

ВИРУСОЛОГИЯ

ЛЕКЦИЯ 2

ТЕМА:

РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ

Пикорнавирусы (семейство *Picornaviridae*)

От итал. *piccolo* – малый + *gna*. Поражают позвоночных, многие патогенны для человека.

Структура.

- Относятся к простым вирусам (без оболочки), 30 нм.
- Икосаэдрический капсид, образованный белками VP1, VP2, VP3, VP4.
- Геном – однонитевая плюс-РНК, играющая в клетке роль иРНК.



Пикорнавирусы

(семейство *Picornaviridae*)

Род *Enterovirus*.

Вирус полиомиелита 1, 2, 3.

- Вызывает полиомиелит – острое лихорадочное заболевание с поражением серого вещества (греч. *polios* – серый) спинного и стволовой части головного мозга, в результате чего развиваются вялые атрофические параличи, парезы мышц ног, туловища, рук;
- патогенен для человека и в эксперименте – для обезьян;
- источник инфекции – человек; механизм передачи – фекально-оральный, возможно также аэрогенный.

Микробиологическая диагностика.

Исследуют кал, отделяемое носоглотки, цереброспинальную жидкость, сыворотку крови.

Вирусологический метод: Заражение культур клеток почек зеленых мартышек, HeLa, Нер-2.

Серологический метод: исследование парных проб сыворотки крови в РН, РСК.

Специфическая профилактика.

1) Живая 3-валентная оральная полиовакцина (ОПВ) из штаммов А. Сэбина. 2) Инактивированная формалином вакцина (ИПВ) Дж. Солка.



Последствия полиомиелита

Пикорнавирусы (семейство *Picornaviridae*)

Род *Enterovirus*.

Вирусы Коксаки А и В

Названы по населенному пункту в США, где были впервые выделены.

- Коксаки А вызывают герпангину, пузырьчатку полости рта, полиомиелитоподобные заболевания, диаррею у детей;
- Коксаки В – полиомиелитоподобные заболевания, энцефалит, миокардит, панкреатит, плеврдинию.

Микробиологическая диагностика.

Исследуют кал, отделяемое носоглотки, сыворотку крови.

Вирусологический метод: Заражение культур клеток почек обезьян, HeLa, мышей-сосунков (некоторые серотипы Коксаки А).

Серологический метод: исследование парных проб сыворотки крови в РН, РТГА, РСК, ИФА.

Пикорнавирусы

(семейство *Picornaviridae*)

Род *Enterovirus*.

Вирусы ЕСНО Название от англ. *enteric cytopathogenic human orphans viruses* (кишечные цитопатогенные человеческие вирусы-сироты).

Характерен эпидемический тип заболеваемости, иногда – тысячи и миллионы больных в Европе, Азии, Америке (серозный менингит ЕСНО 11 и ЕСНО 30). Опасны непредсказуемостью: тот или иной клинический синдром может быть вызван разными серотипами и, наоборот, один и тот же серотип может быть причиной различной патологии. В 1980-х годах в Омске, Красноярске и Иркутске произошло 5 вспышек нового заболевания глаз – энтеровирусного увеита, вызванного вирусами ЕСНО 19 и ЕСНО 11, поразившего 750 детей.

Микробиологическая диагностика.

Исследуют кал, отделяемое носоглотки, цереброспинальную жидкость, сыворотку крови.

Вирусологический метод: *Заражение культур клеток почек обезьян.*

Серологический метод: *исследование парных проб сыворотки крови в РН, РТГА, РСК, ИФА.*

Пикорнавирусы

(семейство *Picornaviridae*)

Род *Hepatovirus*.

Вирус гепатита А.

- Вызывает гепатит А – высококонтагиозную инфекцию с развитием воспаления и некробиоза печени; развиваются лихорадка, интоксикация и желтуха.
- Обладает гепатотропизмом, медленным и нецитолитическим типом репродукции.
- После болезни возникает пожизненный иммунитет.

Микробиологическая диагностика.

- Исследуют кал, сыворотку крови.
- РНК вируса определяют с помощью ПЦР, антиген – с помощью ИФА, иммунной ЭМ.
- Исследование парных проб сыворотки крови в ИФА, РИА, РНГА.

Коронавирусы

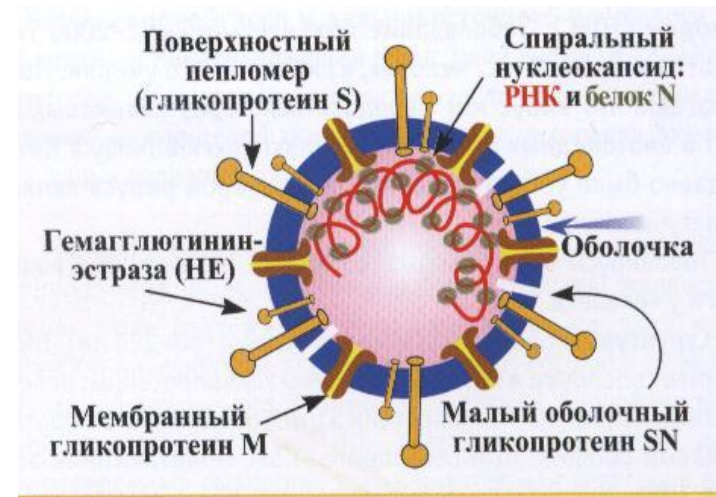
8

(семейство *Coronaviridae*)

Название получили из-за сходства поверхности вириона с солнечной короной. Вызывают респираторные инфекции, инфекции ЖКТ и НС у человека и животных. Коронавирус SARS – Severe acute respiratory syndrome вызывает тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС). В 2002-2003 гг. в Ю-В Азии заболели 8 тыс. человек, умерли 916. Резервуар инфекции – летучие мыши.

