

Медицинская вирусология

Возбудители ОРВИ и ОКВИ

СПбГУ

2015

Учебно-методические пособия по курсу микробиология, иммунология и вирусология

1. О.В. Рыбальченко. Энтеробактерии-возбудители инфекционных заболеваний человека. – СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2003, 118 с.
2. О.В. Рыбальченко, О.Е. Пунченко, Энтеробактерии
3. Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М., Добрица В.П. Атлас ультраструктуры микробиоты кишечника человека. Санкт-Петербург: Изд-во ИИЦ ВВА, 2008, -112 с.-1000 экз.- ISBN 978-5-91263-014-9
4. Пунченко О.Е., Рыбальченко О.В. Возбудители стрептококковых инфекций. 2012.
5. Е.И. ЕРМОЛЕНКО, О.В. РЫБАЛЬЧЕНКО, О.Г. ОРЛОВА Роль лактобацилл в обеспечении защитных свойств организма человека. 2012
6. О.Г. ОРЛОВА, О.В. РЫБАЛЬЧЕНКО, Е.И. ЕРМОЛЕНКО MORBILLIVIRUS – ВИРУС КОРИ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА. 2014
7. О.В. РЫБАЛЬЧЕНКО Возбудители ВИЧ. 2008
8. А.Г. Марков, О.В. Рыбальченко, Л.А. Слепых, Методические указания по написанию курсовых работ.
9. Ерофеев Н.П., Рыбальченко О.В, Орлова О.Г. с соавт. Написание курсовых работ

Эра открытий в области вирусологии

- началась с появлением электронного микроскопа



Нитевидная форма вируса гриппа

Approximate diameter or
width × length
in nm

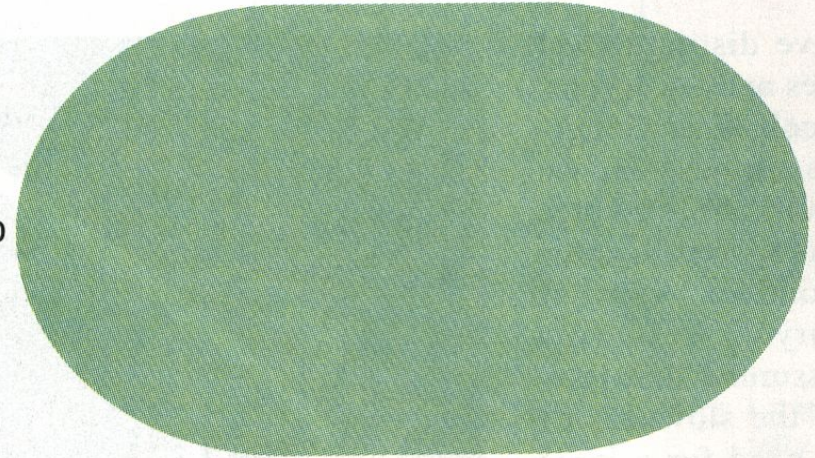
Oscillatoria
Red blood cell

7,000

5.4 times the diameter
of *E. coli* below

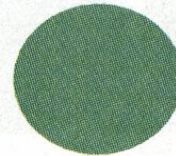
E. coli

1,300 × 4,000



Rickettsias

475



Poxviruses

230 × 320



Influenza virus

85



T2 *E. coli* bacteriophage

65 × 95



Tobacco mosaic virus

15 × 300



Poliomyelitis virus

27



Sizes of Bacteria and Viruses. The sizes of selected bacteria relative to the red blood cell and viruses.

Этапы взаимодействия вируса с клеткой хозяина

- Адсорбция
- Проникновение
- Раздевание
- Фаза исчезновения
- Синтез компонентов вириона
- Выход вирионов из клетки

Особенности лабораторной диагностики вирусных инфекций

- выявление увеличения АТ
- выращивание на клеточной, тканевой культуре или в организме ЖИВОТНОГО
- обнаружение возбудителя в острой стадии заболевания

Методы выявления вирусов

- СЛОЖНЫ
- ТРУДОЕМКИ
- РЕТРОСПЕКТИВНЫ

Диагностика приносит ПОЛЬЗУ

- особенно в эпидемической службе, т.к. чем раньше будут диагностированы первые случаи вирусных инфекций, тем быстрее будут проведены
- противоэпидемические мероприятия:
- карантин,
- госпитализация,
- вакцинация

Особенности взятия клинического материала при вирусной инфекции

- взятие клинического материала в течение первых дней заболевания
- в острой стадии: кровь
- один и тот же возбудитель вызывает разные клинические проявления (напр. энтеровирусы)
- сходную картину могут вызывать разные вирусы (напр. 6 семейств ОРВИ)

Появление АТ в крови при вирусной инфекции

- примерно через неделю с начала заболевания.
- сначала IgM, потом IgG.
- очень недолго они циркулируют одновременно, на 12-й день IgM уже не обнаруживаются.
- титр IgG нарастает и достигает максимума к 2-3 неделе.
- серологическая диагностика должна быть основана на четком, не менее, чем 4-х кратном увеличении количества АТ.

Серологические и молекулярно-биологические методы исследования вирусов

- ИФА с моноклональными АТ
- РИФ
- РСК
- РГА
- ПЦР – арбитражный метод

Культуральные методы исследования вирусов

- ❑ Вирусы облигатные паразиты !!!
- ❑ не подходят искусственные питательные среды
- ❑ выращивание на:
 - клеточных культурах,
 - культуре тканей,
 - органных культурах
- ❑ напр. энтеровирусы – на первичных клетках культуры почек обезьян

Идентификация вирусов

- фильтрация через поры определенного диаметра (выявление размеров);
- чувствительность к жирорастворителям (наличие липидов в мембране);
- стабильность в среде с низким значением рН (наличие мембраны);
- влияние бромдезоксисуридина (подавляет репликацию ДНК).

Возбудители ОРВИ (>200)

- 1.сем. Orthomyxoviridae – вирус гриппа
- 2. сем. Paramyxoviridae – вирус парагриппа
- 3. сем. Picornaviridae – вирусы Коксаки, ЕСНО, риновирусы
- 4. сем. Coronaviridae – коронавирусы
- 5. сем. Reoviridae – реовирусы
- 6. сем. Adenoviridae – аденовирусы

ОРВИ



- заболевания, характеризующиеся самыми разнообразными патологическими изменениями не только различных отделов дыхательных путей, но и других органов и тканей (особенно часто кишечника)

