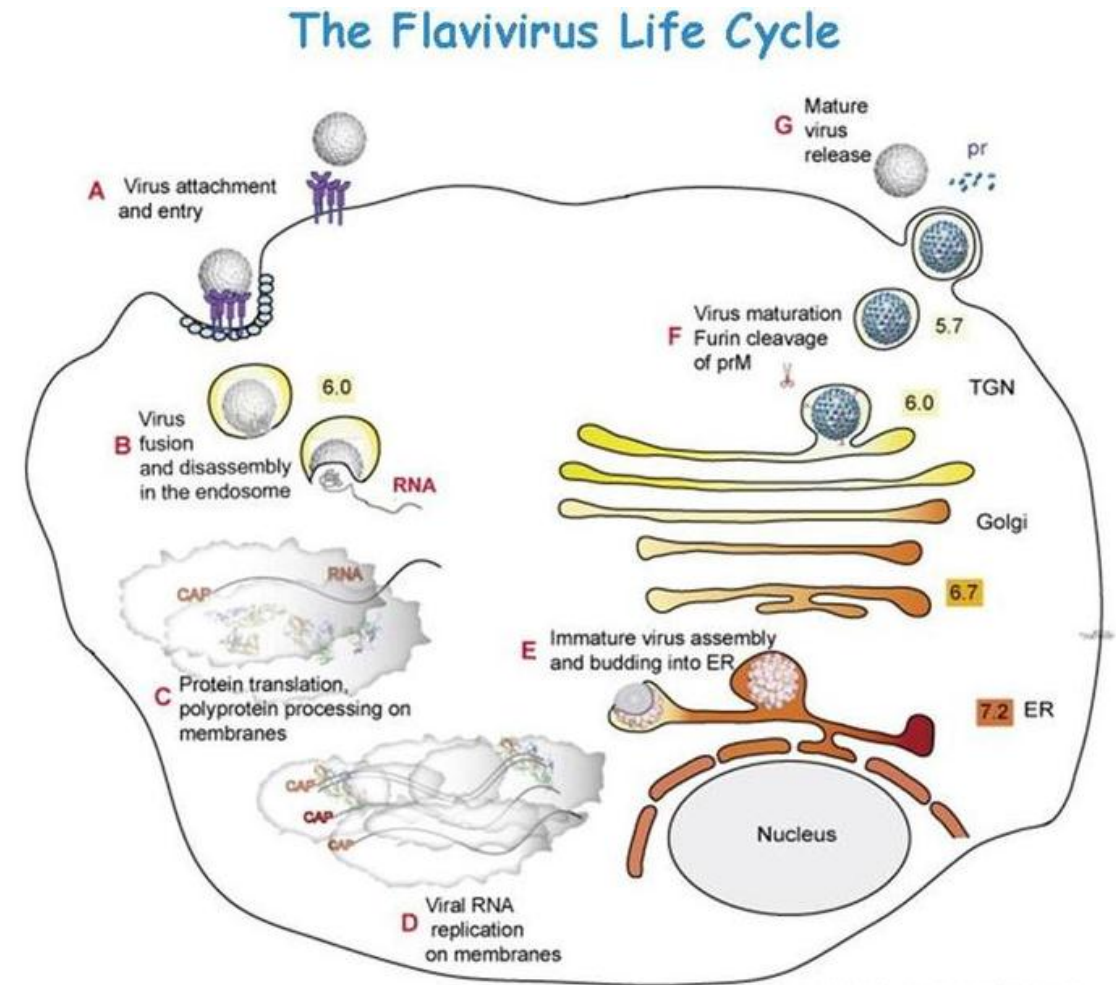
род Flavivirus

- Флавивирусы представляют собой небольшие (40-60 нм) сферические вирусы с наружной оболочкой. Их геном состоит из линейной одноцепочечной положительной РНК, окруженной капсидом кубической симметрии. Нуклеокапсид содержит белок V2 и окружен внешней мембраной.
- Наружная мембрана содержит два белка (гликопротеина) — белок V3 на поверхности и белок V1 на внутренней стороне.



Репродукция флавивирусов

- Вирусы проникают в клетку путем рецептор-опосредованного эндоцитоза. Затем мембрана вируса сливается со стенкой вакуоли.
- Репродукция флавивирусов происходит в цитоплазме клетки-хозяина. Созревание происходит путем отпочковывания от мембраны эндоплазматического ретикулума, а не от плазматической мембраны, и зрелые вирионы накапливаются во внутриклеточных вакуолях.

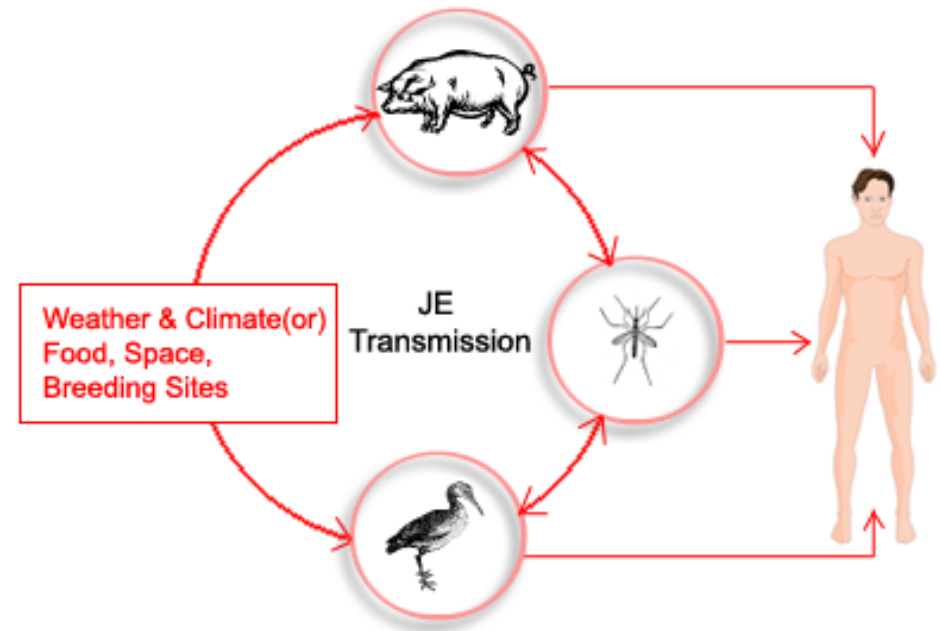


Культивирование флавивирусов

- Флавивирусы можно культивировать во многих первичных и перевиваемых культурах клеток человека и теплокровных животных, а также в культуре клеток членистоногих. Обладают слабым цитопатическим действием.
- Вирусы также культивируют путем инфицирования хорионаллантоисной оболочки и желточного мешка куриных эмбрионов.
- Универсальной моделью получения флавивирусов является внутримозговое заражение новорожденных мышей, вызывающее паралич у животных.

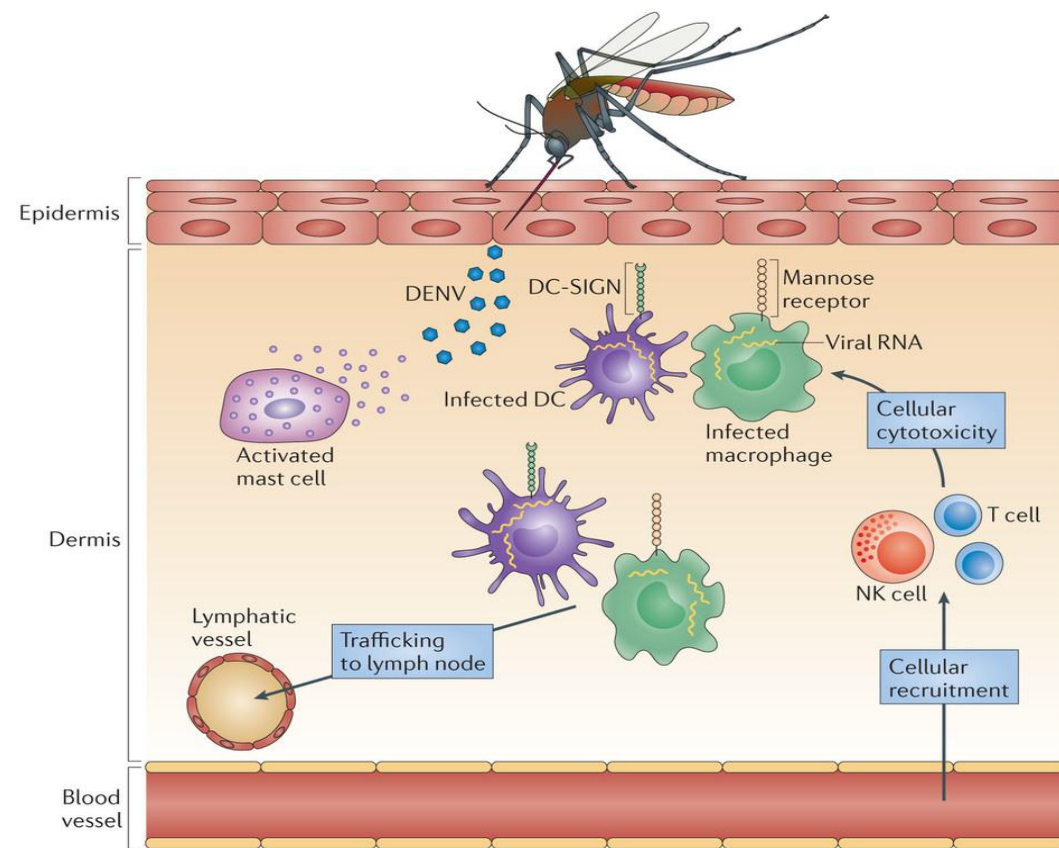
Источник инфекции и пути заражения

- Флавивирусы, как и другие арбовирусы, вызывают естественные вспышки. Источником инфекции являются грызуны, птицы, летучие мыши, приматы и др. Инфекция передается членистоногими (комарами и клещами) другим животным и человеку.
- Большинство флавивирусов передаются комарами (желтая лихорадка, лихорадка денге, японский энцефалит, вирус Западного Нила), а некоторые (клещевой энцефалит, омская геморрагическая лихорадка) - клещами.



Патогенез флавивирусных инфекций

- Вирусы, попадающие в организм в результате укусов кровососущих членистоногих, сначала размножаются в местных подкожных тканях и регионарных лимфатических узлах. Затем он переходит в кровь и распространяется по всему организму.
- В зависимости от особенностей возбудителя их дальнейшее размножение происходит в моноцитах и макрофагах, в эндотелии сосудов, легких, печени, мышцах и др.
- Попадая в центральную нервную систему, нейротропные вирусы вызывают дегенеративные изменения в клетках головного мозга, в результате чего возникает энцефалит.

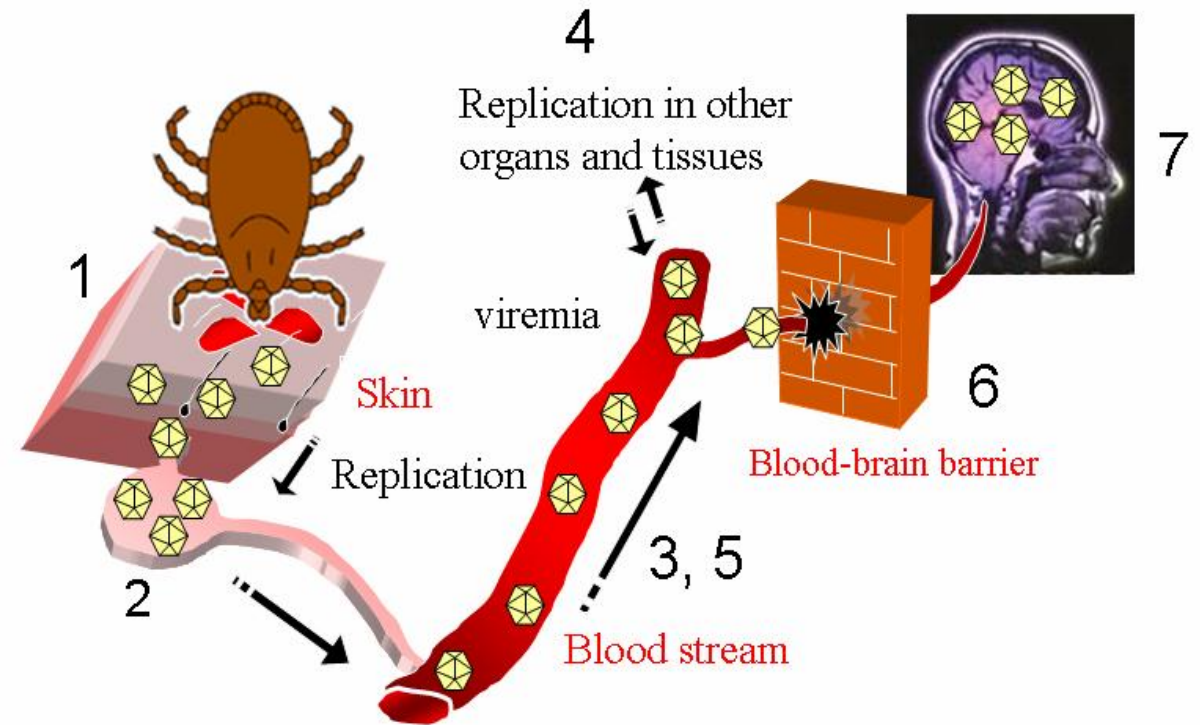


Клинические формы флавивирусных инфекций :

- *Желтая лихорадка* проявляется симптомами лихорадки, интоксикации, геморрагического синдрома, поражения печени и почек. Смерть может наступить в 20-50% случаев.
- Классическая форма *лихорадки денге* характеризуется лихорадкой, мышечными и суставными болями, особенно в коленном суставе, что вызывает изменение походки больного, пятнисто-папулезные высыпания, увеличение лимфатических узлов. Геморрагическая форма характеризуется кровоизлияниями и тенденцией к развитию шокового синдрома денге, который может закончиться летальным исходом примерно у половины больных.