Структура.

- Вирионы (80-220 нм) имеют оболочку, куда встроены гликопротеины: S, M, SM, HE.
- Нуклеокапсид – протяженная спираль геномной плюс-нити РНК и белка N.
- Тип симметрии – спиральный.
- Вирус имеет самый большой геном из РНК-содержащих вирусов.



Микробиологическая диагностика.

Вирусы идентифицируют в эпителии носа и глотки с помощью МФА.

Вирусологические методы: культивирование вируса в клетках HeLa и первичной культуре клеток почки эмбриона свиньи.

Молекулярно-генетический метод: ОТ-ПЦР.

Серологические методы: РСК, ИФА, РН.

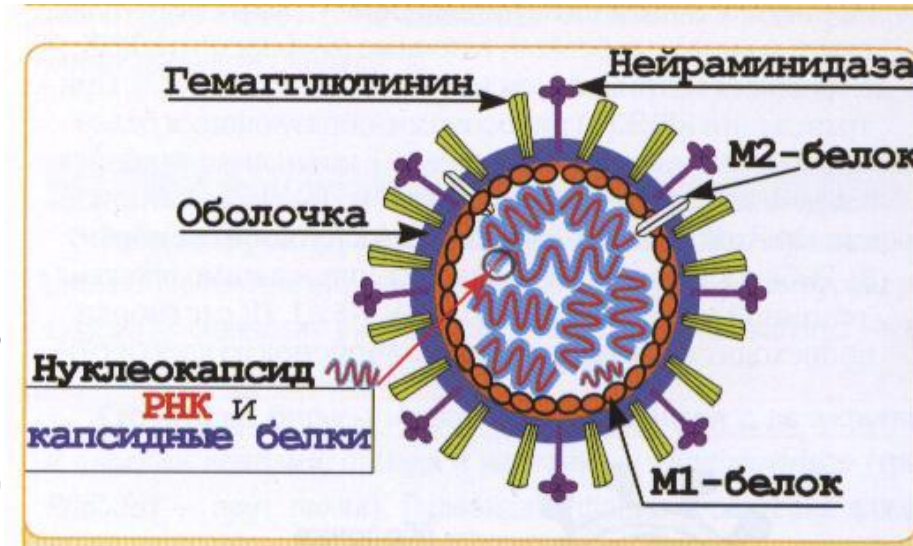
Ортомиксовирусы

(семейство *Orthomyxoviridae*)

Содержит 5 родов, в.т.ч. вирусы гриппа А, поражающие человека и некоторых животных, вирусы гриппа В и С, патогенные только для человека. Вирус гриппа С может инфицировать свиней.

Структура.

- Вирионы плеоморфные: имеют сферическую форму (80-120 нм), встречаются палочковидные и нитевидные формы.
- Нуклеокапсид спиральный; содержит однонитевую, фрагментированную (8 фрагментов у вирусов гриппа А и В, 7 – типа С), минус-РНК, связанную с капсидными белками (нуклеопротеин, полимеразы).
- Вирион окружен оболочкой, на которой выступают гликопротеиновые шипы – гемагглютинин (Н) и нейраминидаза (N).
- Вирусы гриппа человека А представлены тремя гемагглютиниными (Н1, Н2, Н3) и двумя нейраминидазами (N1 и N2).



Антигенная изменчивость.

Дрейф – мутации, изменяющие Н или N; шифт – полная замена Н или N.



Вирус гриппа А, нитевидная форма вириона.

Ортомиксовирусы (семейство Orthomyxoviridae)

Микробиологическая диагностика.

Вирусологические методы: вирус выделяют из носоглоточного смыва или слизи после 48-72 час. подращивания в культуре клеток или амниотической и аллантоисной полости куриного эмбриона. Идентификация вируса с помощью МФА, РСК, РТГА.

Серологические методы: РТГА, РСК, ИФА.

Специфическая профилактика.

Живые аттенуированные и убитые вакцины (цельновирионные, расщепленные и субъединичные, содержащие только Н и N).

