

ЛЕКЦИЯ: ВВЕДЕНИЕ В ВИРУСОЛОГИЮ

•План лекции:

1. Предмет Вирусология.
2. История развития вирусологии.
3. Достижения вирусологии. Связь вирусологии с другими науками.
4. Методы исследования в вирусологии.

• 1. *Предмет вирусологии*

- Вирусология (vira-яд) – биологическая наука о вирусах - мельчайших, невидимых невооруженным глазом организмах, не имеющих клеточного строения, белоксинтезирующей системы и содержащих только ДНК или РНК.
- Вирусология - наука, изучающая строение, структуру, их биологические свойства, методы диагностики, лечения и профилактики болезней, вызванных вирусами.

- **Задачи ветеринарной вирусологии**

- -Изучение структуры, химического состава, биологии, генетики и селекции вирусов, взаимодействие вируса и клетки, устойчивость вирусов к различным факторам;
- -Разработка эффективных методов борьбы с вирусными болезнями;
- -Совершенствование существующих и разработка новых методов диагностики вирусных болезней.

- Для ликвидации вирусных заболеваний животных и недопущения их заноса на территорию России и на отдельные территории и животноводческих комплексов необходимо предпринимать самые строгие меры. Это прежде всего вакцинация восприимчивого поголовья (ящур, болезнь Ньюкасла), недопущение заноса заболеваний, своевременная диагностика.

- **Общая вирусология** – изучает природу и происхождение вирусов, их классификацию, строение, химический состав, генетику и селекцию, устойчивость к физико-химическим воздействиям, общие механизмы взаимодействия вируса и клетки, вируса и макроорганизма, основы противовирусного иммунитета, общие признаки (клинику) вирусных болезней, методы диагностики и профилактики.

- **Частная вирусология** — изучает систематическое положение конкретных возбудителей, строение, размеры и устойчивость вирионов, лабораторные методы культивирования вирусов, антигенные свойства, эпизоотологические особенности вызываемого заболевания, методы диагностики, терапию и специфическую профилактику.

• 2. История развития вирусологии

- История становления вирусологии как науки отличается от многих других наук тем, что вирусология зародилась в недрах микробиологии и начала развиваться задолго до того, как были открыты сами вирусы.

- **I период** (древнейший мир - 1892). Вирусология как наука не существовала, а все исследования носили эмпирический характер. В это время **Л. Пастер** занимается бешенством. Создав первую вакцину против вирусного заболевания, он, однако, не раскрыл сущности вирусов.
- В последующем английским врачом **Э. Дженнером** предложена вакцина против оспы людей как метода иммунизации людей против этого заболевания.

Эдвард Женнер

(1749-1823)

**Открыл безопасный
способ борьбы с
натуральной оспой.
Создал первую вакцину
(1796).**

**О Женнере потом
сказали:**

**«Ни один врач не спас
жизнь такому
значительному
числу людей,
как этот человек».**



В 1885 году **Луи Пастером** была разработана вакцина от бешенства— заболевания, которое в 100% случаев заканчивается смертью больного. Используя для этого аттенуированные путем пассажа на животных вирусы



- **В 1886 году немецкий ученый А. Мейер,** работавший в Голландии, показал, что сок растений, больных мозаичной болезнью, вызывает у здоровых растений такое же заболевание. Мейер был уверен, что виновник болезни микроб, и в течение ряда лет безуспешно искал его.

- **II период (1892-1940 гг.) – организменный период**

В 1892 году произошло знаменательное событие в истории вирусологии – был открыт вирус мозаичной болезни табака. Открытие вируса стало возможным благодаря разработке бактериальных фильтров, задерживающих все виды бактерий, но пропускающих из-за малых размеров вирусы.

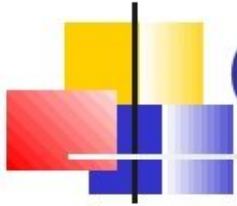
- Первооткрывателем вирусов является русский ученый **Дмитрий Ивановский**, который, пропуская экстракт листьев табака, зараженных вирусом мозаичной болезни через бактериальные фильтры, обнаружил сохранение его инфекционности. Однако им был сделан вывод об инфекционности неизвестного токсина в исследуемом экстракте, а не мельчайших биологических объектов, проходящих через бактериальные фильтры.