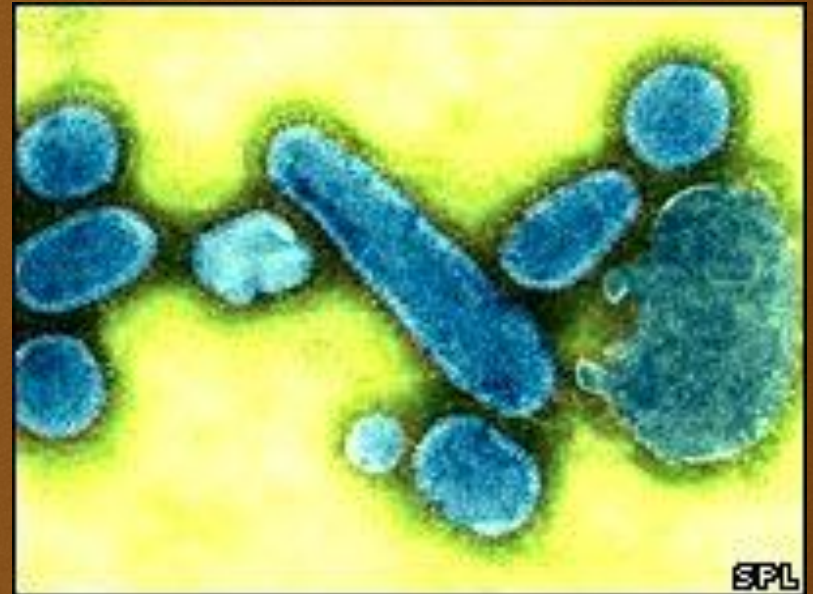
Распространение вирусов ОРВИ



- происходит в основном по аэрозольному пути передачи инфекции (аспирационному, воздушно-капельному), но возможен и фекально-оральный

Вирус гриппа (ВГ) -1Н РНК-содержащий

- сем. Orthomyxoviridae
- р. Influenzavirus



ВГ - р. Influenzavirus



- вызывает ОРВИ с характерными эпидемиологическими проявлениями
- заражение вирусом гриппа может привести к разнообразным клиническим проявлениям:

от ассимптоматических

до первичной вирусной пневмонии с
возможным летальным исходом

К ВГ чувствительны

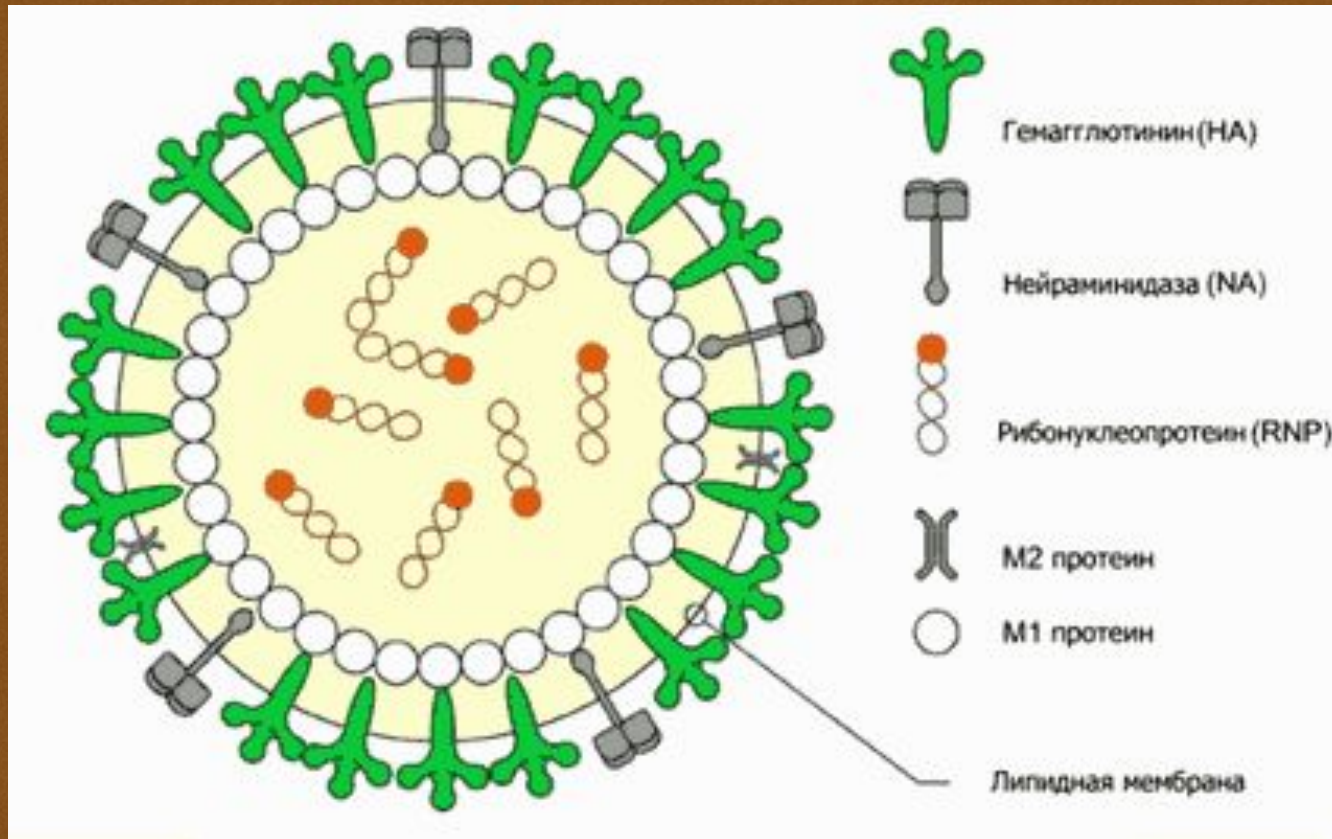
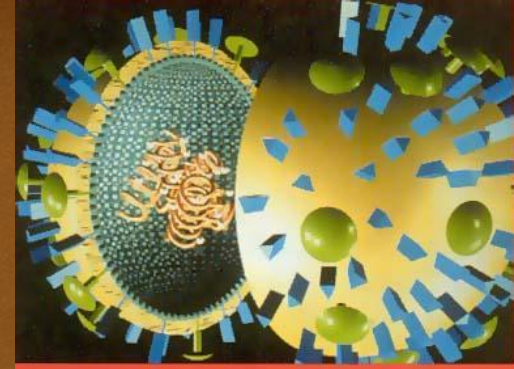


- ❑ домашние и дикие животные
- ❑ (в основном свиньи)
- ❑ от них вирус передается человеку
- ❑ распространяется от
- ❑ диких уток → к свиньям → человеку

Род *Influenzavirus* - сферические частицы,
реже нитевидной формы 1-4 мкм



Строение ВГ (-РНК) (оболочечный вирус, полиморфные частицы, чаще сферической формы)



80-120 нм

Рецепторы ВГ



- на поверхности ВГ - рецепторы
- (син. выступы, шипы):
- 2 наружных АГ,
определяющие патогенность и
образование АТ