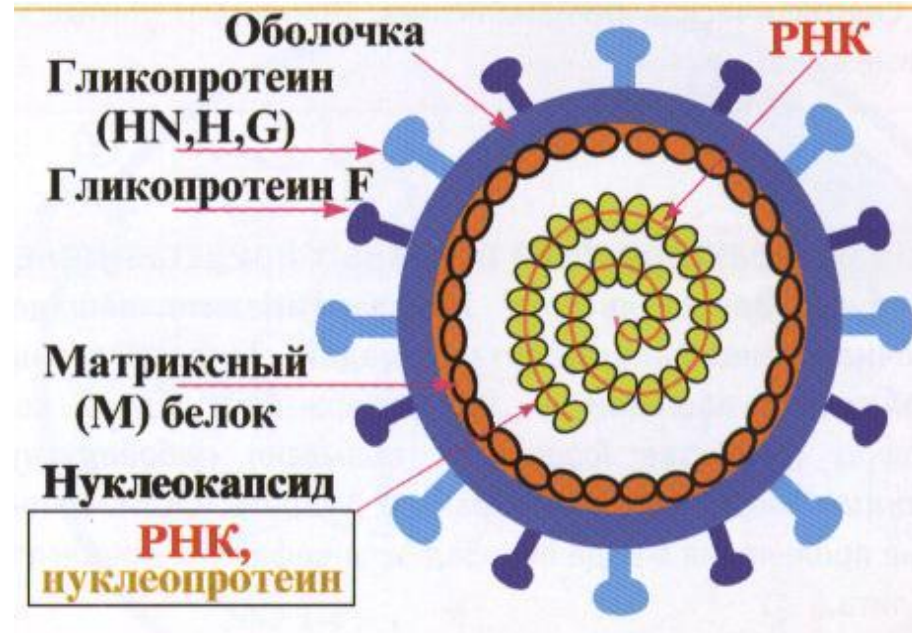
Парамиксовирусы

(семейство *Paramyxoviridae*)

Содержит 2 подсемейства и 7 родов., в.т.ч. вирусы парагриппа, кори, паротита). Передаются респираторным механизмом.

Структура.

- Вирион (150-300 нм), окружен оболочкой с гликопротеиновыми шипами.
- Спиральный нуклеокапсид состоит из нефрагментированной линейной однонитевой минус-РНК, связанной с белками: нуклеопротеидом (NP), полимеразой (P) и большим (L) белком.
- Нуклеокапсид ассоциирован с матриксным белком (M), расположенным под оболочкой вириона.
- Гликопротеиновые шипы: 1) F – белок слияния, 2) прикрепительный белок (гемагглютинин-нейраминидаза HN, гемагглютинин H или G белок).



Основные представители семейства *Paramyxoviridae*.

Вирус кори.

Относится к роду *Morbillivirus*. Вызывает корь – острую инфекционную болезнь, характеризующуюся лихорадкой, катаром ВДП и воспалением глаз, пятнисто-папулезной сыпью на лице, теле, конечностях.

Редко вызывает медленную вирусную инфекцию со смертельным исходом – подострый склерозирующий панэнцефалит (ПСПЭ).

Основной путь передачи вируса кори воздушно-капельный, реже – контактный.

Микробиологическая диагностика.

Исследуют смыв с носоглотки, соскобы с элементов сыпи, кровь, мочу.

Идентификация – МФА, РТГА и РН.

Характерно наличие многоядерных клеток и АГ вируса в них.

Молекулярно-биологические методы: ОТ-ПЦР.

Серологические методы: РСК, РТГА, ИФА, РН.

Специфическая профилактика.

Детям 1-го года жизни подкожно вводят живую коревую вакцину из аттенуированных штаммов, ревакцинация – в 6-летнем возрасте.

В очагах кори ослабленным детям вводят нормальный иммуноглобулин.

Парамиксовирусы (семейство *Paramyxoviridae*)

Основные представители семейства.

Вирус парагриппа человека (ВПГЧ).

Вызывает катар ВДП, ларинготрахеобронхит, бронхиолит, пневмонию.

Микробиологическая диагностика.

Вирус обнаруживают в эпителиальных клетках носоглотки с помощью ИФА.

Серологические методы: нарастание титра антител в парных сыворотках определяют методами РСК, РТГА, РН.
Для выявления АГ вируса используют ИФА.

Парамиксовирусы (семейство *Paramyxoviridae*)

Основные представители семейства.

Вирус эпидемического паротита (род *Rubulavirus*).

Вызывает эпидемический паротит («свинку») – острую инфекцию с поражением околоушных слюнных желез. Передается аэрозольным путем, реже – через загрязненные слюной предметы.

Микробиологическая диагностика.

Вирусологические методы: вирус выделяют из слюны, цереброспинальной жидкости, мочи, заражая культуру клеток или развивающийся куриный эмбрион. Идентификация – с помощью МФА, РТГА, РСК.

Молекулярно-биологический метод: ПЦР.

Серологические методы: нарастание титра антител в парных сыворотках определяют методами РСК, РТГА, ИФА.