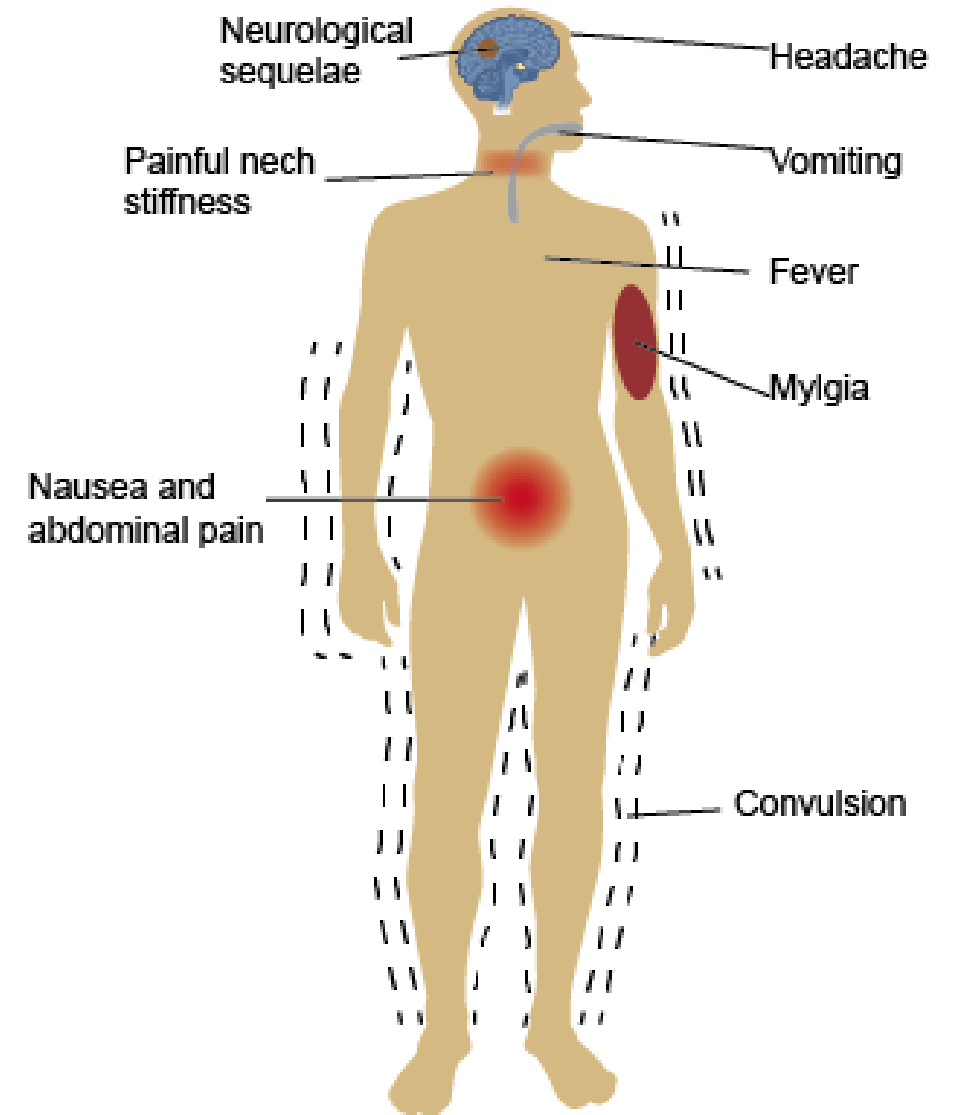
Клинические формы флавивирусных инфекций :

- **Клещевой энцефалит.** Различают лихорадочную, менингеальную и очаговую клинические формы. Последний имеет более тяжелое течение, сопровождающееся параличом мышц шеи и верхнего пояса. У большинства больных клещевым энцефалитом, сопровождающимся длительной вирусемией, отмечается стойкая цереброгенная астеня.



Клинические формы флавивирусных инфекций :

- **Японский энцефалит (комариный энцефалит)** может протекать от легких форм, сопровождающихся общетоксическим синдромом, до очень тяжелых форм, проявляющихся энцефалитом и менингоэнцефалитом. Летальность составляет около 30%. Неврологические и паралитические остаточные симптомы наблюдаются примерно у трети реконвалесцентов.



Клинические формы флавивирусных инфекций :

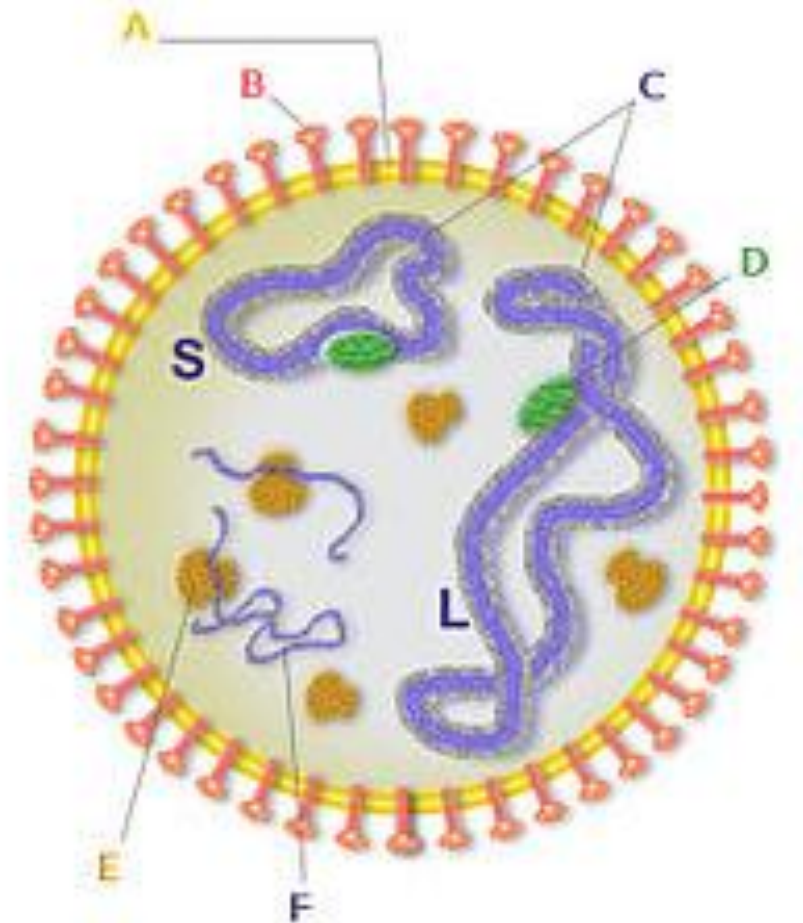
- *Лихорадка Западного Нила* имеет острое начало с высокой лихорадкой, головной болью, сыпью, похожей на скарлатину, и симптомами полиаденита. В большинстве случаев (80%) заболевание имеет бессимптомное течение, только в 20% случаев отмечается лихорадка и примерно в 1% случаев заболевание сопровождается признаками менингита, а также энцефалита, что *приводит к парезу, параличу и смерти*.
- *Омская геморрагическая лихорадка* — заболевание с природным очагом, преимущественно встречающееся в Западной Сибири (Россия). У человека заболевание в основном характеризуется поражением эндотелия кровеносных капилляров, поражением нервной системы и надпочечников. Заболевание начинается остро, наблюдаются лихорадка, интоксикация, геморрагический синдром и изменения со стороны нервной системы (симптомы менингоэнцефалита). Летальность не превышает 1%.

Микробиологическая диагностика флавивирусных инфекций

- **Микробиологическая диагностика флавивирусных инфекций** основана на приобретении вирусов-возбудителей, а также обнаружении антител в сыворотке крови.
- Получить вирус-возбудитель можно при внутримозговом заражении культур клеток, куриных эмбрионов и мышей кровью и спинномозговой жидкостью, взятыми в первые дни болезни.
- Индикация вирусов основана на гибели мышей и куриных эмбрионов, а в культурах клеток — на цитопатическом эффекте.
- Идентификацию проводят реакцией нейтрализации с использованием моноклональных антител, РСК и РТГА.
- ПЦР используется в диагностике некоторых заболеваний.

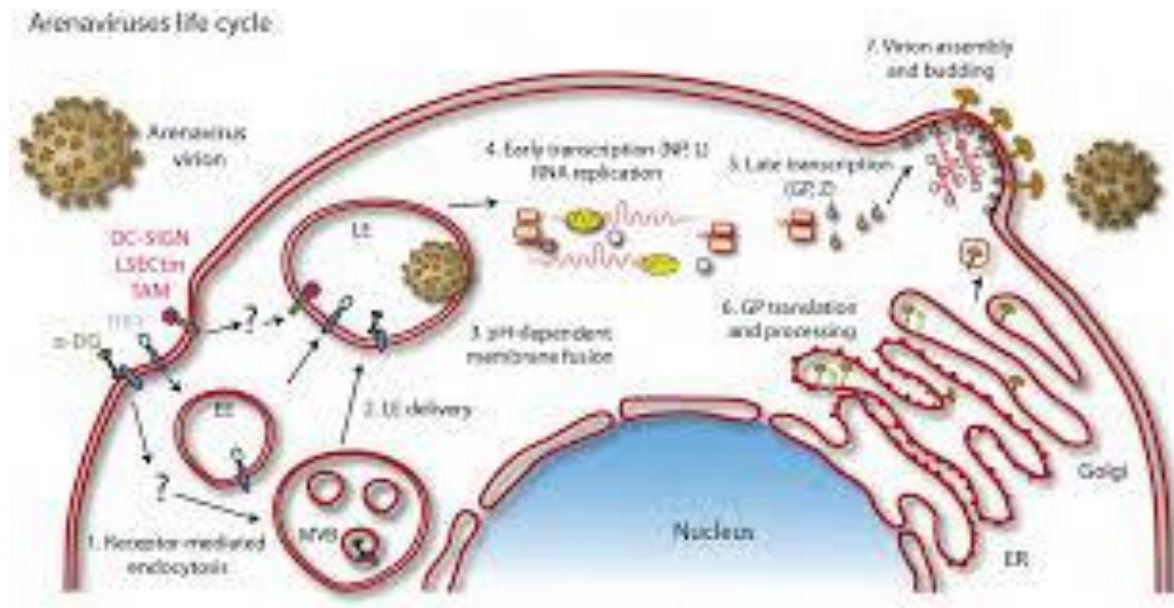
Семейство Arenoviridae (ареновирусы)

- **Структура.** Ареновирусы представляют собой оболочечные вирусы со сложной структурой. Вирион имеет плеоморфную, сферическую или овальную форму, а его размер составляет примерно 130 нм.
- На поверхности наружной мембраны имеются палочковидные выпячивания гликопротеинов G1 и G2 длиной 50-300 нм. Под мембраной находится 12-15 рибосом клеточного происхождения, которые в электронном микроскопе выглядят как песчинки (с этим связано и название главы: греч., арена - песок). Капсид спирально-симметричный.
- Геном состоит из двух - большой (L) и малой (S) молекулярных одноцепочечных минус-РНК.



Семейство Arenoviridae (ареновирусы)

- **Репродукция и культивация.** Адсорбированный поверхностными гликопротеинами, вирус проникает в клетку путем эндоцитоза.
- Репродукция Ареновирусов происходит в цитоплазме клетки-хозяина. После депротеинизации в результате процесса транскрипции и трансляции вирусной РНК образуется рибонуклеопротеин.
- При образовании вириона в него включаются и рибосомы клетки-хозяина, после чего вирион выходит путем отпочкования от плазматической мембраны клетки.