Гемагглютинин (НА) - 1-й АГ



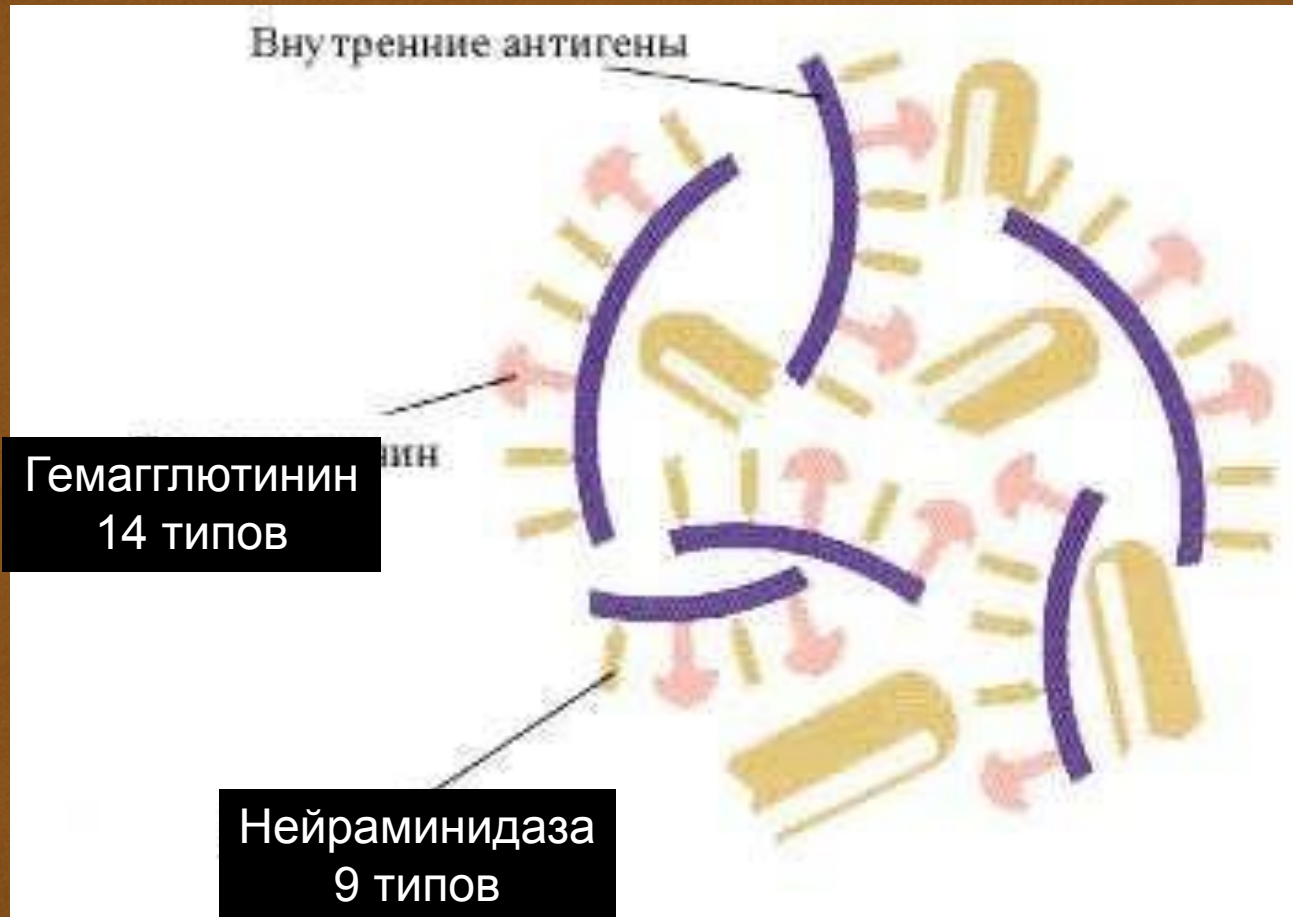
- агглютинирует эритроциты
- облегчает слияние вирусной частицы с клеточной мембраной
- и проникновение нуклеокапсида внутрь цитоплазмы

Нейраминидаза (NA) - 2-й АГ



- разрушает сиаловые кислоты,
- катализирует отщепление N – ацетилнейраминовой кислоты (NANA) от сиалосодержащих субстратов,
- способствует проникновению ВГ в клетки.
- изменение одного АГ- антигенный дрейф
- изменение двух АГ - антигенный шифт

АГ вируса гриппа



Внутренние АГ



- 1. комплекс белков матрикса
М-белки выстилают мембрану
- 2. комплекс белков – полимераз

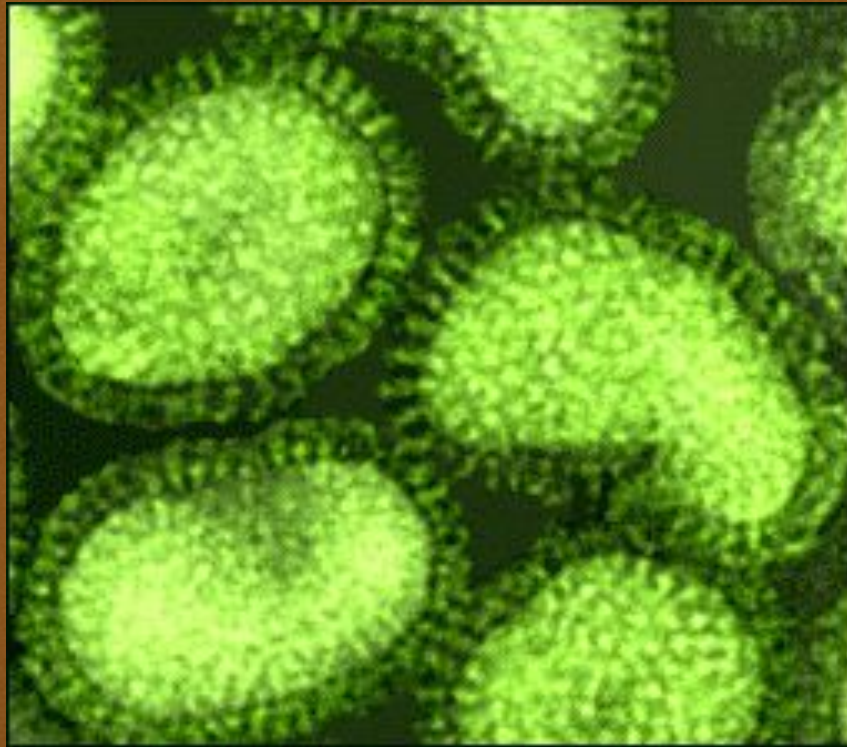
р. Influenzavirus

Строение генома

-1Н РНК – содержащий вирус (антисенс),
кольцевые 8 или 7 молекул,

3 типа вируса гриппа:

А, В, С



Механизм быстрого изменения ВГ

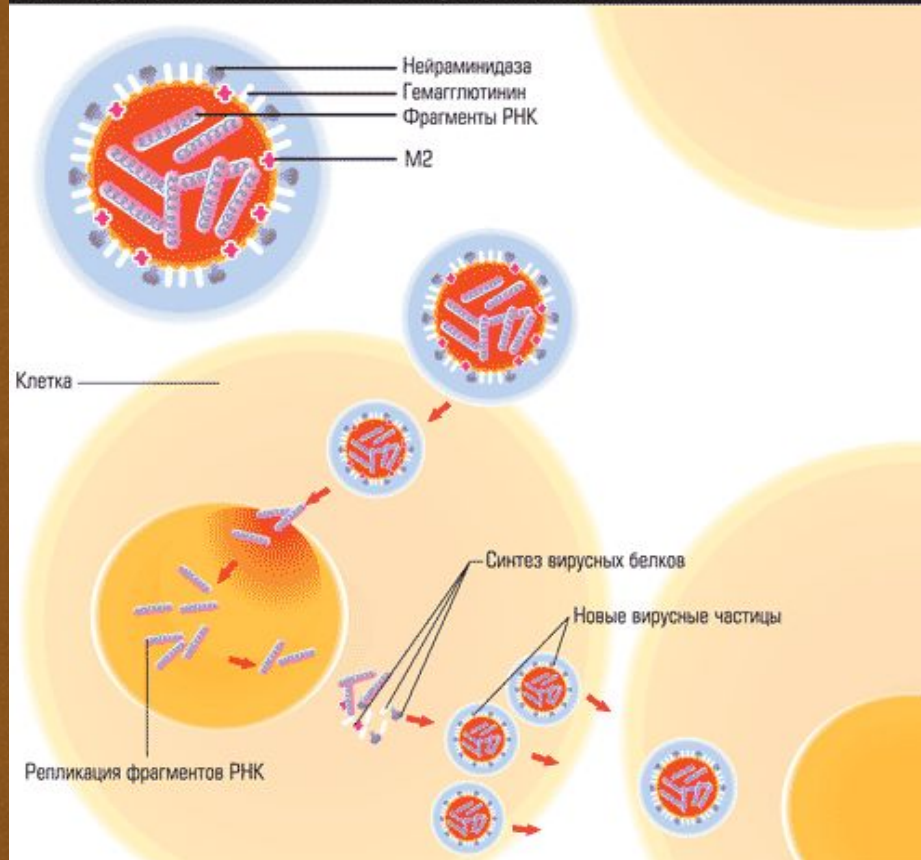
- в геноме много хромосом
- (8 или 7)
- быстрая рекомбинация
- образование гибридных вирусных частиц

Проникновение ВГ в клетки

- В результате фагоцитоза ВГ сливается с лизосомой, образуя фаголизосому,
- в результате снижения рН в фаголизосоме происходит конформационное изменение белков ВГ → меняется характер укладки белка → происходит раздевание.
- внедряясь в мембрану вакуоли, хромосомы выходят из них.
- дальнейшее развитие репродукции ВГ происходит в ядре клетки-хозяина.

Репликация вируса гриппа в клетке

Как вирус гриппа попадает в клетку и размножается



Патогенез



- инкубац. период – 1-4 сут.
- входные ворота инфекции – клетки слизистой оболочки верхних дыхательных путей, где ВГ репродуцируется, вызывая отек и некроз ткани.
- мертвые клетки отторгаются, а продукты распада, обладающие токсическими свойствами, попадают в кровь.
- одновременно в кровь попадают и ВГ, вызывая вирусемию.
- вирусы гриппа оказывают токсическое действие на сердечно-сосудистую и нервную системы.

3 типа вируса гриппа: А, В, С

- **А** - вызывает крупные эпидемии и пандемии, характеризуется быстрым распространением, высокой инфекционностью и лабильностью антигенной структуры (мутации).
- **В** - обладает постоянством антигенной структуры и менее подвержен мутациям.
- **С** - обладает постоянством антигенной структуры, малозначим в патологии человека.

Исход заболевания



- как правило, благоприятный, однако возможны тяжелые постгриппозные осложнения
- при любом ОРЗ, а особенно при гриппе происходит резкое снижение противобактериальной защиты организма, что способствует возникновению острой пневмонии
- при гриппе отмечают несостоятельность иммунитета

Несостоятельность иммунитета при гриппе сопровождается:

- выраженной Т-клеточной иммунодепрессией
- снижением уровня Ig
- угнетением фагоцитарных реакций
- резким снижением противобактериальной защиты → возможно возникновение ОПГ-пневмонии

Этиологические бактериальные агенты ОПГП

(у 2-17% заболевших гриппом)



- Streptococcus pneumoniae - 58%
- Haemophilus influenzae – 29%
- Klebsiella pneumoniae – 10%
- Staphylococcus aureus – 2%
- Остальные – 1%

Синдром постевиральной астении - СПА

□ 1-я теория

□ **Метаболическая теория**- вирусы являются неспецифическими биологическими стрессорами (David, 1988).

□ При вирусемии увеличивается концентрация оксикетостероидов в моче, что приводит к нарушению азотистого обмена.

□ 2-я теория

□ **Длительная персистенция очень многих вирусов** в организме человека (Коксаки, сем. Herpesviridae: Эпштейн-Барр, р. Lymphocryptovirus, опоясывающего лишая – р. Varicellovirus и т.д.)

Группы повышенного риска развития осложнений и увеличения летальности

- Лица старше 60 лет
- Лица страдающие хроническими заболеваниями
- Взрослые и дети, страдающие заболеваниями почек, сахарным диабетом, хроническими легочными, СС-заболеваниями, включая больных бронхиальной астмой
- Взрослые и дети с иммунной недостаточностью, ВИЧ-инфицированные, получающие иммунодепрессанты
- Беременные женщины, относящиеся к группам повышенного риска

Лабораторная диагностика при гриппе

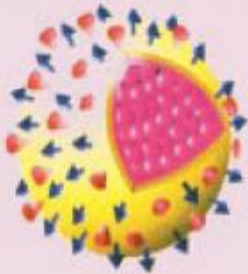
- ❑ Материал для исследования: отделяемое из носа, глотки, кровь.
- ❑ Заражение куриных эмбрионов, культуры тканей, белых мышей (реже)
- ❑ Выявление вируса: РИФ, ИФА
- ❑ Идентификация вируса: РСК, РГА, ПЦР
- ❑ Нарастание титра АТ

Профилактика: Оценка эффективности вакцинации против гриппа



Вакцины против гриппа

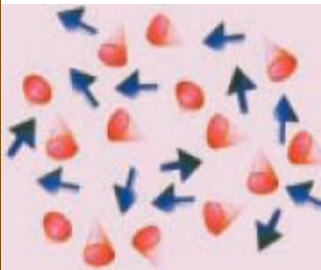
Вакцины первого поколения - цельновирионные вакцины - обеспечивают достаточный иммунный ответ, но их применение сопровождается повышенным риском побочных эффектов.



Вакцины второго поколения - так называемые вакцины из расщепленных вирусов - содержат фрагментированные и очищенные частицы, включая поверхностные белки и другие компоненты вируса.



Вакцины третьего поколения - субъединичные вакцины - содержат только поверхностные антигены гемагглютинин и нейраминидазу и лишены других компонентов вируса.



Субъединичные вакцины обеспечивают иммунный ответ, равный таковому цельновирионных вакцин и вакцин из расщепленных вирусов, и характеризуются более низкой частотой местных и системных реакций.