Флавивirusы

16

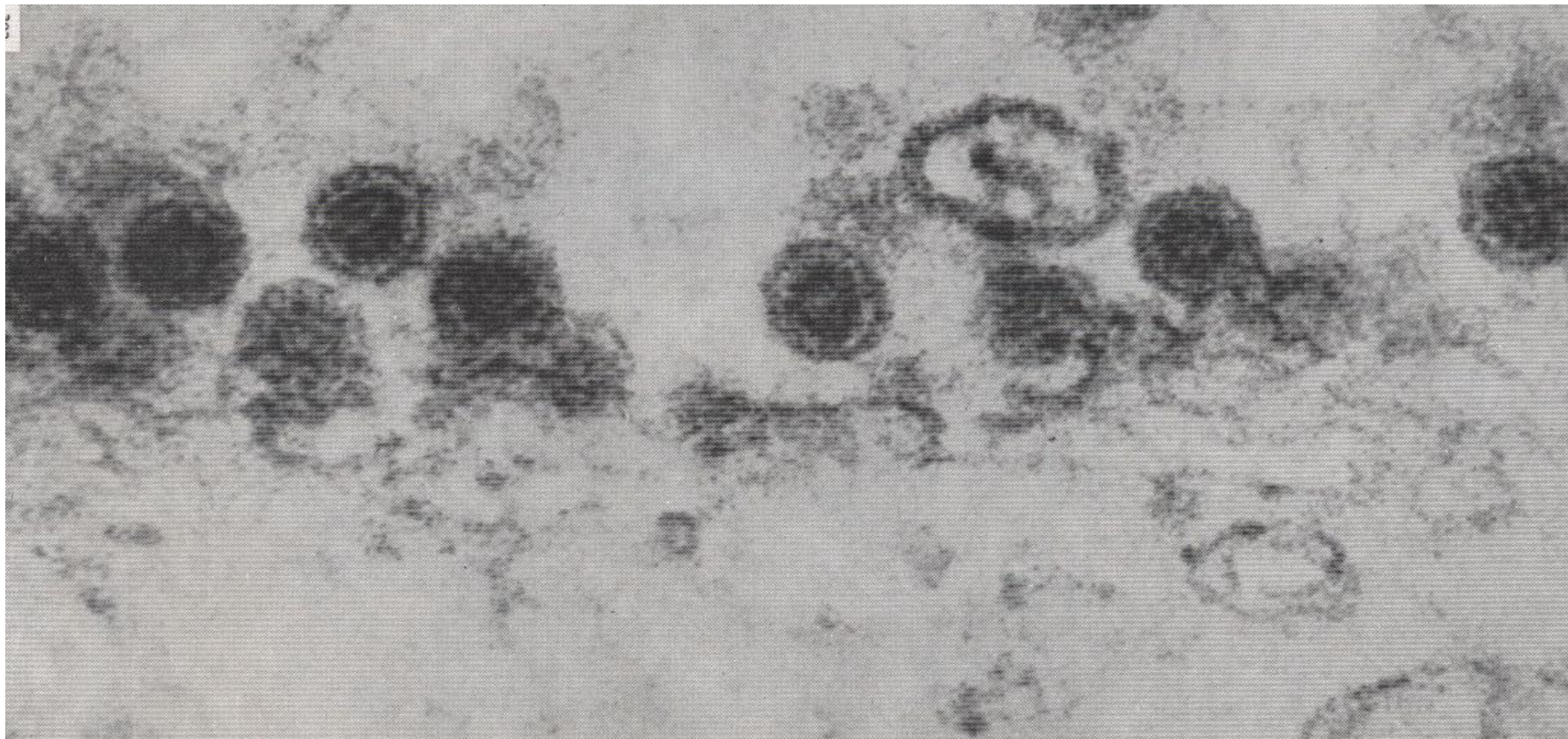
(семейство *Flaviviridae*)

От лат. *flavus* – желтый по типовому вирусу желтой лихорадки. Большая часть членов семейства относится к экологической группе арбовирусов. Состоит из 3 родов.

Структура.

- Вирион сферической формы, 40-60 нм.
- Вирион состоит из икосаэдрического капсида, оболочки и генома в виде однонитевой линейной плюс-РНК.
- Оболочка состоит из двух белков, один из них (белок Е) является гемагглютинином и отвечает за прикрепление к рецептору клетки, антигенные и иммуногенные свойства вируса.





Вирус клещевого энцефалита

Флавивирусы

(семейство *Flaviviridae*)

Основные представители семейства.

Вirus клещевого энцефалита (род *Flavivirus*).

Вызывает арбовирусную инфекцию (переносится клещами), характеризующуюся лихорадкой, энцефалитом, вялыми парезами и параличами.

Микробиологическая диагностика.

Вирусологические методы: вирус выделяют из крови, цереброспинальной жидкости, при заражении мышей-сосунков в мозг или культуры клеток.

Идентификация – в РН, МФА, ИФА.

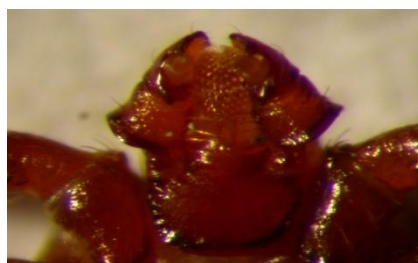
Молекулярно-биологические методы: ПЦР.

Серологические методы: нарастание титра антител в парных сыворотках и наличие вирусного АГ определяют методами РСК, РТГА, РН, ИФА.

Специфическая профилактика.

Применяют инактивированную вакцину.

Иксодовые клещи – членистоногие хозяева и переносчики вируса клещевого энцефалита



Флавивирусы

(семейство *Flaviviridae*)

Основные представители семейства.

Вirus японского энцефалита (род *Flavivirus*) .

Вызывает арбовирусную инфекцию (переносится комарами), сопровождающуюся лихорадкой, интоксикацией менингоэнцефалитом.

Вirus лихорадки Западного Нила (род *Flavivirus*) .

Вызывает арбовирусную инфекцию (переносится комарами и клещами), характеризуется лихорадкой, менингоэнцефалитом, кожными экзантемами, полиаденитом.

Вirus денге (род *Flavivirus*) .

Вызывает арбовирусную инфекцию (переносится комарами) в виде геморрагической диареи, интоксикации, мышечных и суставных болей. Резервуар вируса – обезьяны, комары.

Микробиологическая диагностика.

Вirus выделяют на н.б.м., в культуре клеток.

Для выявления вирусной РНК используют ОТ-ПЦР.

Антитела определяют методами РСК, РТГА, РН, ИФА.

Флавивирусы (семейство *Flaviviridae*)

Основные представители семейства.