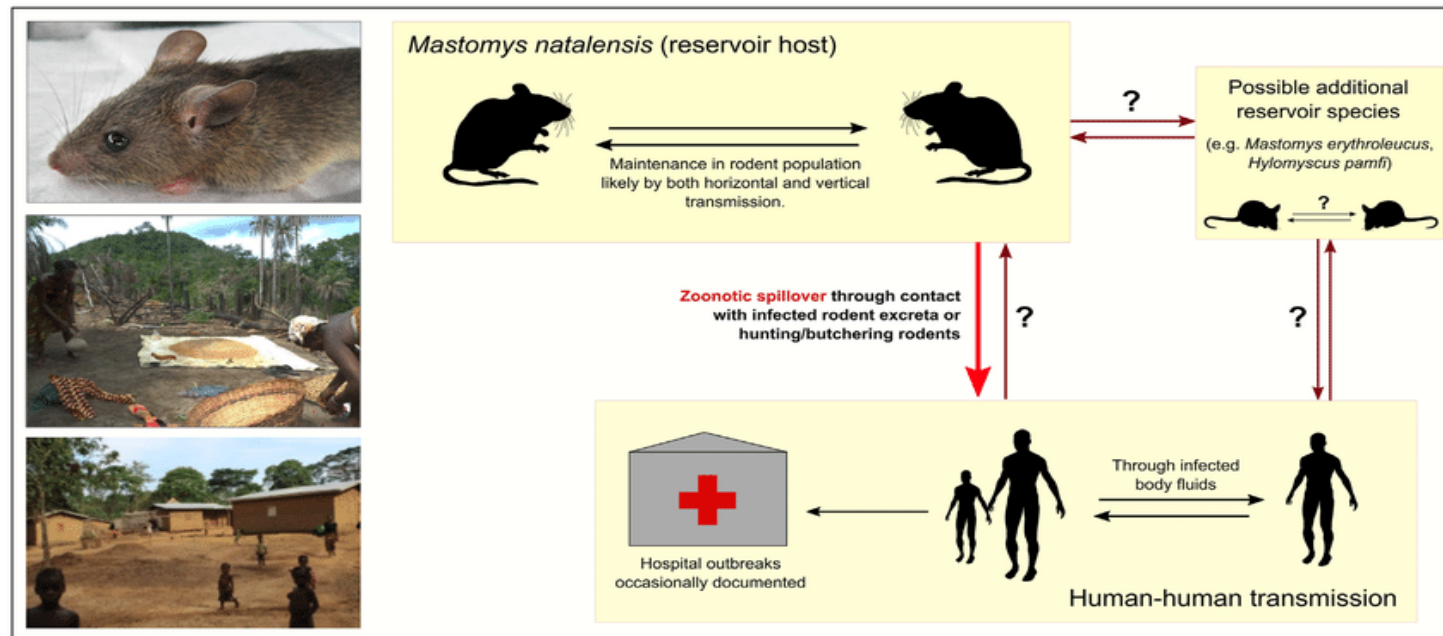


Патогенез ареновирусных инфекций

- Ареновирусы относятся к ретровирусам, источником инфекции являются различные грызуны, они загрязняют продукты питания, воду и почву, выделяя вирусы с мочой, фекалиями, слюной. Люди заражаются воздушно-капельным, алиментарным, а иногда и контактным путем.
- Вирусы обычно попадают в организм через слизистые оболочки дыхательных путей и кишечника. Вирусы, размножающиеся в регионарных лимфатических узлах, попадают в кровь и вызывают вирусемию.
- Повреждение клеток происходит на основе иммунных механизмов — в результате взаимодействия цитотоксических Т-лимфоцитов с инфицированными вирусом клетками. В результате отложения иммунных комплексов антиген-антитело на базальной мембране эндотелия сосудов развивается геморрагический синдром, обусловленный повышенной проницаемостью сосудов.

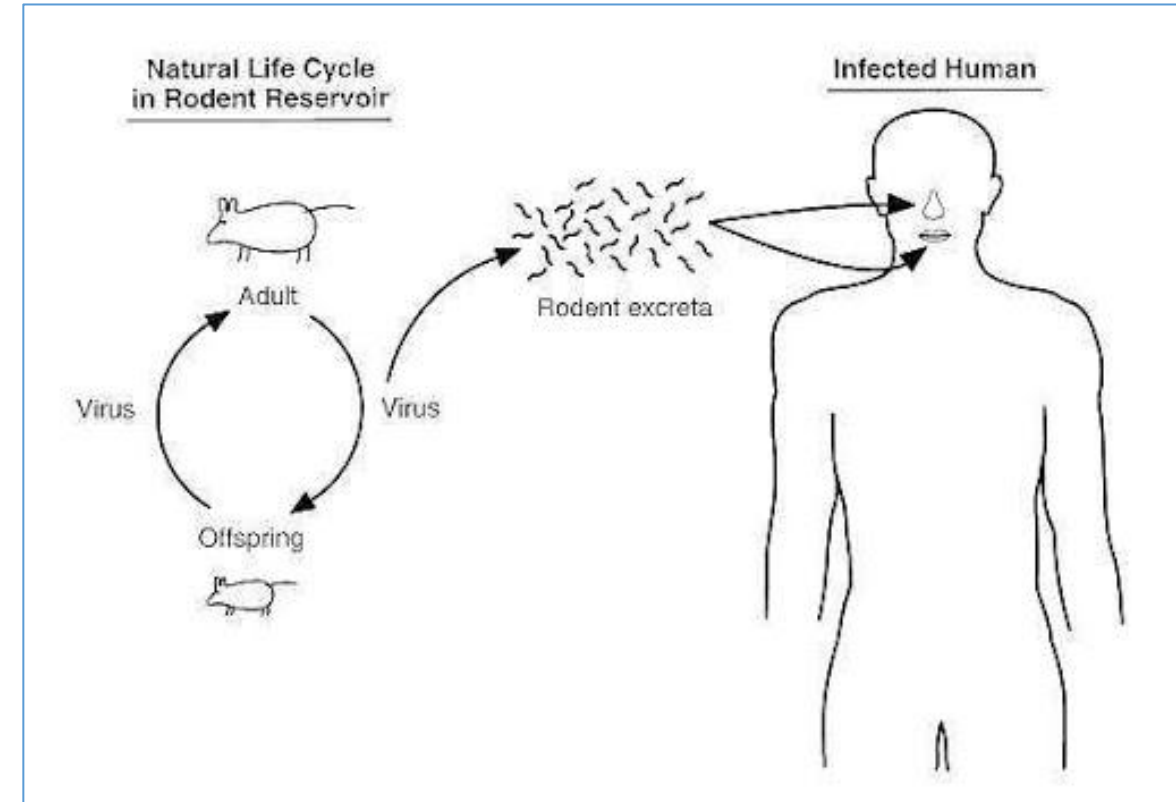
Клинические проявления ареновирусных инфекций:

- **Лихорадка Ласса** — зоонозное природное заболевание. Заболевание получило соответствующее название, потому что первая вспышка произошла в деревне Ласс, Нигерия, в 1969 году. Основным резервуаром и источником возбудителя являются домашние крысы. Болезнь может передаваться от человека к человеку.
- Заболевание начинается постепенно с озноба, лихорадки, рвоты, диареи, болей в животе и грудной клетке, кашля. Через неделю на коже наблюдаются геморрагические высыпания, отмечаются кровохарканье и кишечные кровотечения. Лихорадка Ласса может привести к гибели плода у 75% беременных женщин.



Клинические проявления ареновирусных инфекций:

- *Лимфоцитарный хориоменингит* — широко распространенная ретровирусная инфекция в Европе и Америке. Основным резервуаром и источником вируса являются домовые мыши, возбудитель выделяется с выделениями этих животных. Заражение людей происходит в основном через пыль, содержащую частицы вируса, - респираторным путем. Случаи передачи болезни от человека к человеку неизвестны
- Лимфоцитарный хориоменингит проявляется острым асептическим менингитом или легким гриппоподобным заболеванием системного характера (лихорадка, головная боль, боли в горле и мышцах). Иногда бывают бессимптомные инфекции, реже энцефаломиелиты. Смертность составляет менее 1%.

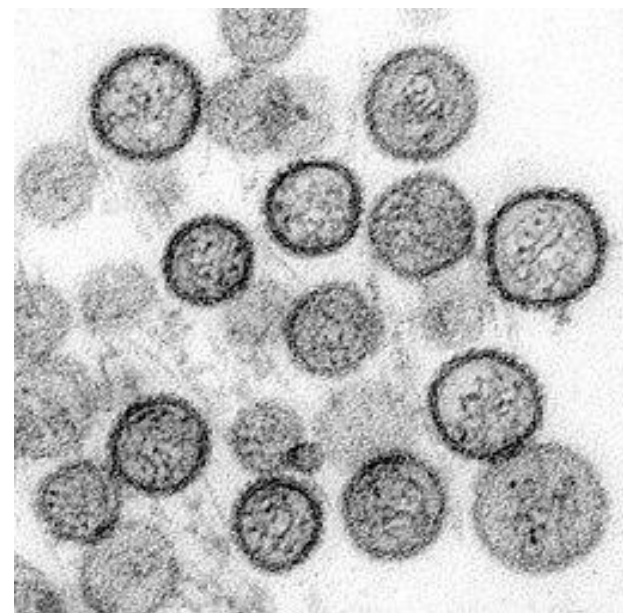


Микробиологическая диагностика ареновирусных инфекций

- В диагностике ареновирусных инфекций применяют вирусологические, серологические и молекулярно-генетические методы.
- Вирус можно получить путем заражения культур клеток или мышей млекопитающих соответствующим материалом, взятым у больного.
- ПЦР также может применяться для обнаружения вирусов.
- Серологический метод в основном основан на обнаружении противовирусных антител IgM и IgG методом ИФА.

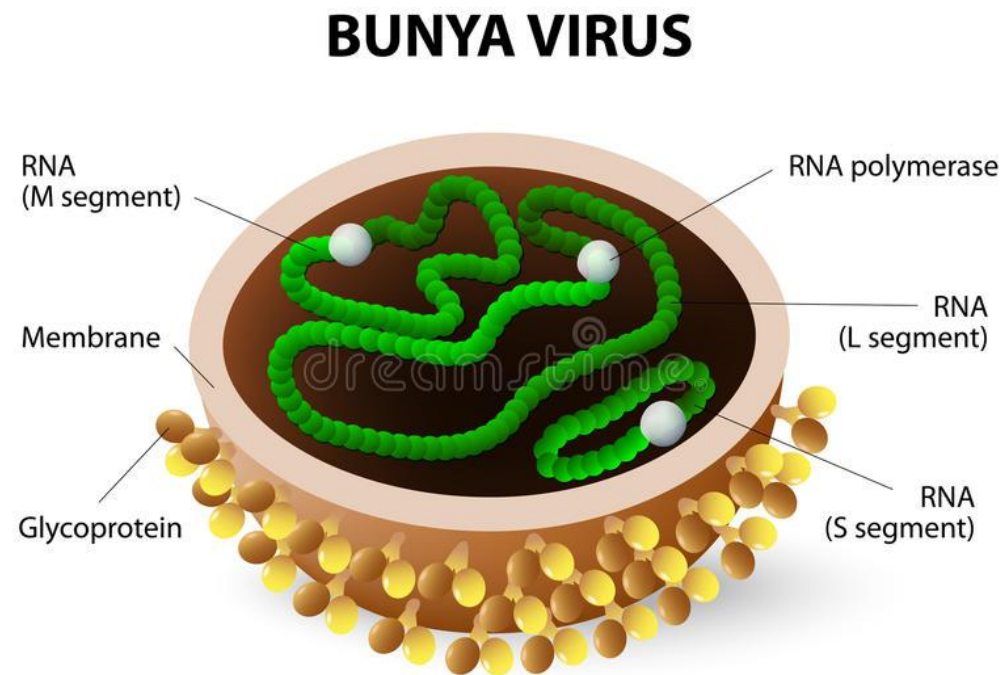
Семейство Bunyaviridae (буньявирусы)

- Первый представитель вирусов из семейства *Bunyaviridae* — вирус Bunyamver — был впервые обнаружен в месте под названием Bunyamver в Уганде (Африка).
- Глава включает более 300 серотипов арбовирусов - Orthobunyavirus, Phlebovirus, Nairovirus, Hantavirus, Tospovirus .



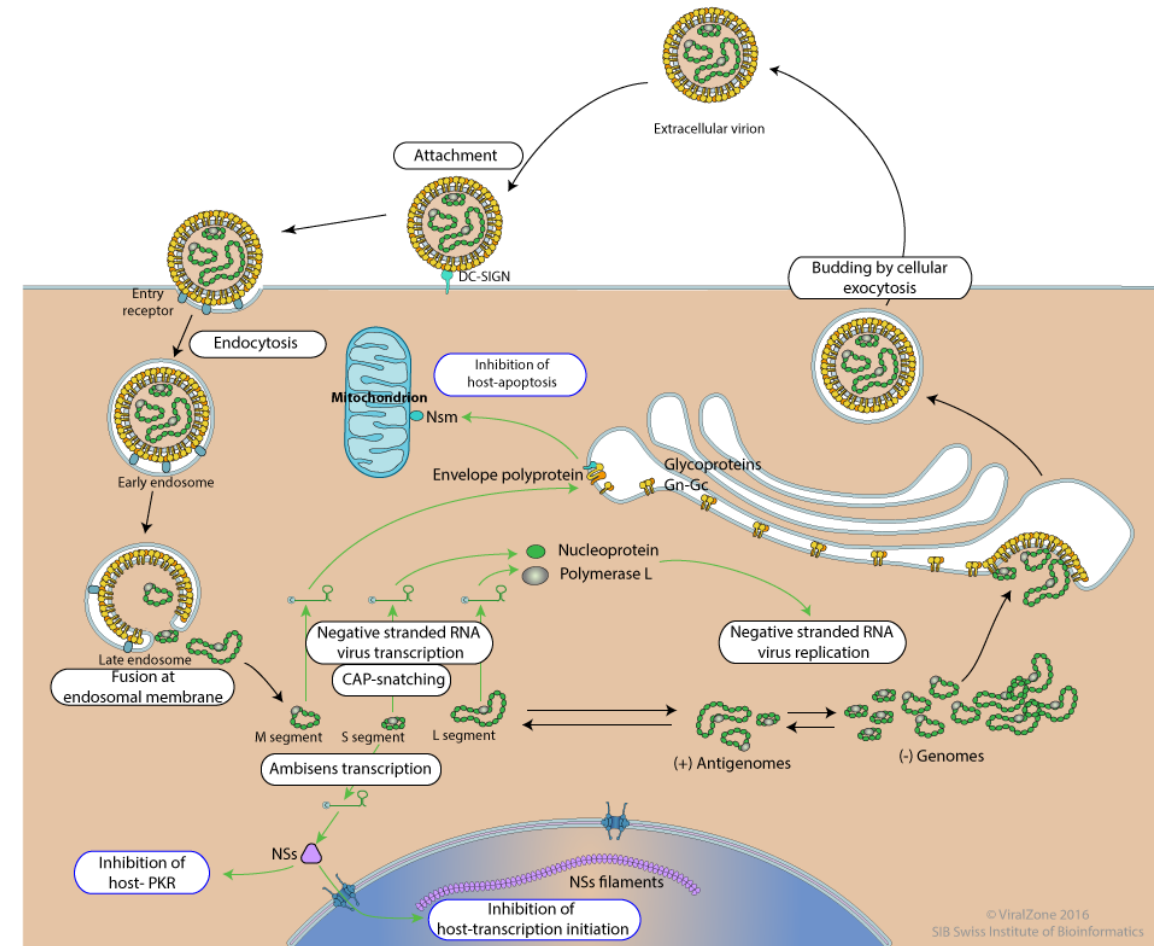
Буньявирусы

- Вирионы сферические, размером 80-120 нм, имеют наружную мембрану.
- Центральная часть состоит из трех (L, M и S) нуклеокапсидов разного размера со спиральной симметрией.
- Ядерная часть окружена липопротеиновой оболочкой, на поверхности которой имеются два типа гликопротеиновых выпячиваний — G1 и G2.