Ингибиторы протеолитических ферментов (для ВГ типа А и В)

- Ремантадин
- Адапромин
- Дейтифорин
- Арбидол
- Виразол

Препараты, нарушающие репродукцию вирусов

- *Ингибиторы протеолиза:*
- Контрикал
- ε - аминокaproновая кислота

- *Иммуномодуляторы:*

- Дибазол
- Инозиплекс
- Левамизол
- Метилурацил
- Пентоксил
- Пирогенал
- Тималин

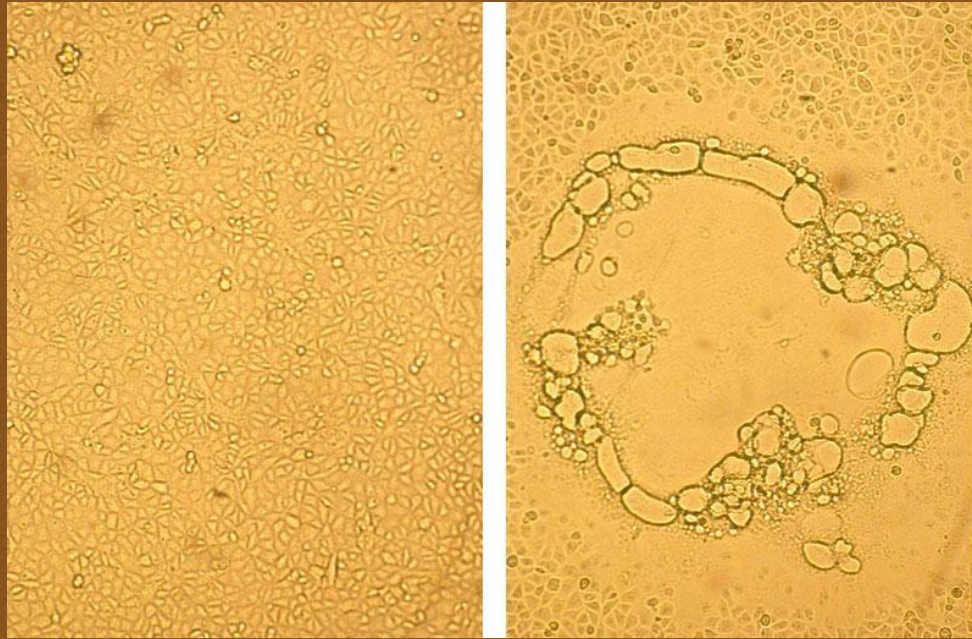
Защитные механизмы при вирусной инвазии и репликации

Защитные факторы организма	Антивирусные эффекты	Ответные действия вируса
Слизь на поверхности эпителия дыхательного тракта	Предупреждение фиксации и перемещения вируса до достижения им эпителия	Нейраминидаза позволяет вирусу проникать сквозь мукозальную защиту
Интерферон	Очистка организма от вируса	Быстрая репликация вируса до эффективной защиты интерферона
Т-лимфоциты , макрофаги	Деструкция вирус-инфицированных клеток	Быстрая репликация вируса до необходимой активации клеточного иммунитета
Антитела против вирусных белков	Нейтрализация вируса (предупреждение повторного заражения)	Антигенный дрейф и шифт

сем. Paramyxoviridae

- р. *Morbillivirus* - вирус кори
- р. *Paramyxovirus* - вирус парагриппа и паротита (свинки)
- р. *Pneumovirus* - возбудитель респираторно-синцитиального заболевания

Вирус кори - р. Morbillivirus



Слева — неповрежденные вирусом кори клетки линии Vero-SLAM.
Справа — цитопатический эффект вируса BLR/MV/016/04 в культуре клеток Vero-SLAM.

ЦПД вируса кори - многоядерные (10-1000 ядер) гигантские клетки Вартина-Финкельдея. Маленькие эозинофильные внутриядерные включения

Клинические проявления кори



р. Paramyxovirus



- Вызывают спорадические простудные заболевания у взрослых.
- У детей и подростков – эпидемические вспышки.
- По строению внешних АГ разделен на 4 серотипа. Серотип 1, 2 – могут вызывать у детей до 2-х лет – ларинготрахеит (ложный круп).
- Серотип 3,4 – вызывают бронхопневмонию.
- У больных детей и подростков может персистировать бессимптомно или проявляться как обычный простудный синдром (10%).

VRвирус - возбудитель паротита (свинка)



- острое инфекционное эпидемическое заболевание.
- включает 1 серотип – вызывает поражение околоушных слюнных и половых желез.

Клинические проявления паротита

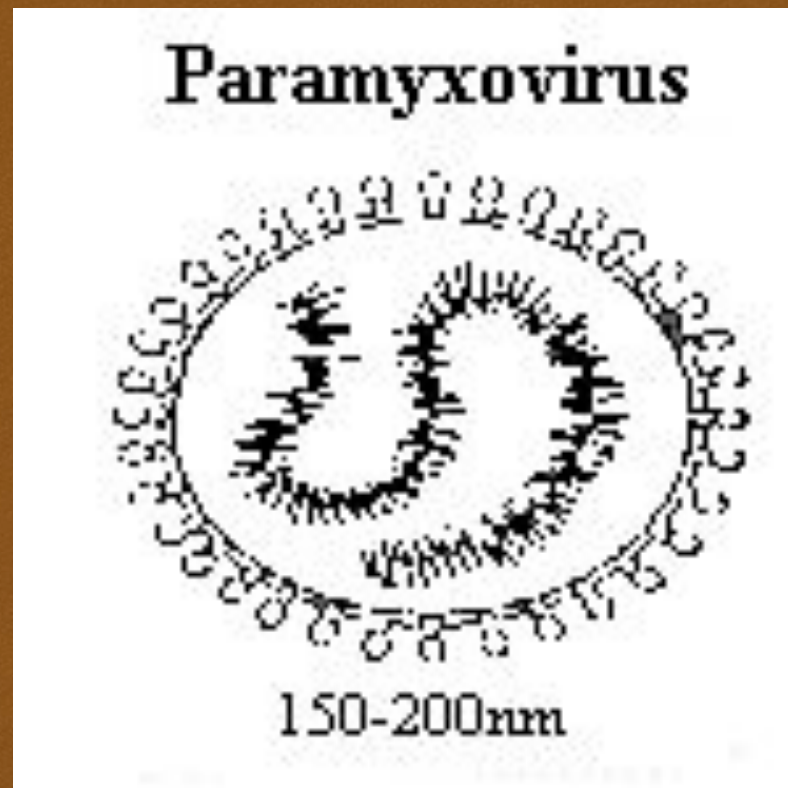


Патогенез паротита



- Инкубационный период 14-21 сут. Развитие вируса в верхних дыхательных путях, затем вирусы попадают в кровь (виремия) и в железы (слюнные и половые), а также в другие органы: яички, яичники, поджелудочную, щитовидную железы, головной мозг.
- Возможны осложнения в виде орхита, что может стать причиной половой стерильности, менингита и т.д.

Строение вирусных частиц р. Paramyxovirus



Строение вирусных частиц р. Paramyxovirus

- ❑ Вирусные частицы – сферической формы 100-200 нм
- ❑ 1Н (–)РНК (антисенс)
- ❑ Белки капсида, окруженные наружным суперкапсидом
- ❑ По АГ композиции и биологическим свойствам выделяют 4 серотипа. Активность вирусов разных серотипов проявляется по-разному.