Вirus гепатита С (HCV) (род *Hepacivirus*).

Вызывает гепатит С – антропонозную инфекцию с преимущественным поражению печени и склонную к хронизации. Вирус передается парентеральным механизмом и половым путем.

Микробиологическая диагностика.

В сыворотке крови определяют РНК вируса с помощью ПЦР, молекулярной гибридизации.

Антитела выявляют в ИФА и иммуноблоттинге.

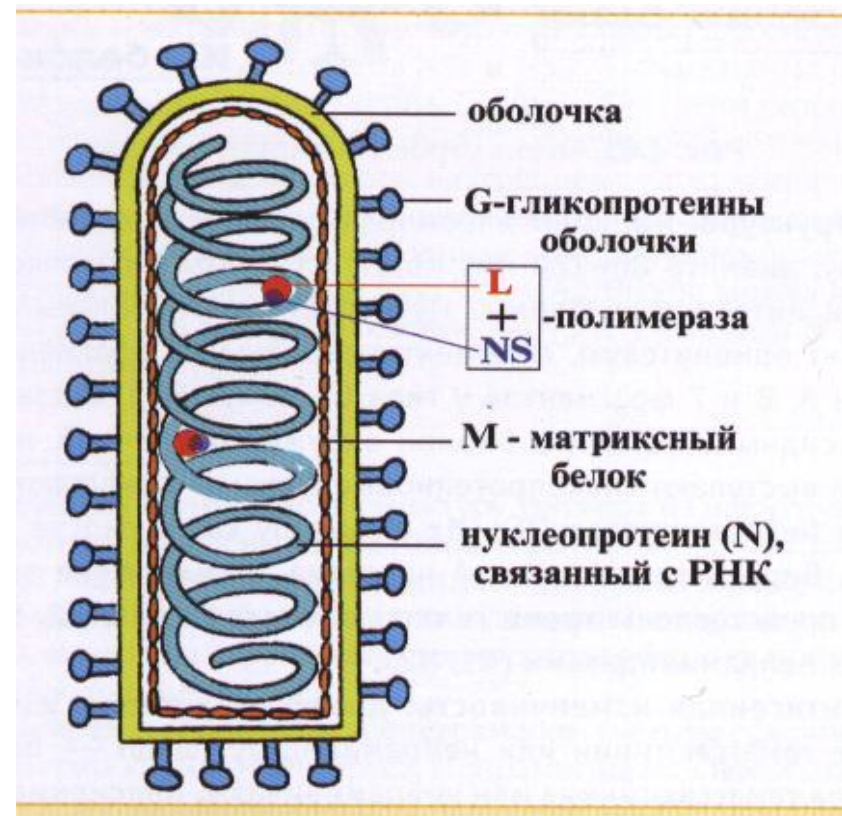
Рабдовирусы

(семейство *Rabdoviridae*)

От греч. *rhabdos* – прут, палка (связано с формой вирусной частицы).
Семейство включает 2 рода и 80 вирусов, включая вирус бешенства.

Структура (вируса бешенства).

- Вирион имеет форму пули размером 75-180 нм.
- Вирион состоит из сердцевин (рибонуклеопротеин спиральной симметрии и матриксный белок), окруженной липопротеиновой оболочкой.
- Снаружи от оболочки отходят шипы гликопротеина G, который отвечает за адсорбцию и внедрение вируса в клетку, обладает антигенными и иммуногенными свойствами.
- Геном представлен однонитевой линейной минус-РНК.
- С РНК ассоциированы N-белок в виде чехла, L- и NS-белки, являющиеся полимеразой вируса.



Рабдовирусы (семейство *Rhabdoviridae*)

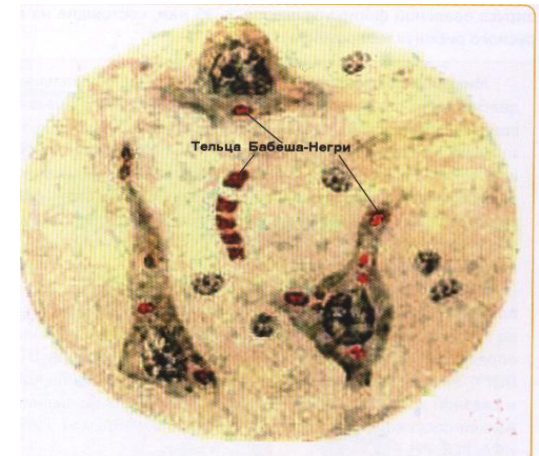
Основные представители семейства.

Вирус бешенства (род *Lyssavirus*, вид *Rabies virus*).

Вызывает бешенство (водобоязнь, гидрофобия), развивающееся после укуса или ослюбления инфицированным животным. Вирус продвигается по нервным волокнам в ЦНС, где размножается в сером веществе. Развиваются возбуждение, паралич дыхательной и глотательной мускулатуры с летальным исходом.

Микробиологическая диагностика.

Вирус культивируют путем внутримозгового заражения кроликов, белых мышей, крыс, хомячков, морских свинок и др., а также культур клеток. В нейронах головного мозга зараженных животных образуются цитоплазматические включения, содержащие АГ вируса (тельца Бабеша-Негри).