Буньявирусы

- **Репродукция.** Происходит в цитоплазме клетки. Здесь вирус-специфический фермент РНК-зависимая РНК-полимераза синтезирует информационную РНК на вирусной РНК, которая кодирует вирусные белки.
- Вирусы созревают, отпочковываясь в области комплекса Гольджи и транспортированием его к клеточной мембране.
- Вирионы удаляются экзоцитозом, а иногда и лизисом клеток.



Буньявирусы

- **Культивация.** Для культивирования вирусов используют куриные эмбрионы, ткань почек эмбрионов человека, фибробласты куриных эмбрионов, а также культуры тканей переносчиков болезней (комаров и комаров). Они обладают сильным цитопатическим действием в культурах клеток.
- Белые мыши, крысы и песчанки восприимчивы к буньявирусам при внутримозговой инфекции. Внутримозговое заражение новорожденных белых мышей приводит к фатальному энцефалиту.

Источник инфекции и пути заражения:

- Буньявирусы вызывают естественные вспышки. Подавляющее большинство из них заражаются кровососущими членистоногими насекомыми (главным образом комарами, иногда мошками и клещами) и, таким образом, относятся к арбовирусам. Позвоночными хозяевами этих вирусов являются грызуны, птицы, травоядные и приматы.
- Заражение человека передается в основном через укусы кровососущих насекомых.
- Вирусы из рода Hantavirus относятся к рбовирусам, являясь исключительными представителями этого семейства по путям заражения.

Патогенез и клинические формы буньявирусных инфекций:

- Большинство буньявирусных инфекций сопровождаются лихорадкой, некоторые вызывают энцефалит (калифорнийский энцефалит) и геморрагические лихорадки (Лихорадка Крым-конго и почечная геморрагическая лихорадка). Инфекции часто протекают бессимптомно, имеют скрытое течение и выявляются только в результате серологических исследований.

Патогенез и клинические формы буньявирусных инфекций:

- *Калифорнийский энцефалит.* Появляются высокая температура, головные боли, иногда сонливость, менингеальные симптомы – рвота, судороги. В отдельных случаях возможны асептический менингит и энцефалит.
- *Комариная лихорадка (флеботомная лихорадка)* В природе резервуаром и переносчиками вирусов являются комары *Phlebotomus papatasi*. Механизм заражения трансмиссивный. Комариная лихорадка сопровождается головными болями, ригидностью мышц шеи, светобоязнью, болями в области глазных яблок и живота, лейкопенией. Характерна треугольная инъеция сосудов в наружном углу склеры (симптом Пика), вершина этого треугольника обращена к зрачку. Заболевание обычно заканчивается полным выздоровлением.

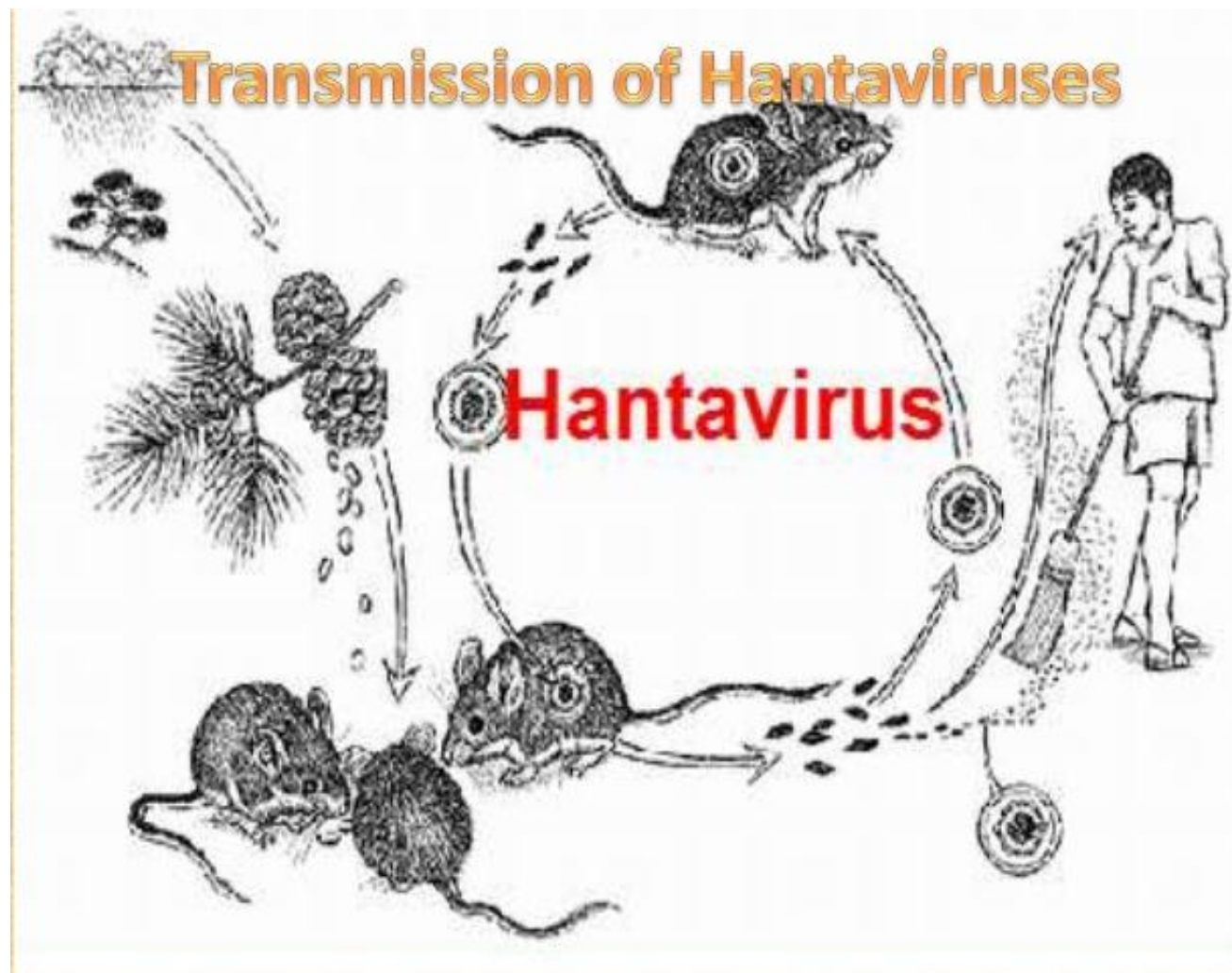
Патогенез и клинические формы буньявирусных инфекций:

- *Лихорадка Рифт-Валли* в основном встречается в Африке. В природе резервуаром и источником вируса являются в основном комары *Culex* и *Aedes*, а также домашние животные, у которых эти насекомые сосут кровь. Заболевание начинается с лихорадки, возможны такие осложнения, как ретинит, энцефалит и геморрагическая лихорадка. Ретинит приводит к полной слепоте в 1-10% случаев. Смерть наступает примерно в 1% случаев.
- *геморрагическая лихорадка Крым-Конго* встречается на территории России (Краснодар, Астрахань, Ростов, Дагестан) и некоторых стран Африки. Вирус впервые был получен из крови и укусов клещей больных в Крыму. Вирус, полученный при аналогичном заболевании в Конго (Африка), по своим биологическим свойствам идентичен вирусу крымской геморрагической лихорадки, поэтому возбудитель заболевания получил название вирус геморрагической лихорадки Крым-конго. Основным резервуаром вируса в природе и источником инфекции являются клещи. Поскольку вирус вазотропен, развивается генерализованный капилляротоксикоз. Различают типичную геморрагическую и редкую негеморрагическую формы заболевания.

Хантавирусные инфекции

- Его вызывают вирусы, принадлежащие к роду Hantavirus семейства Bunyaviridae. Вирус Хантаан, типичный представитель этого рода, был получен в 1978 г. из легочной ткани и экскрементов грызунов в Корее и назван в честь реки Хантаан на Корейском полуострове.
- Хантавирусные инфекции связаны с робовирусными инфекциями. Источником инфекции в основном являются мышевидные грызуны. Они выделяют вирус с фекалиями, мочой и слюной. Заражение происходит в основном в результате вдыхания пыли, загрязненной биологическими выделениями грызунов, иногда при употреблении пищевых продуктов, загрязненных выделениями грызунов, возможно заражение контактным путем.
- Эти вирусы являются возбудителями синдрома хантавирусной пневмонии и геморрагической лихорадки с почечным синдромом.

Пути передачи хантавирусных инфекций



Хантавирусные инфекции

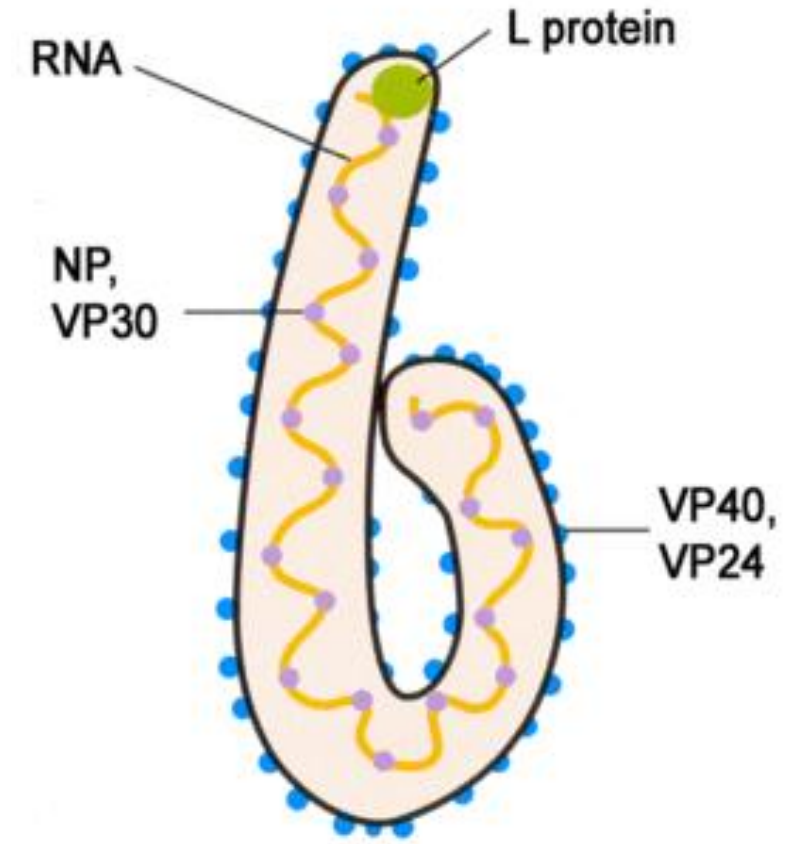
- **Синдром хантавирусной пневмонии.** Попавшие в организм вирусы вызывают деструктивные изменения эндотелия мелких сосудов, нарушение микроциркуляции. Заболевание начинается с лихорадки, головных болей и миалгий и быстро заканчивается развитием отека легких. Смерть может наступить в 30% и более случаев.
- ***Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом.*** Попавшие в организм вирусы вызывают деструктивные изменения эндотелия мелких сосудов, нарушение микроциркуляции. Заболевание начинается остро с подъема температуры, сопровождается интерстициальным нефритом, в тяжелых случаях вызывает почечную недостаточность. Летальность составляет до 1-10%.

Микробиологическая диагностика буньявирусных инфекций

- Лабораторная диагностика буньявирусных инфекций основана на выделении вируса и обнаружении антител в парных сыворотках крови.
- Кровь для исследования берут в остром периоде заболевания.
- Буньявирусы в основном получают путем внутримозгового заражения новорожденных белых мышей. Индикация вирусов основана на симптомах болезни и гибели животных.
- На это указывает также инфицирование клеточных культур и ИФР в них, так как для буньявирусов не характерен значительный цитопатический эффект.
- Идентификацию вирусов проводят методами РН, РСК, РТГА, ИФР и ИФА.
- Среди методов молекулярно-генетической диагностики и идентификации применяют молекулярную гибридизацию нуклеиновых кислот и ПЦР.