На поверхности вирусной частицы – выросты (шипы)

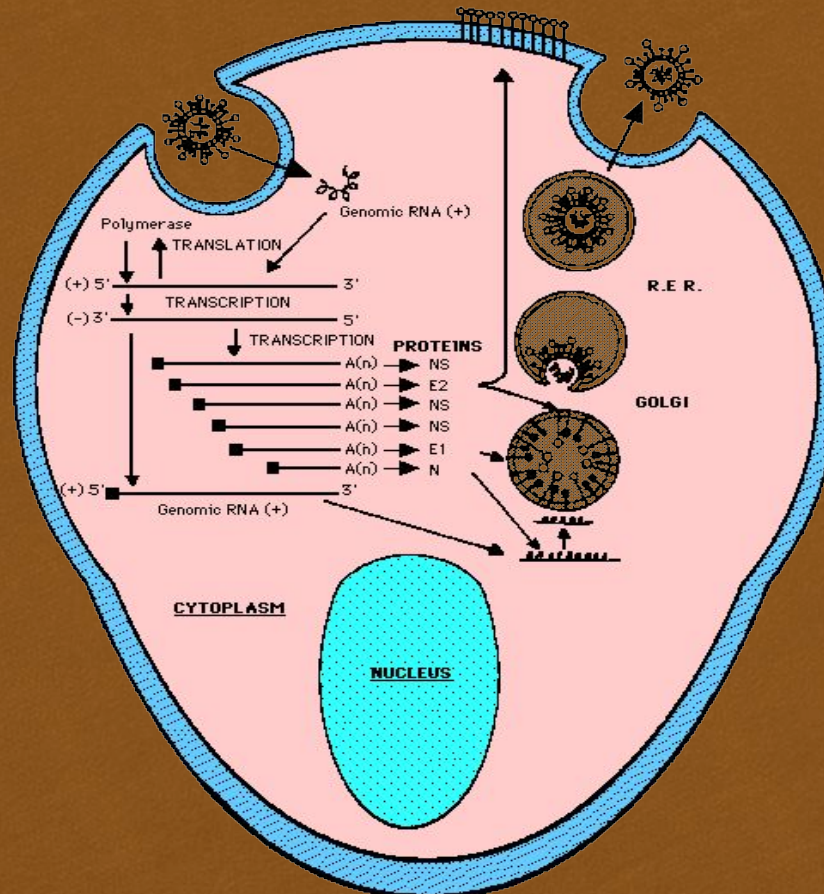


- ❑ **1-й рецептор - одновременно HA и NA** (гемагглютинин – нейраминидазная активность).
- ❑ часть HA - гемагглютинин обеспечивает агглютинацию эритроцитов разных животных.
- ❑ часть NA – отщепляет NANA (N-ацетил нейраминовую) кислоту от сиаловых кислот.

- ❑ **2-й рецептор - F-белок слияния - гемолизин**, обуславливает слияние клеток, приводит к образованию синцития, т.е. обладает симпластообразующей активностью.

Репродукция вирусов

р. Paramyxovirus

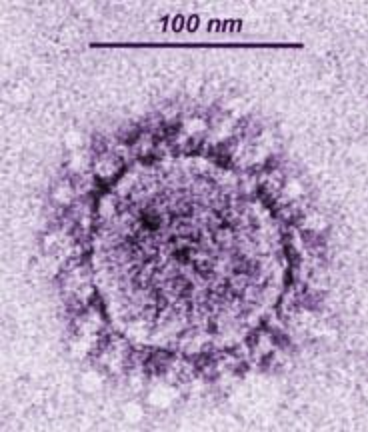


р. Pneumovirus (RSV)

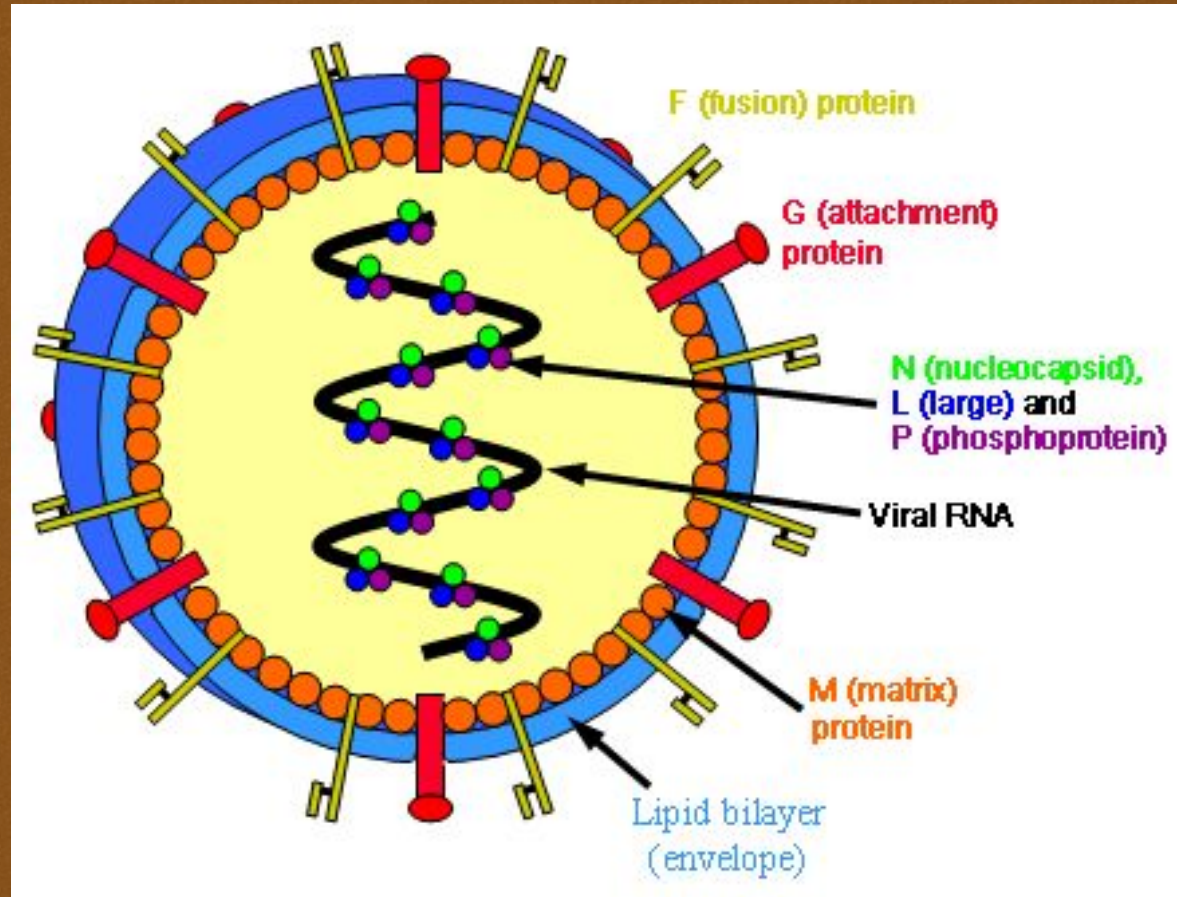
- **Возбудитель респираторно-синцитиального заболевания**
Включает 2 разновидности :
- 1. RSV - человека
- 2. RSV – пневмонии мышей, гремучих змей.

- RSV – человека вызывает различные формы ОРВЗ у людей,
□ у детей доминируют поражения нижних отделов РТ,
□ у взрослых – астмоидные бронхиты.