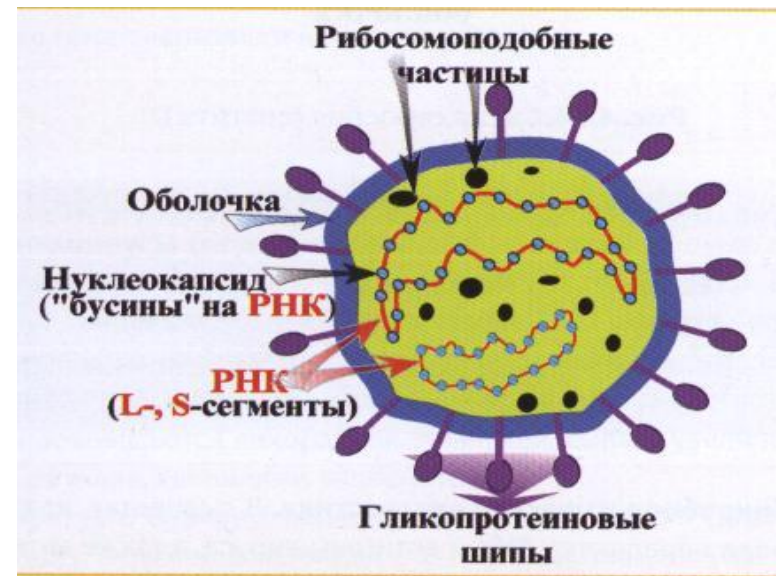
Ареनावирусы

(семейство *Arenaviridae*)

От греч. *arenosa* – песчаный (из-за рибосом в вирионе, похожих на песчинки). Семейство включает вирусы Ласса, Хунин, Мачупо, вызывающие тяжелые геморрагические лихорадки.

Структура и репродукция.

- Вирион имеет сферическую или овальную форму, 50-300 нм.
- Вирион снаружи окружен оболочкой с булавовидными гликопротеиновыми шипами GP1 и GP2.
- Под оболочкой расположены 12-15 клеточных рибосом.
- Капсид спиральный.
- Геном представлен двумя сегментами (L, S) однонитевой минус-РНК, кодирует пять белков.
- Вирион содержит транскриптазу (L-белок), РНК-полимеразу.
- Репродукция в цитоплазме.
- После сборки и включения в вирион рибосомоподобных частиц происходит его почкование через плазматическую мембрану клетки.



Ареनावирусы (семейство *Arenaviridae*)

Микробиологическая диагностика.

Вирусологические методы: вирус выделяют (из крови, отделяемого глотки, из плевральной, цереброспинальной жидкости, мочи) при заражении культуры клеток, н.б.м., хомячков.

Идентификация – в РСК, РН, МФА, ИФА.

Серологические методы: АТ в сыворотке крови выявляют в РСК, МФА, ИФА.

Специфическая профилактика.

Разрабатываются вакцины.

Ретровирусы

(семейство *Retroviridae*)

26

Семейство, объединяет около 150 видов однопитевых РНК-содержащих, обратнотранскрибирующих оболочечных вирусов.

Включает 7 родов.

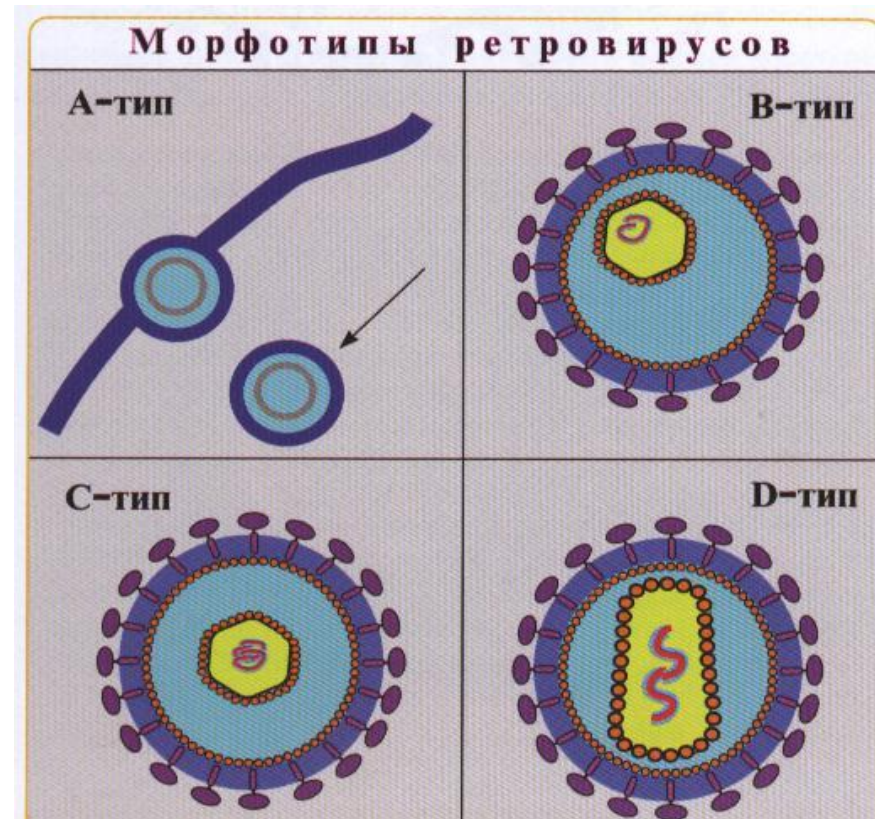
Морфология.

А-тип – незрелые внутрицитоплазматические формы; почкуясь через цитоплазматическую мембрану превращаются в различные зрелые частицы.