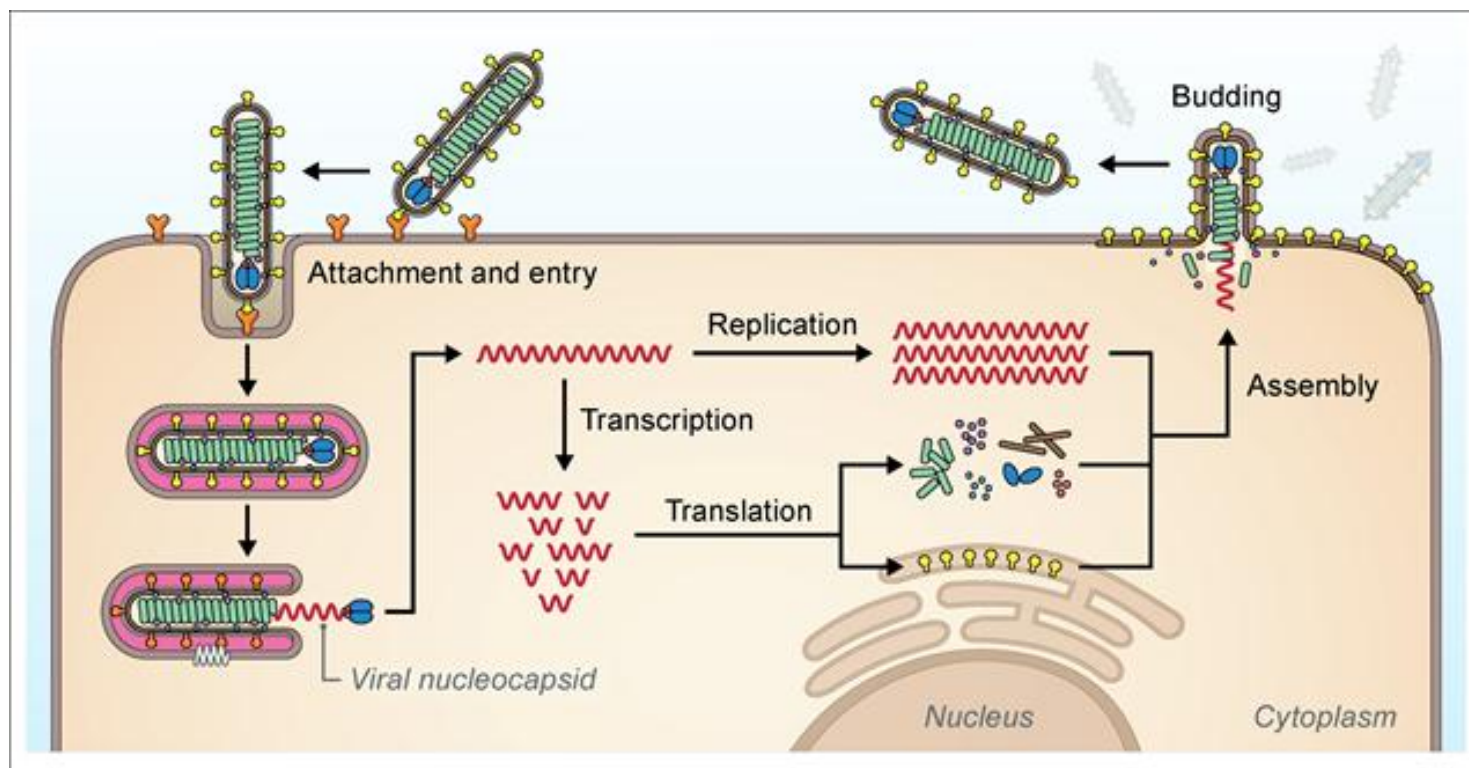
Семейство Filoviridae (филовирусы)

- Филовирусы — РНК-содержащие нитевидные (лат. *filum* — нить) вирусы. Вироны имеют форму длинных нитей (665-805 нм) с двухслойной липидной наружной мембраной.
- На поверхности мембраны имеются выпячивания гликопротеина (ГП).
- Нуклеокапсид спирально-симметричный.



Репродукция и культивирование филовирусов

- Репродукция филовирусов и образование вирионов происходят в цитоплазме клетки-хозяина, высвобождаются из клетки путем почкования.
- Вирусы культивируют в культурах клеток, таких как Vero-культура клеток почек зеленой мартышки.



Вирус культивируют на культурах клеток человека Vero, MA 104 (клетки меланомы) и SW 13

Репликация вирусов также происходит в эндотелиальных клетках крови(моноциты и макрофаги)

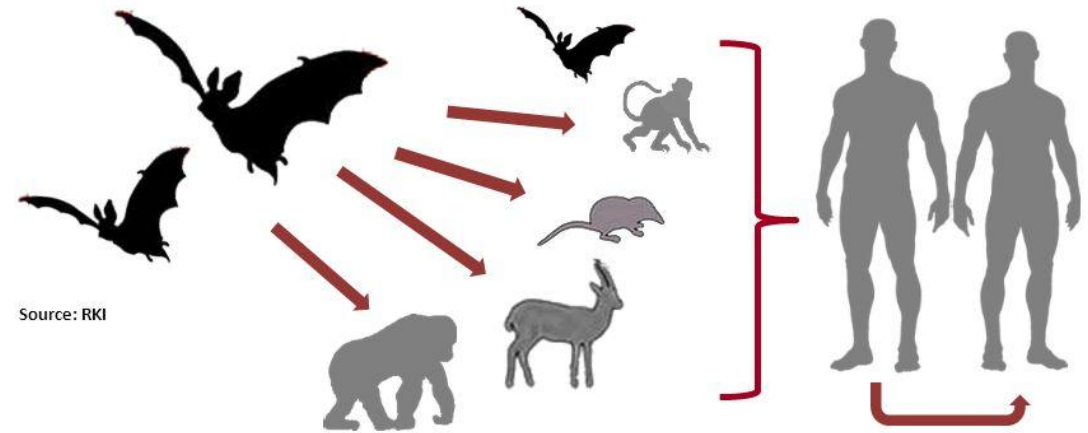
Клетки мишени - содержащие специфические лектины моноциты, гепатоциты, дендритные клетки, клетки эндотелия



Классификация филовирусов

- Семейство *Filoviridae* включает два рода, Marburgvirus и Ebolavirus, которые различаются по своим антигенным характеристикам. Эти вирусы вызывают африканские геморрагические лихорадки — геморрагические лихорадки Марбург и Эбола соответственно.

The Ebola virus in humans and animals



1. Reservoir of the virus: likely fruit bats

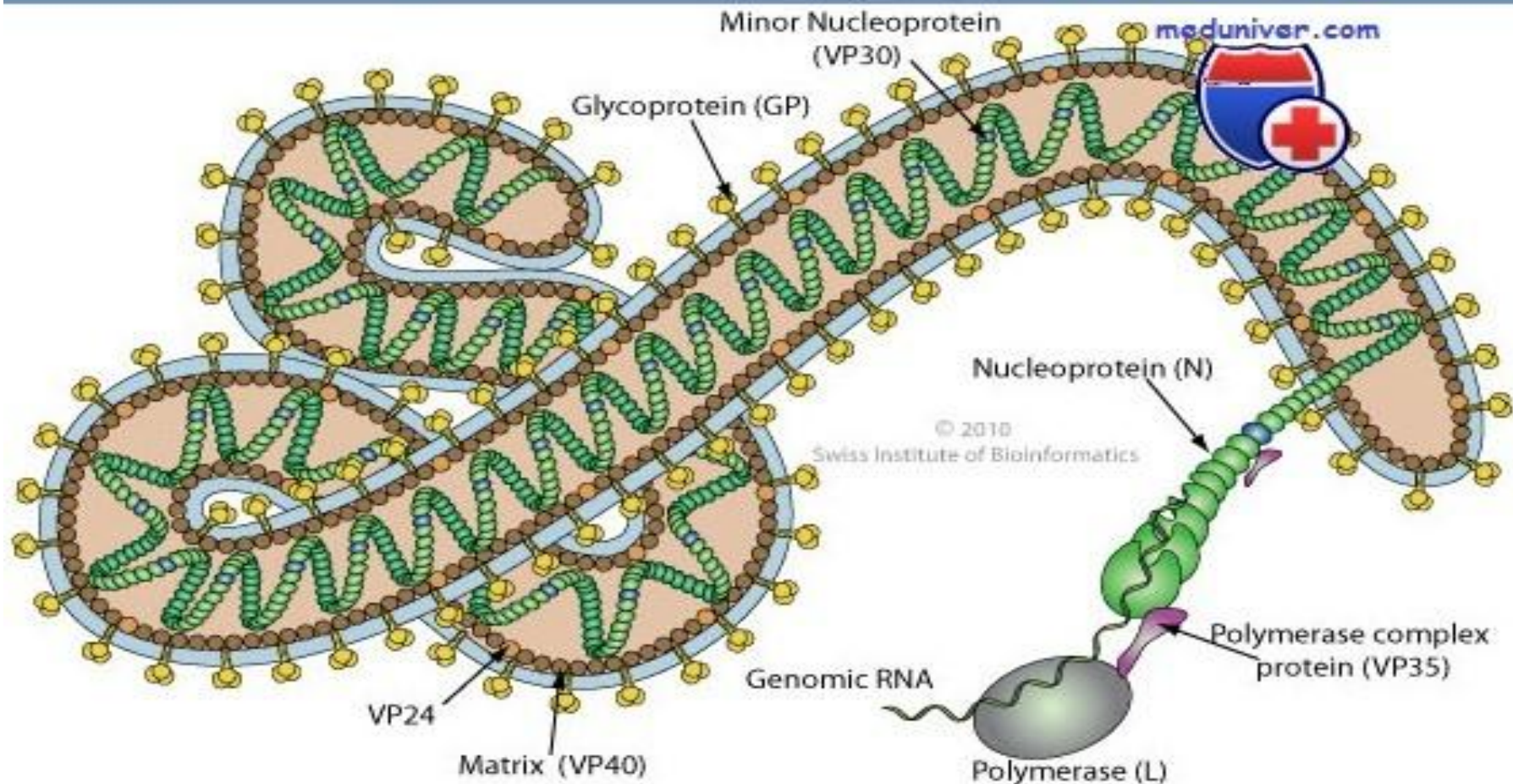
2. Epizootic in primates and other mammals

3. Human primary infection

4. Secondary transmission by direct contact

Филовирусы включают два рода *Marburgvirus* и *Ebolavirus*

Вирион вируса лихорадки Марбург



Вирус Марбург

- *Вирус Марбург* вызывает марбургскую геморрагическую лихорадку с геморрагическим синдромом и высокой летальностью. Заболевание было зарегистрировано в 1967 г. в городе Марбурге, Германия, среди лаборантов, проводивших исследования с тканями зеленых мартышек, привезенных из Африки.
- Естественный резервуар вируса неизвестен, но считается, что это грызуны или летучие мыши. Человек и обезьяны становятся источником инфекции после случайного заражения этой болезнью. Вирусы обнаруживаются в крови и других биологических жидкостях, передаются при контакте с кровью человека и обезьян, а также воздушно-капельным путем.
- Заболевание проявляется высокой температурой, головной болью и болью в горле, мышечными болями, рвотой, диареей, сыпью, наружными и внутренними кровотечениями и быстро приводит к шоку и смерти. Лихорадка Марбург имеет самую высокую смертность (25-90%) среди всех геморрагических вирусных лихорадок.



Вирус Эбола

- *Вирус Эбола* вызывает геморрагическую лихорадку Эбола, которая клинически похожа на геморрагическую лихорадку Марбург. Болезнь была впервые зарегистрирована в 1976 году в районе Эболы Заира и в Судане (Африка).
- Естественный резервуар вируса неизвестен, но считается, что это грызуны или летучие мыши. Источником заражения являются люди. Заражение происходит при контакте с кровью и биологическими выделениями больных. Заболевание сопровождается высокой лихорадкой, геморрагическим синдромом (наружные и внутренние кровотечения) и нередко заканчивается летальным исходом.



Микробиологическая диагностика

- Определить антитела в сыворотке крови больных можно с помощью ИФА.
- Возбудителя можно определить ПЦР в крови и других биологических жидкостях больных.
- Из-за высокой вирулентности возбудителей редко применяют вирусологические исследования.

СИМПТОМЫ

- Первая стадия
- Вторая стадия
- На любой стадии



СИМПТОМЫ ЭБОЛЫ

● ПЕРВЫЕ СИМПТОМЫ

● ВТОРЫЕ ПРИЗНАКИ
ЗАРАЖЕНИЯ

 жар, сильная
головная боль

 глаза, десны
могут
кровоточить

 сухость
и першение,
кашель

 рвота, иногда
с кровью

 боль
в мышцах

 сыпь

 диарея, иногда
с кровью

**Протекает с лихорадкой,
ознобом, головной болью,
болями в грудной клетке, в
области живота, миалгией,
рвотой, диареей,
анорексией.**