- RSV - эпидемичен во всем мире. Инфицирование детей на 1-2 году жизни.
- Наличие АТ не обеспечивает полной защиты от реинфекции.
- Частота RSV в общей структуре ОРЗ – 3-16%.

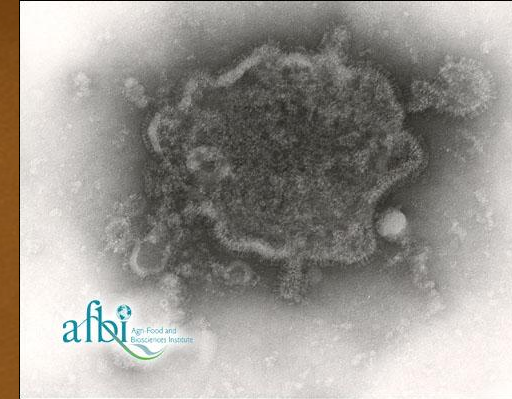


р. Рнеитовирис строение RSV

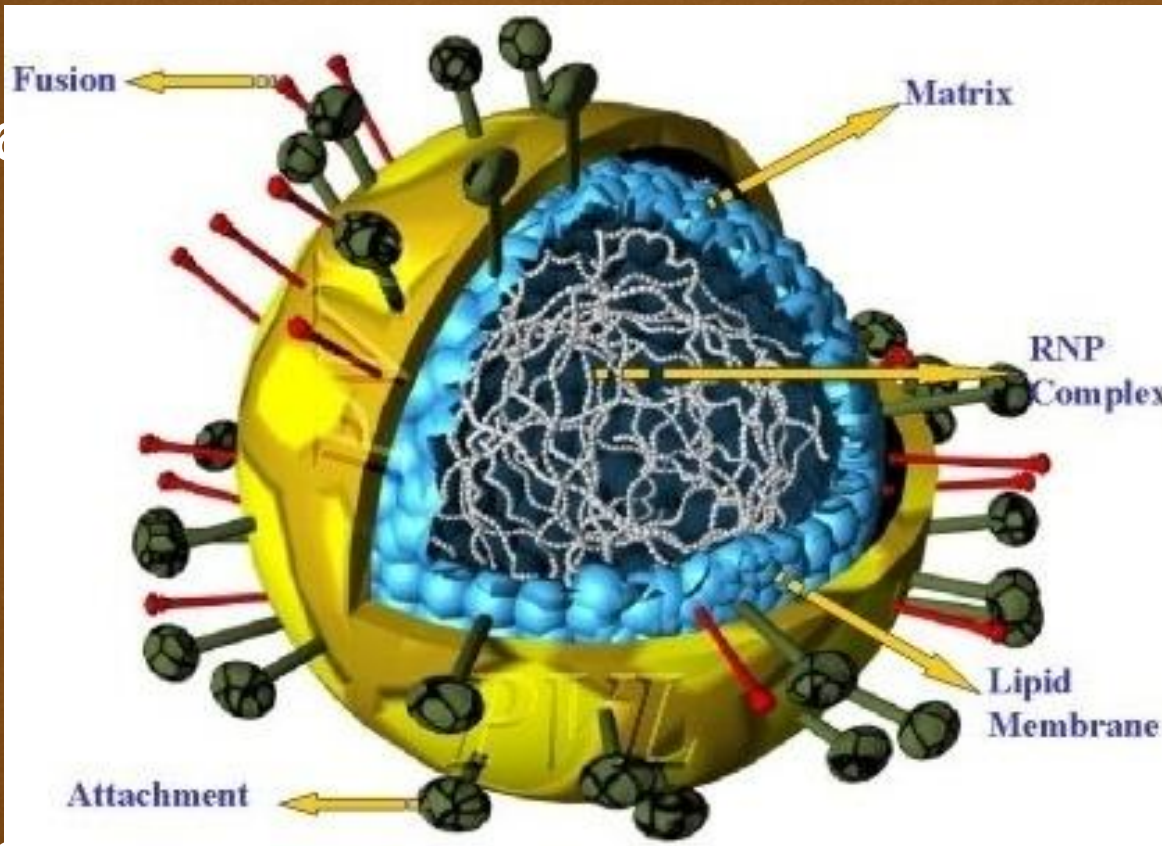


65-800 нм

p. Pneumovirus



afbi
Agri-Food and
Biosciences Institute



F-белок

G-белок



65-800nm

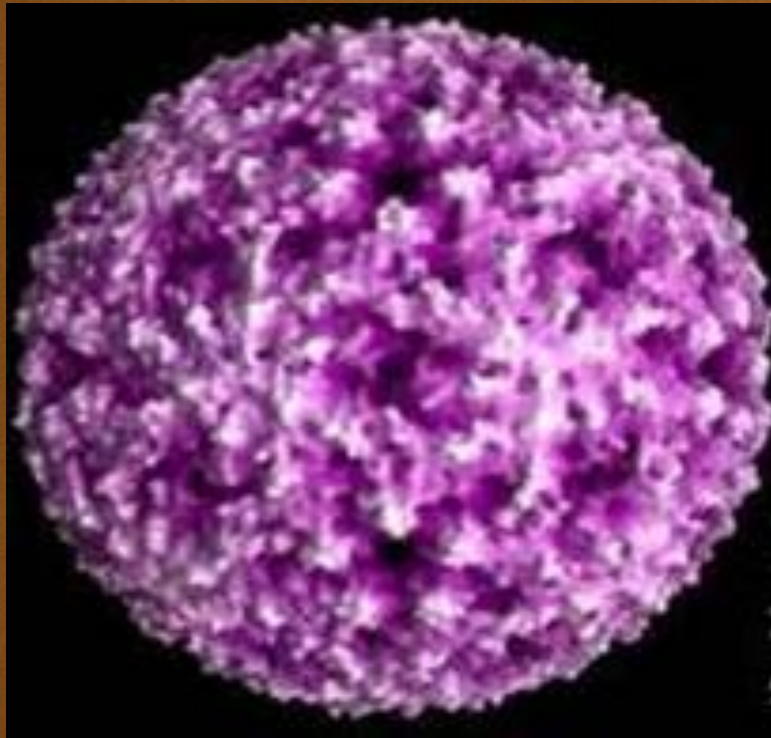
АГ структура RSV



- На поверхности выросты – 12 нм – гликопротеины – гликозилированные белки (F и G).
- Белок G – обеспечивает фиксацию вируса на поверхности чувствительных клеток.
- Белок F - обеспечивает слияние вируса с клеточной мембраной, а также слияние инфицированной клетки с неинфицированной, в результате чего образуется синцитий – симпласт.
- Репродукция осуществляется только в цитоплазме и не зависит от функций ядра.
- В отличие от всех вирусов сем. Paramyxoviridae RSV не имеют НА и NA.