В-тип – эксцентрично расположенная нуклеокапсидная сердцевина в зрелом вирионе.

С-тип – центрально расположенная нуклеокапсидная сердцевина в зрелом вирионе.

Д-тип – нуклеокапсидная сердцевина цилиндрической формы в зрелом вирионе.



Ретровирусы (семейство *Retroviridae*)

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ),
род *Lentivirus*.

ВИЧ-1, ВИЧ-2 (HIV-1, HIV-2) вызывают у человека ВИЧ-инфекцию, терминальной стадией которой является СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита). ВИЧ-инфекция характеризуется преимущественным поражением иммунной системы, длительным течением, полиморфными клиническими проявлениями и высокой летальностью. Путь передачи – половой, через кровь, грудное молоко, трансплацентарно.

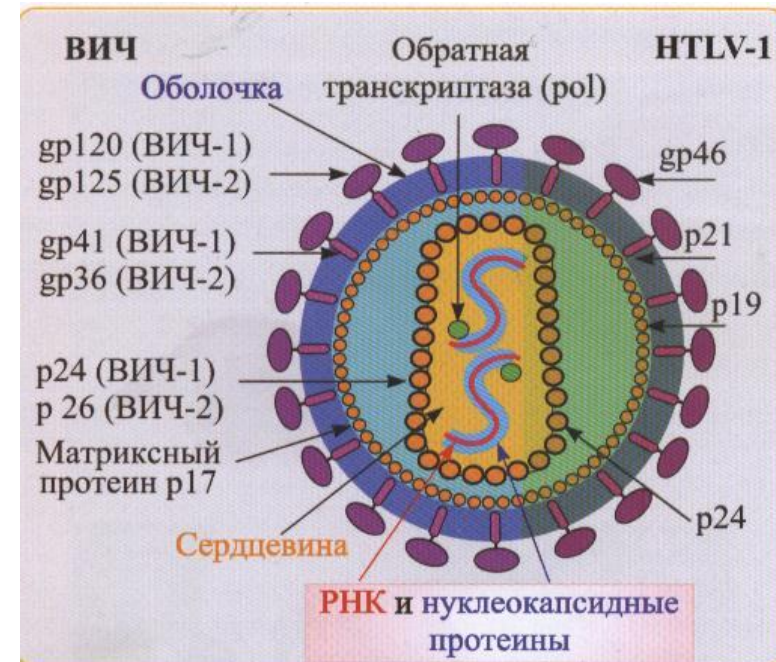
Ретровирусы

(семейство *Retroviridae*)

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), род *Lentivirus*.

Структура.

- Вирион имеет сферическую форму, 100 нм.
- Имеется внешняя оболочка.
- Оболочка содержит белки: поверхностные групповые гликопротеины *gp120* и *gp41*.
- Капсид икосаэдрический. Сердцевина имеет вид усеченного цилиндра.
- Под оболочкой – матриксный белок *p17*, капсидный белок *p24*, нуклеокапсидные протеины (*p7*, *p9* и др.), протеаза (*p10*, *p11*), интеграза (*p31-32*), обратная транскриптаза (*p66/p51*).
- Геном – две идентичные копии плюс-нитей РНК. Геном ВИЧ-2 отличается от генома ВИЧ-1 структурой некоторых генов.



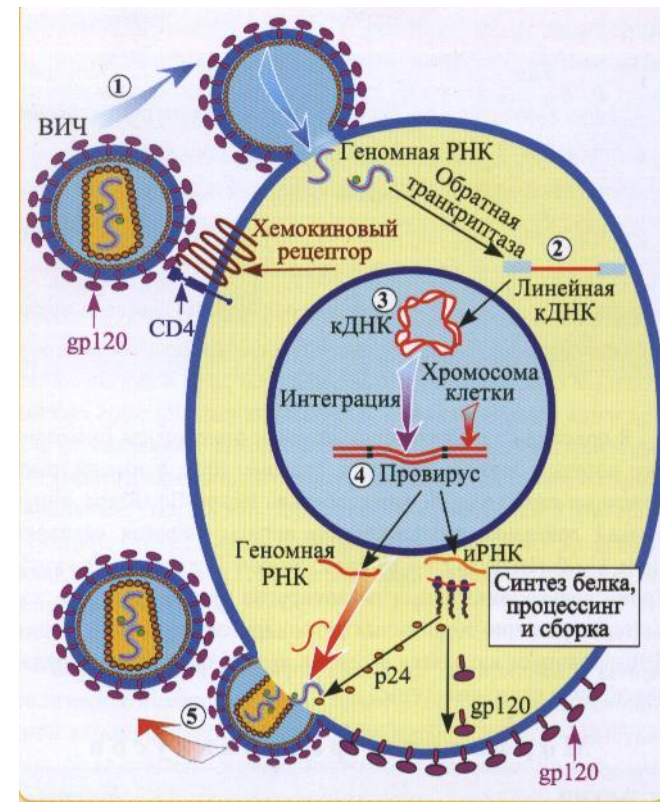
Ретровирусы

(семейство *Retroviridae*)

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), род *Lentivirus*.

Репродукция.