**Развивается
геморрагический синдром
(кореподобная сыпь).**



**Разработанная
вакцина применяется
ТОЛЬКО ДЛЯ
вакцинации
медицинского
персонала, и
сотрудников научных
лабораторий**



**Лечение
симптоматическое
Летальность достигает до
90%**

Патогенные для человека рабдовирусы

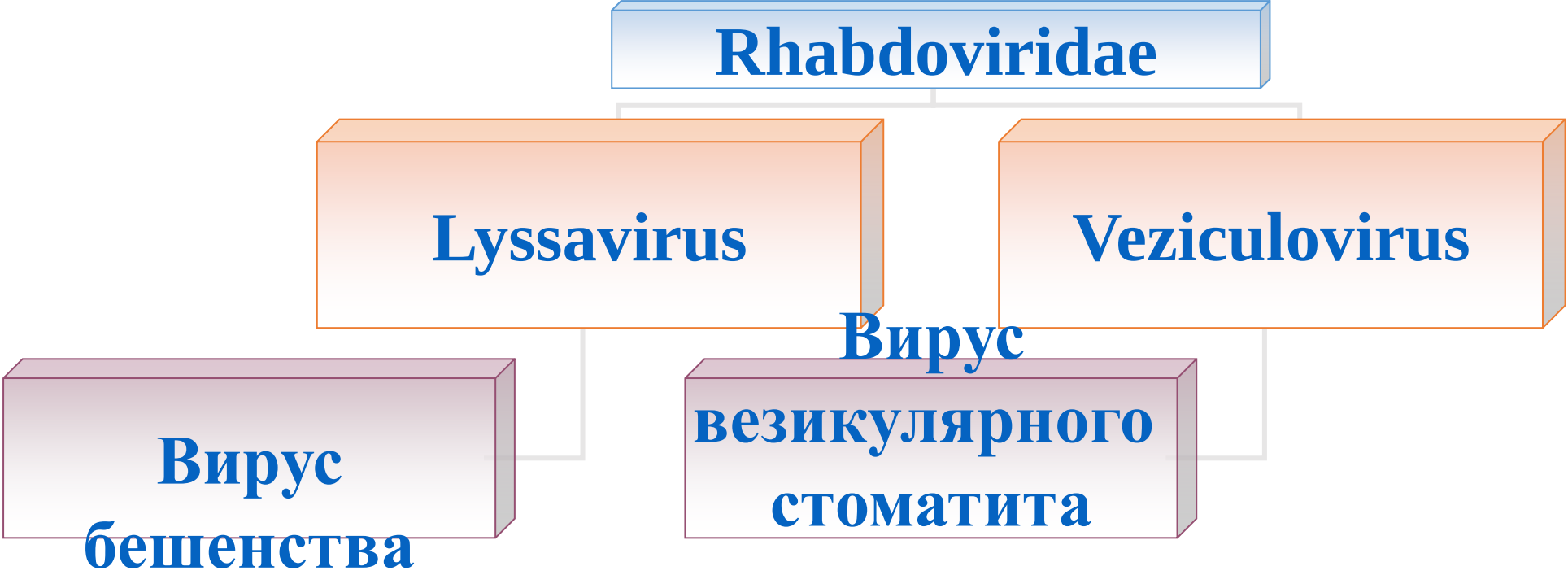


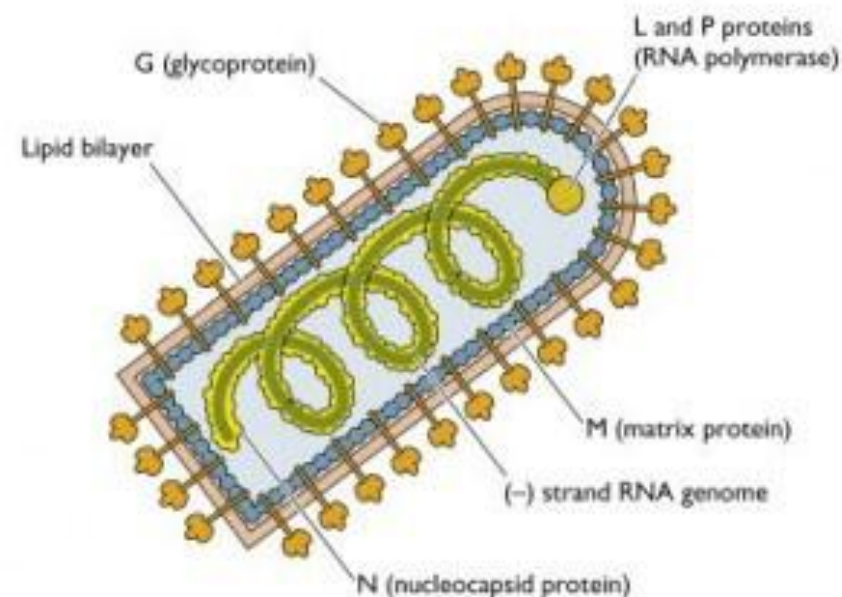
Таблица 4.15. Характеристика рабдовирусов (семейство Rhabdoviridae)		
Род	Представители	Свойства вирусов
Lyssavirus	Вирус бешенства	Вирусы имеют пулевидную форму (130–300 нм), оболочку, однонитчатую линейную минус-РНК. Симметрия капсида: спиральная. Содержат транскриптазу. Репродукция — в цитоплазме. Сборка — почкование через внутрицитоплазматическую и плазматическую мембраны
Vesiculovirus	Вирус везикулярного стоматита	

Семейство *Rhabdoviridae*

Вирионы имеют размеры 75x180 нм, палочковидные, или пулевидные (с этим связано и название рода, от греч. *rhabdos* — палочка, булава). Наружная мембрана имеет липопротеиновую природу и имеет на своей поверхности выступы длиной 10 нм (G-гликопротеин).

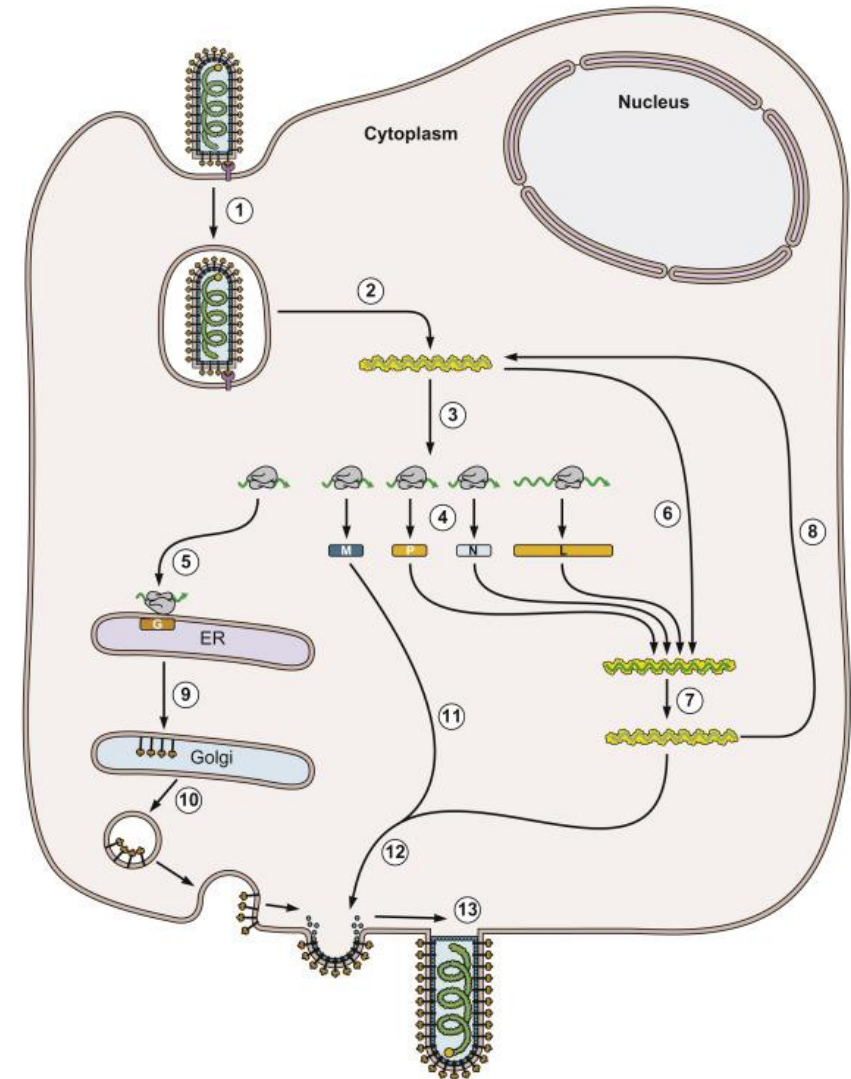
Наружная мембрана окружает спирально-симметричный рибонуклеокапсид. Рибонуклеокапсид состоит из РНК-генома и нескольких белков: N-белок (по-английски нуклеокапсид) покрывает геном-РНК в качестве оболочки; L-протеин (в переводе с английского — большой) и NS-белок — полимеразные белки вируса.

Геном состоит из одноцепочечной линейной отрицательной РНК.



семейство *Rhabdoviridae*

- **Репродукция.** Рабдовирусы прикрепляются к рецепторам клетки-хозяина при помощи гликопротеинов и проникают в клетку путем эндоцитоза.
- Высвободившийся из мембраны рибонуклеокапсид перемещается в цитоплазму клетки. Нуклеокапсид образуется в результате взаимодействия вирусной геномной РНК с вирусными белками.
- Вирион высвобождается путем почкования из участка, где белок матрикса (М) связывается с внутренней поверхностью мембраны клетки-хозяина.



Вирус бешенства

- Вирус бешенства является типичным представителем рабдовирусов. Он имеет два антигенно идентичных типа.
- Дикий (уличный) вирус - вызывает заболевание бешенством, циркулирует среди животных в естественных условиях и является патогенным для человека.
- Фиксированный вирус (вирус-fixe) - получен Л. Пастером в результате многократного пассажа дикого вируса в мозг кроликов. Этот вирус, утративший патогенность для человека, не образует внутриклеточных придатков и не выделяется со слюной. Он используется в качестве вакцины против бешенства.

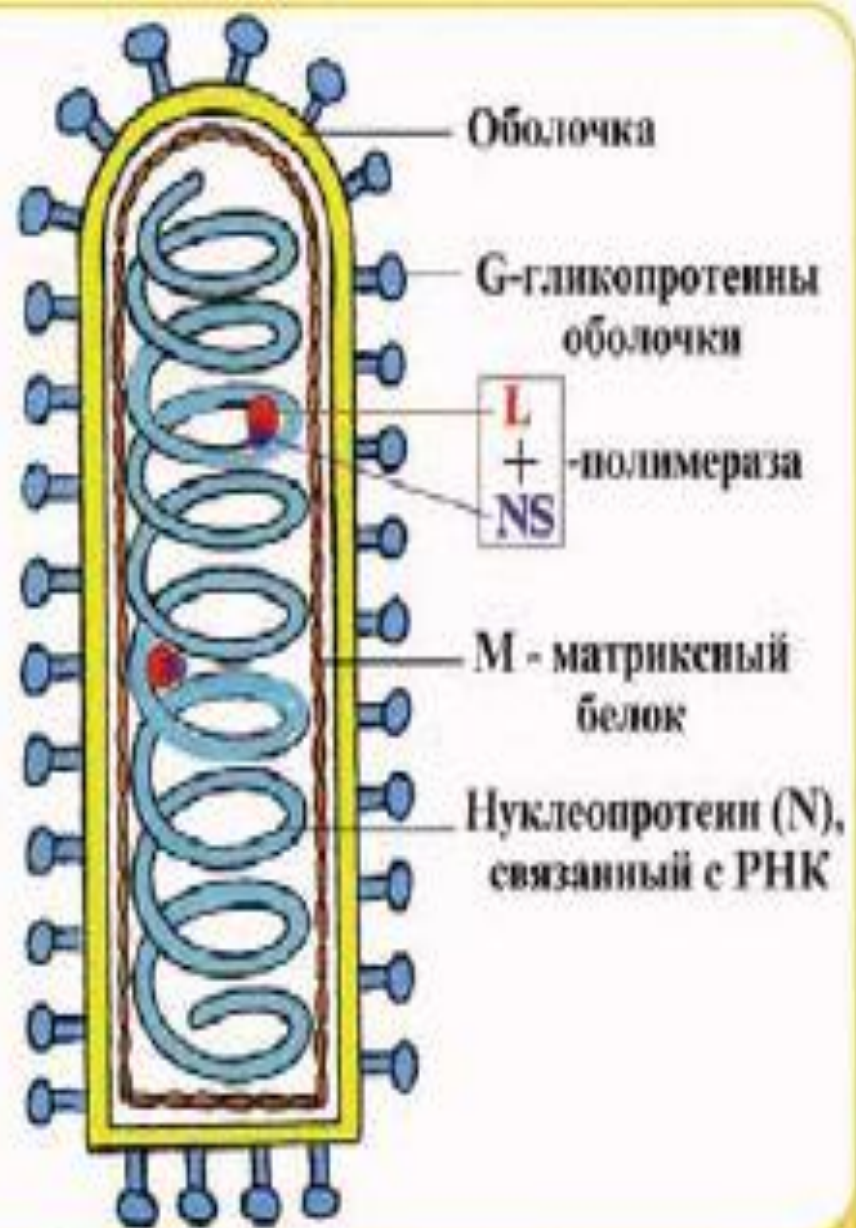
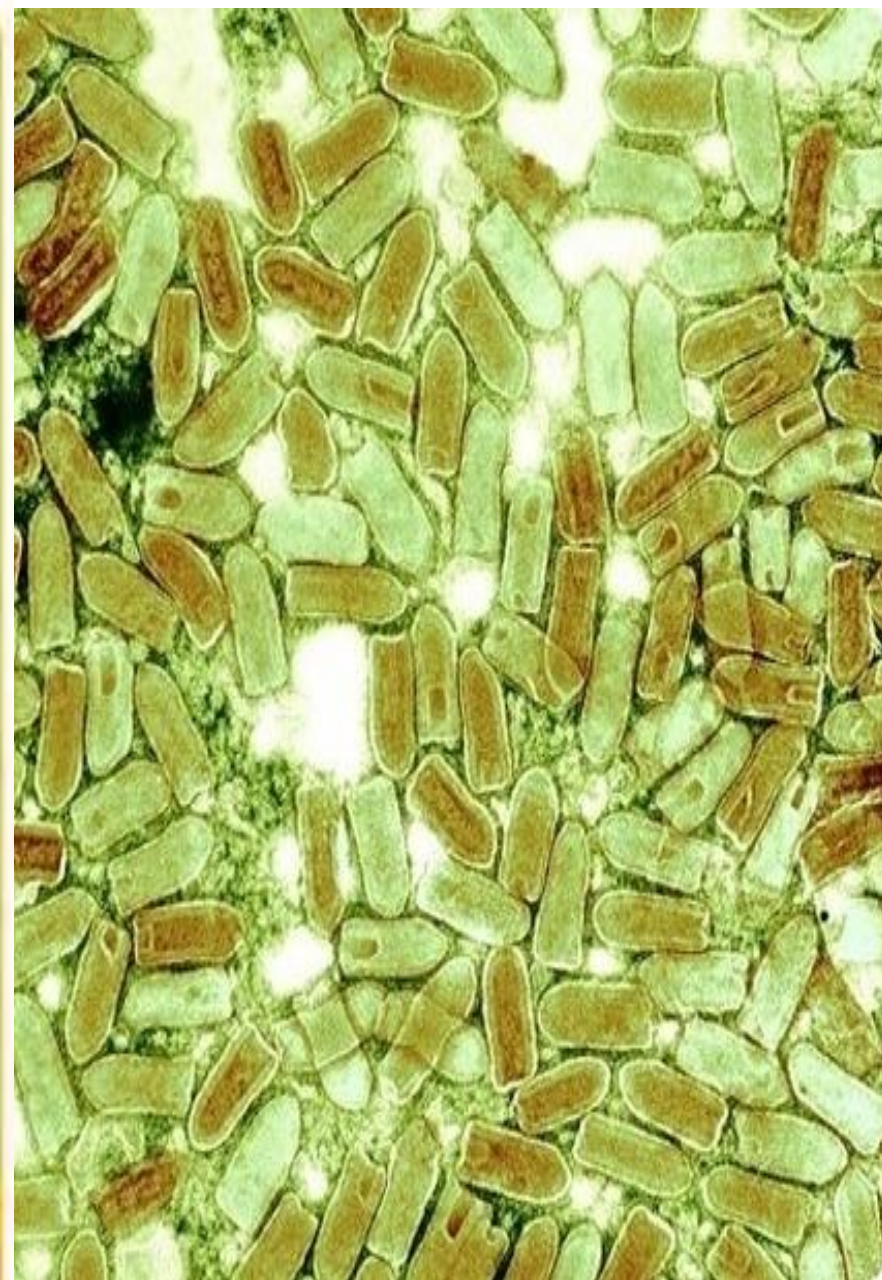
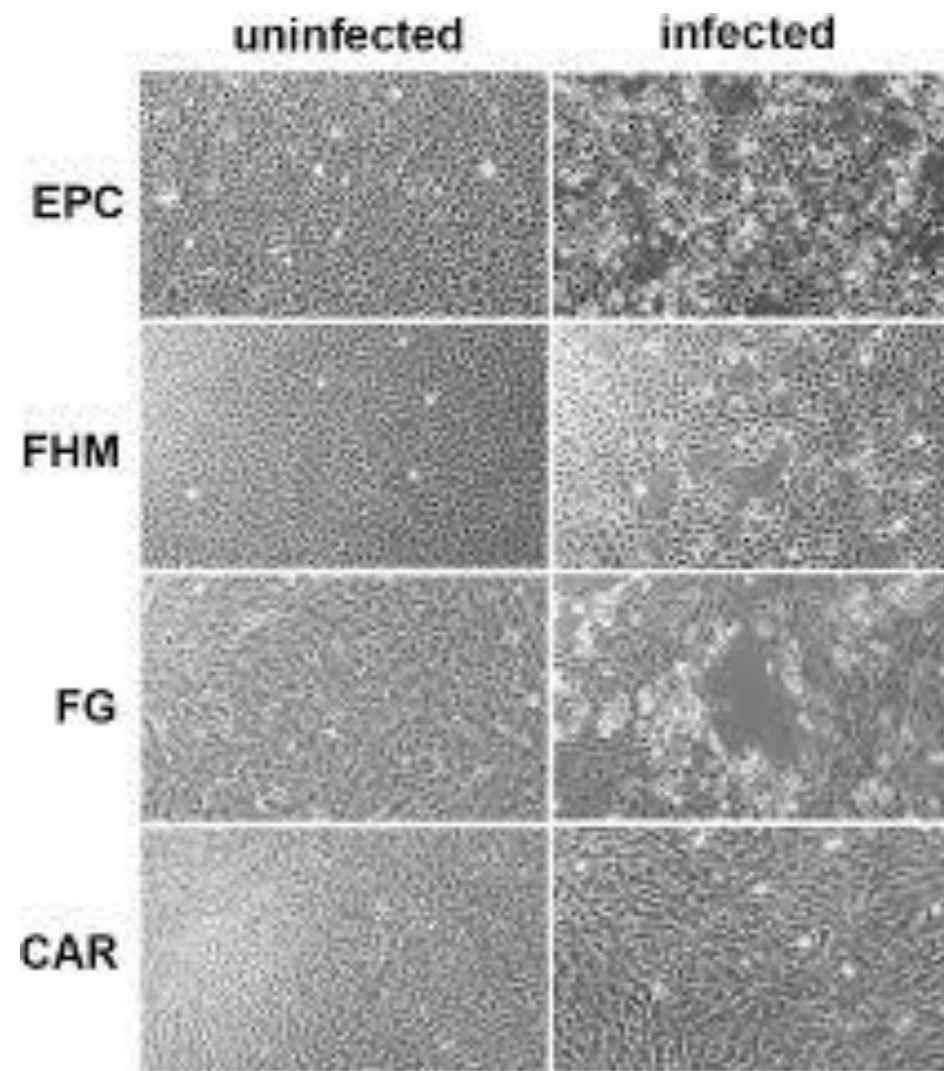