сем. Picornaviridae (+РНК)

□ Риновирусы
(р. *Rhinovirus*)



□ Вирус Коксаки

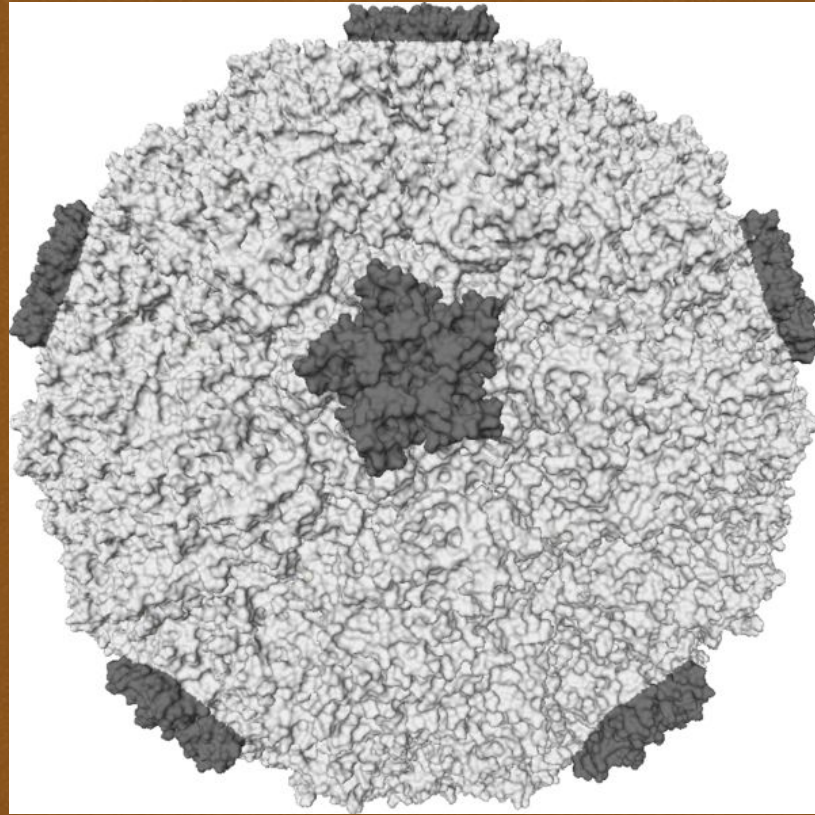
□ ECHO – *enteric cytopatogenic human orphans*

р. Rhinovirus



- Возбудители ринитов, легких и острых РЗ.
 - В носовом секрете и в смывах носоглотки.
 - У человека 113 серотипов, у животных 2 серотипа.
 - Характерный отличительный признак риновирусов – быстрая инактивация при рН 6,0 (в отличие от истинных энтеровирусов).
-
- Риновирусная инфекция – высококонтагиозное заболевание, поражает людей разного возраста.
 - Характерно воспаление слизистой оболочки носа,
 - Протекает с сильным насморком.
 - Развитие риновирусов подвержено сезонным колебаниям.

Строение вирусной частицы Picornavirus



27-30нм

Строение Rhinovirus

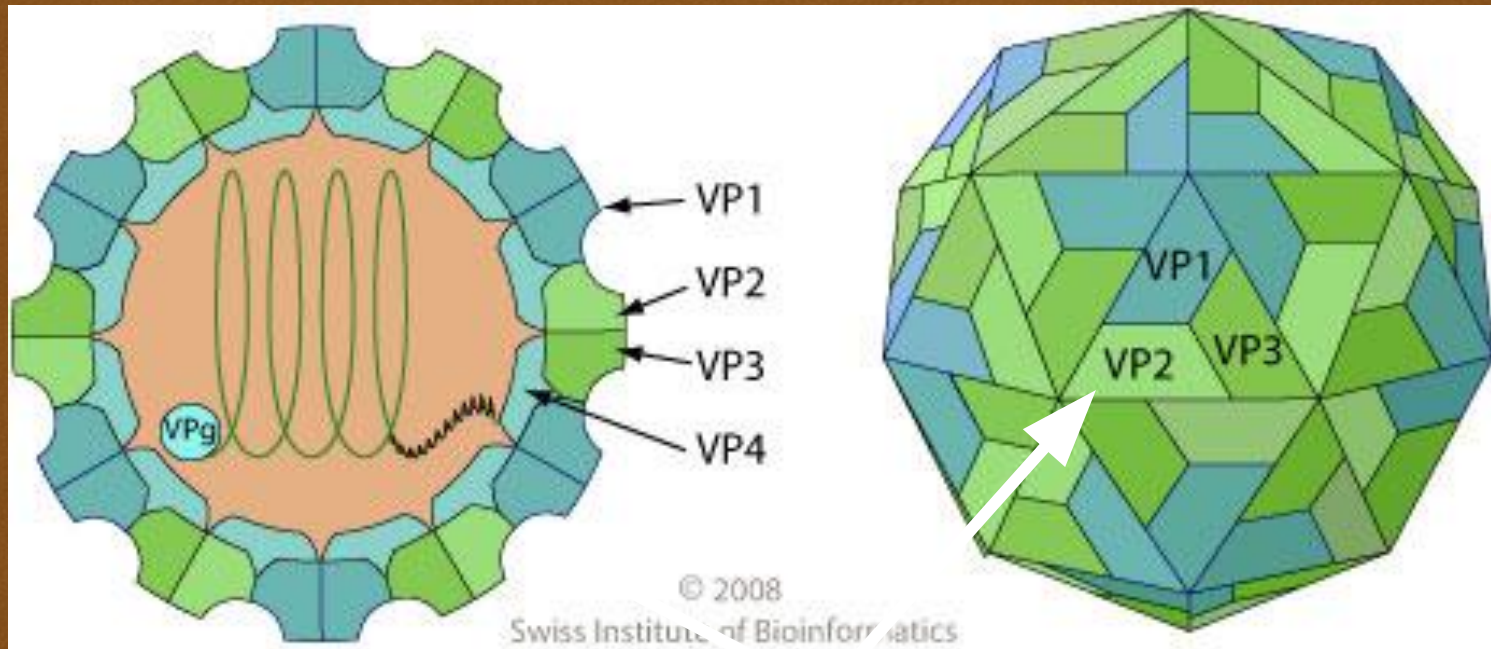


- Очень небольшие +РНК- содержащие икосаэдрические частицы диаметром 27-30 нм.
- 60 субъединиц (капсомеров).
- Устойчивы к действию эфира, дезоксихалата, т.к. отсутствует липопротеиновая оболочка (мембрана).
- На поверхности нет игл-выступов, есть ямки – каньоны, размер 12-30 Ангстрем – недоступны для АТ (Ig).

Каньон Глен, Аризона, США



Строение вирусной частицы Picornaviridae



Ямки на поверхности вириона 12-30 Å

Репродукция ПКВ

- Цикл развития занимает несколько часов.
- Репликация только в цитоплазме.
- Инфекция носит цитоцидный характер - гибель — клеток.
- 1-й этап – адсорбция с высокой специфичностью. Рецепторы разные для разных ПКВ. Рецепторы – негликозилированные участки полипептидной цепи.
- После адсорбции происходит структурная перестройка капсида. Захват и внедрение вируса идет путем эндоцитоза.
- В результате вирион оказывается внутри вакуоли.
- Процесс депротенинизации РНК осуществляется при взаимодействии капсида со стенкой вакуоли.
- Освободившаяся нить +РНК связывается непосредственно с рибосомой.
- +РНК служит матрицей для синтеза вирусных белков.