- Вирус (1) связывается гликопротеином *gp120* с рецептором CD4 Т-хелперов и клеток макрофагального происхождения (макрофаги, дендритные и микроглиальные клетки).
- ВИЧ входит в клетку путем слияния оболочки с плазматической мембраной клетки.
- В цитоплазме вирион высвобождает геномную РНК.
- С помощью вирусной обратной транскриптазы на матрице РНК синтезируется кДНК (2).
- кДНК вируса интегрируется с ядерной ДНК клетки посредством вирусной интегразы (3).
- ДНК-провирус в ядре клетки (4) может быть: а) латентным, б) быть основой синтеза геномной вирусной РНК и иРНК.
- иРНК обеспечивает синтез вирусных белков.
- В цитоплазме происходит сборка вирионов и выход из клетки путем почкования (5).
- Сердцевина вируса «одевается» в измененную плазматическую мембрану.



Ретровирусы (семейство *Retroviridae*)

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), род *Lentivirus*.

Микробиологическая диагностика.

Молекулярно-генетические методы: ПЦР и молекулярная гибридизация.

Серологические методы: ИФА – тест первого уровня для выявления ВИЧ-инфицированных. В сыворотке крови определяют АТ к белкам gp120, p24

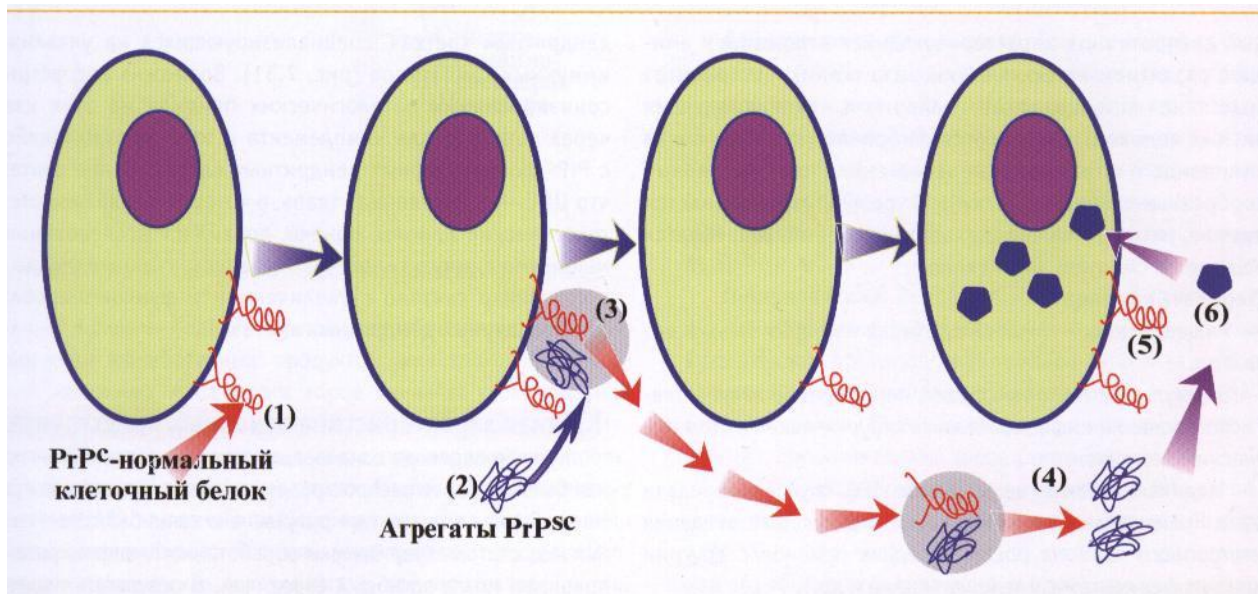
Результат ИФА подтверждается иммуноблоттингом. Положительными считают результаты при обнаружении антител к белкам ВИЧ – p24, p31, p41, gp120.

Прионы – это белковые инфекционные частицы.

Прионный белок обозначается как **PrP** (*prion protein*). Он может быть в двух изоформах: клеточной, нормальной (PrP^{C}) и измененной, патологической (PrP^{SC}). Патологические прионы относят к возбудителям конформационных болезней, вызывающих диспротеиноз.

Прионные болезни характеризуются длительным инкубационным периодом, дегенеративными изменениями в ЦНС, медленным неуклонным прогрессированием заболевания и летальным исходом.

Схема пролиферации прионов



- PrP^{C} - нормальный белок, заякоренный в мембране клетки (1).
- PrP^{Sc} глобулярный гидрофобный белок, образующий агрегаты с собой и с PrP^{C} на поверхности клетки (2).
- В результате PrP^{C} (3) преобразуется в PrP^{Sc} (4).
- Патологическая форма PrP^{Sc} накапливается в нейронах, придавая клетке губкообразный вид.

Прионы – неканонические патогены, вызывающие губкообразные энцефалопатии человека (Куру, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, семейная фатальная бессонница и др.) и животных (скрепи овец и коз, трансмиссивная энцефалопатия норок, хроническая изнуряющая болезнь находящихся в неволе оленя и лося, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, губкообразная энцефалопатия кошек).

Животные заражаются per os. Некоторые агенты, вызывающие прионные болезни накапливаются сначала в лимфоидных органах. Попадая в мозг, прионы накапливаются в больших количествах, вызывая амилоидоз (диспротеиноз, характеризующийся отложением амилоида с развитием атрофии и склероза ткани) и астроцитоз (разрастание астроцитарной нейроглии, гиперпродукция глиальных волокон). Изменяется поведение, нарушается координация движений, развивается истощение со смертельным исходом.