Рис. 4.54. Схема строения вируса бешенства



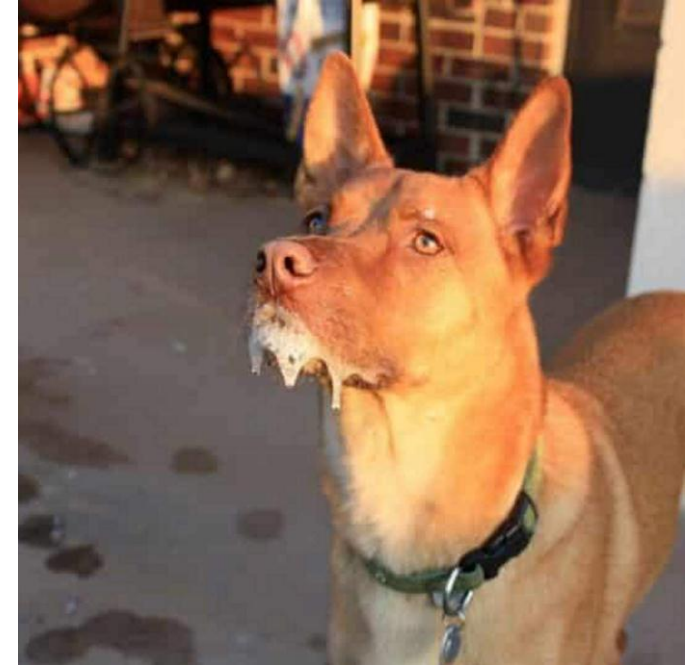
Культивация вируса бешенства

- Вирус бешенства культивируется в организме лабораторных животных - кроликов, белых мышей, крыс, морских свинок и др. путем внутримозговой инфекции, а также культивирования фибробластов человека, культур клеток Vero почек обезьян и куриных эмбрионов.



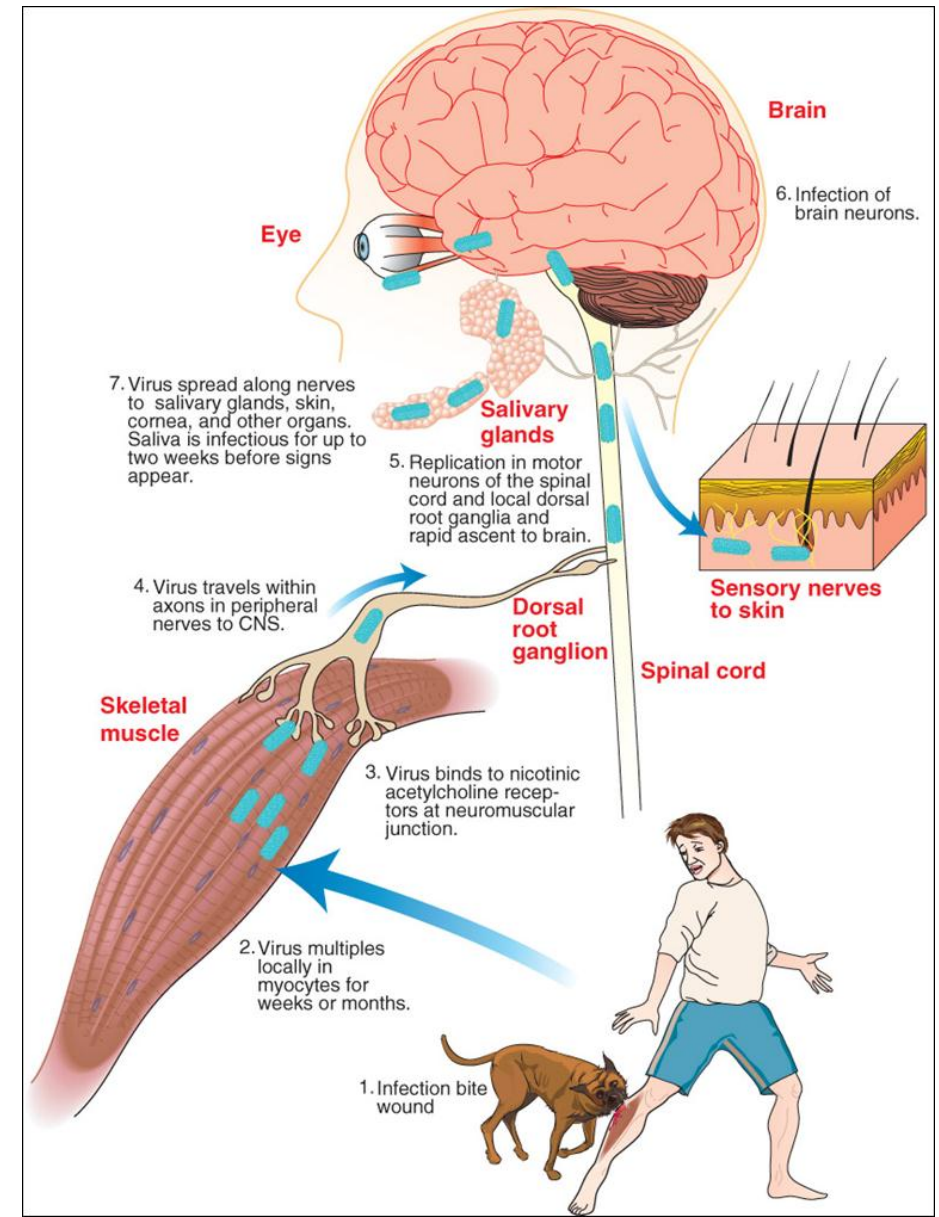
Патогенность для животных

- Вирус бешенства имеет широкий круг хозяев и может поражать всех теплокровных животных. Заболевание всегда заканчивается смертельным исходом у животных, за исключением некоторых летучих мышей (летучие мыши-вампиры).
- Поскольку вирус адаптировался к слюнным железам летучих мышей, они выделяют вирус со слюной в течение длительного времени без каких-либо признаков болезни.
- Латентный период у собак обычно длится 3-8 недель, а иногда и короче - до 10 дней. Затем появляются возбуждение, слюноотделение, рвота, боязнь воды. Больная собака грызет место укуса, несъедобные предметы, без лая нападает на людей и животных. Через несколько дней начинается паралич и животное погибает.



Источник инфекции и пути заражения

- В природных очагах источником инфекции являются лисы, волки, шакалы, грызуны, хищные животные и кровососущие летучие мыши, а в антропургических очагах (городское бешенство) чаще всего встречаются собаки и кошки.
- Вирус бешенства накапливается в слюнных железах больных животных и выделяется со слюной. Животные становятся заразными в конце латентного периода (за 2-10 дней до клинических проявлений болезни).
- Заражение происходит в результате укусов животных человека, а в редких случаях в результате загрязнения кожных покровов слюной.



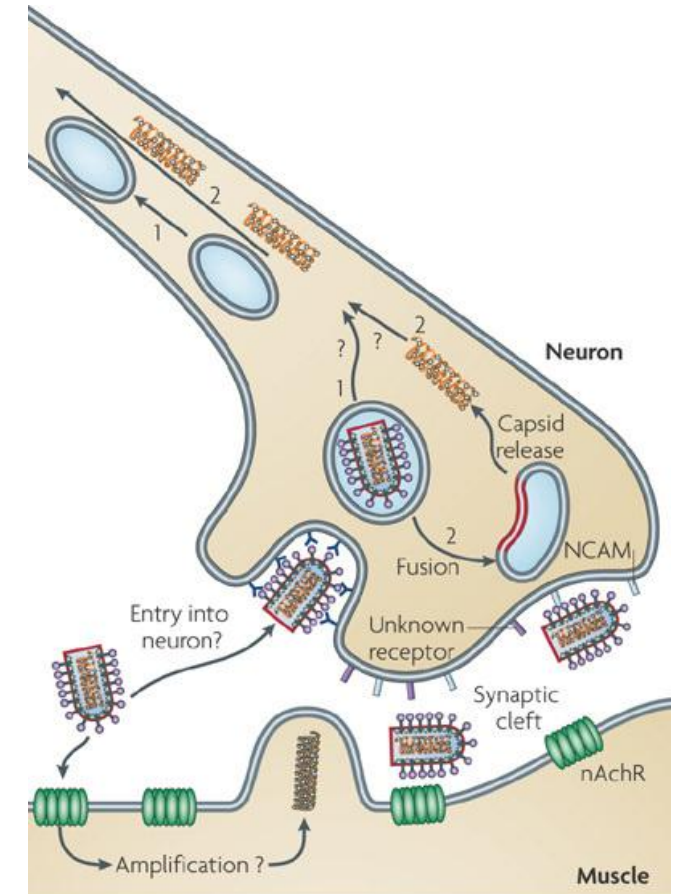


Эпидемиология

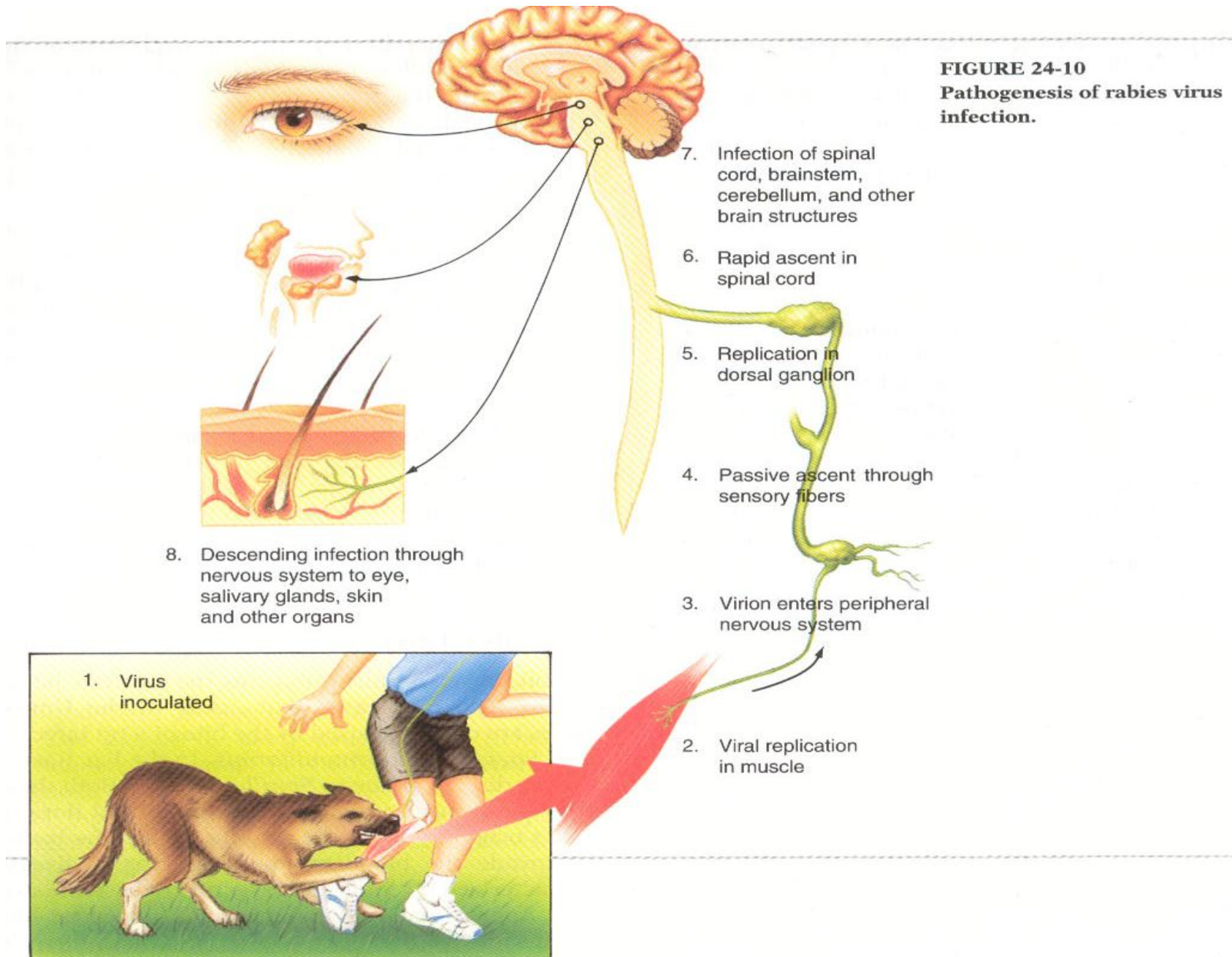
- **Дикое (лесное) бешенство.** Основной резервуар – дикие животные: скунсы (США), волки (Иран), лисицы (РФ, Северная Америка), летучие мыши-вампиры (страны Карибского бассейна и Южная Америка). За последние годы зарегистрированы случаи бешенства хорьков, куниц, барсуков, рысей, диких кошек, серых крыс, бобров, лосей, медведя, хомяка, ондатр, нутрий.
- **Городское бешенство.** Основной резервуар – собаки (до 90% всех случаев) и кошки; реже – крупнорогатый скот и лошади.

Патогенез бешенства

- Вирус, попавший в место тнокуляции, размножается в мышечной и соединительной ткани, затем через нервно-мышечные синапсы проникает в периферические нервы и попадает в центральную нервную систему.
- Репликация вируса в центральной нервной системе приводит к острому энцефалиту. В клетках головного мозга образуются внутрицитоплазматические включения, состоящие из вирусных нуклеокапсидов - тельца Негри. Вирус перемещается из головного мозга по периферическим нервам в различные ткани, включая слюнные железы (особенно поднижнечелюстные).



ПАТОГЕНЕЗ БЕШЕНСТВА



Клинические проявления бешенства

- Хотя латентный период бешенства у человека обычно длится 1-2 месяца, иногда он может быть короче 1 недели или растянуться на годы. Продолжительность латентного периода зависит от возраста больного, иммунного статуса, особенностей вируса, его количества, характера и локализации поражения (его близости к ЦНС).
- Заболевание начинается с неспецифических продромальных симптомов продолжительностью 2-10 дней - слабости, головных болей, светобоязни, тошноты, рвоты, болей в горле и лихорадки.
- После этого наступает период неврологической симптоматики, длящийся 2-7 дней. В этот период больных беспокоит страх, тревога, бессонница, ночные кошмары, у них наблюдаются необычные формы поведения. Одним из основных симптомов является гидрофобия (боязнь воды) – возникает в результате болезненных спазмов мышц глотки при попытке пить воду, а позже даже при виде ее.
- В конце болезни - в паралитическом периоде наступают кома, паралич дыхания и смерть. Заболевание почти всегда заканчивается летальным исходом.

Животные и люди, пораженные вирусом бешенства



Вид больного бешенством

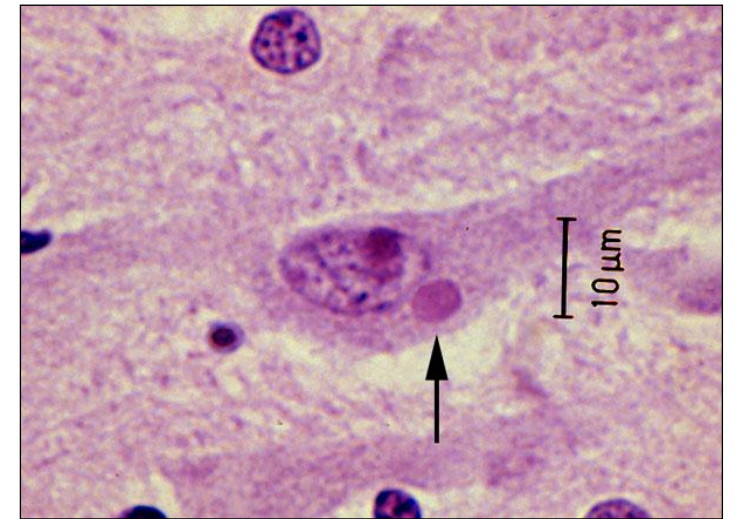


Микробиологическая диагностика бешенства

- Витальный диагноз основан на IFR-исследовании биоптатов кожи, взятых с шеи, мазков с роговицы и внутримозговом заражении лактирующих мышей спинномозговой жидкостью и слюной.
- Зараженных животных наблюдают в течение 10 дней. Если у них обнаруживаются какие-либо признаки бешенства, их убивают, а ткань мозга исследуют соответствующими методами.
- Определить противовирусные антитела в сыворотке крови больных можно с помощью ИФР и реакции нейтрализации.

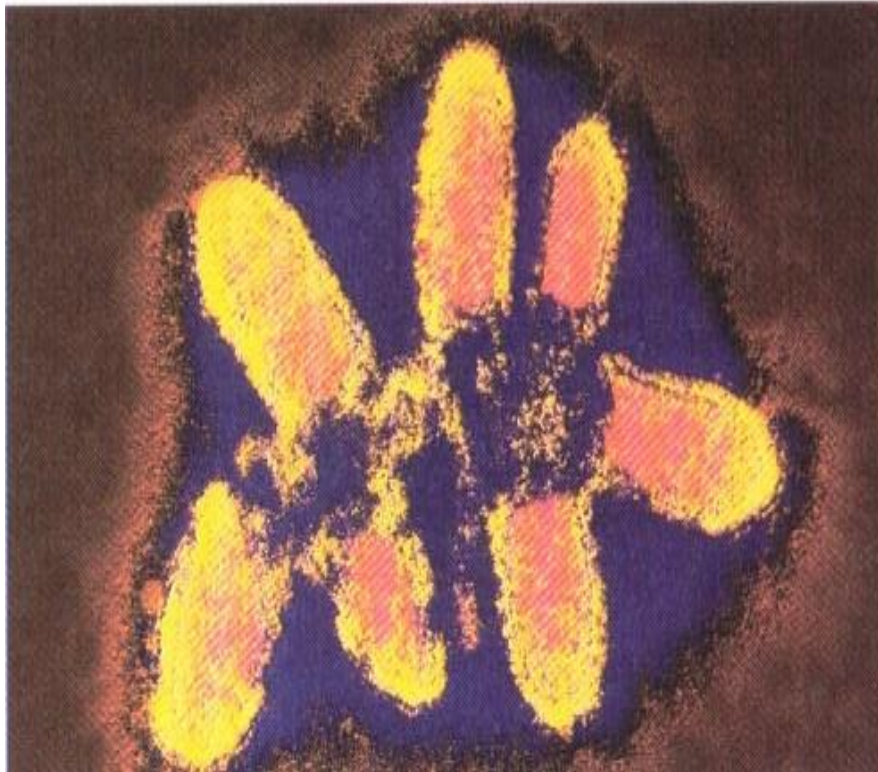
Микробиологическая диагностика бешенства

- Посмертная диагностика в основном основывается на обнаружении телец Негри в мазках и срезах, приготовленных из ткани головного мозга (преимущественно из гиппокампа, пирамидных клеток коры головного мозга, а также из спинного мозга).
- Тельца Негри представляют собой сферические внутриклеточные включения зернистой структуры размером 2-10 мкм. Их можно обнаружить при окраске Гимзой и другими методами.
- Поскольку они содержат вирусные антигены, тельца Негри также могут быть обнаружены с помощью ИФР с использованием моноклональных антител против бешенства.

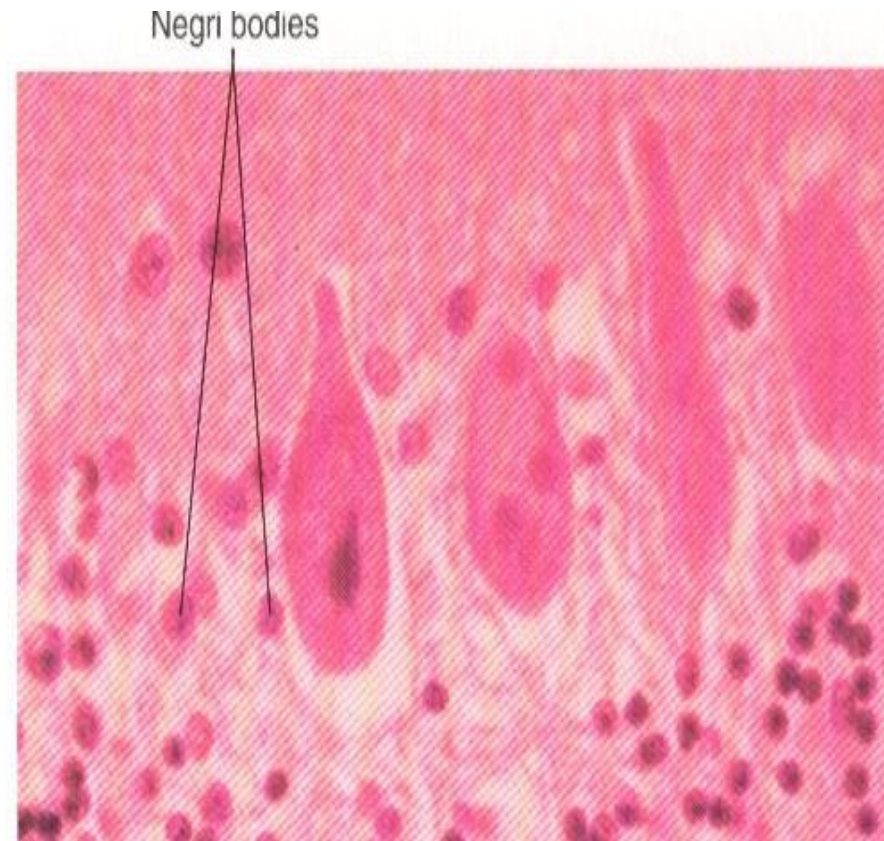


Вирус бешенства

электронная микроскопия



Тельца Бабеша-Негри
мозг зараженного



Профилактика бешенства

- **Специфическую профилактику** проводят антирабической вакциной, антирабической сывороткой или иммуноглобулином.
- Своевременное применение антирабической вакцины или антирабической сыворотки оказывает профилактическое действие, предотвращая попадание вируса в центральную нервную систему.
- В настоящее время существуют различные вакцины против бешенства. Для людей используются только инаktivированные вакцины. При множественных укушенных ранах для экстренной профилактики создают пассивный иммунитет путем введения антирабической сыворотки или иммуноглобулина.