Д. Ивановский опроверг утверждение Мейера о том, что сок больных растений теряет свои заразные свойства после фильтрования через двойной слой фильтровальной бумаги.

Д. Ивановский показал, и в этом главное значение его открытия, что сок сохраняет свои инфекционные свойства после пропускания через свечи Пастера — Шамберлена, сделанные мелкопористой глины, которая удаляет из жидкости любые видимые в микроскоп организмы, любые бактерии. **Так было доказано существование патогенных агентов, намного меньших, чем все известные в ту пору микроорганизмы.**

Открытие вирусов

(1892 г)



Табачная мозаика



Д.И. Ивановский

История открытия

**1892 г. Дмитрий Ивановский
обнаружил вирус табачной
мозаики**



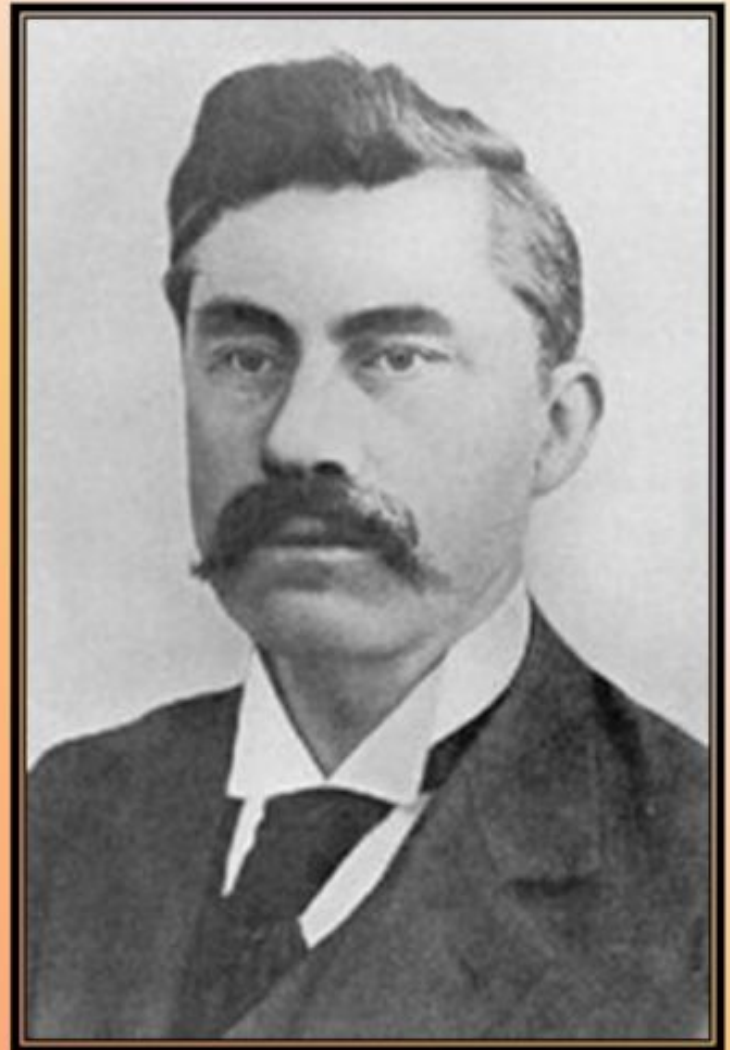
**1898 г. Мартин
Бейеринк ввел термин
«вирус» (от лат. яд)**



- **После открытия Ивановского в 1896 датский микробиолог М. Бейеринк повторил его опыты и подтвердил, что агент, вызывающий мозаичную болезнь табака, свободно проходит через фарфоровые фильтры.**
- **После этих опытов Бейеринк написал, что причиной болезни является вирус, который скорее всего находится в жидком или растворенном состоянии и не является плотной частицей».**

В 1895 г. ввел название
вирус
(от лат. Virus – т.е.
«отрава», «яд»)

Голландский микробиолог
и ботаник



Бейеринк Мартин
Виллем (1851 — 1931)

В 1898 г германские микробиологи **Ф. Леффлер** и **П. Фрош** показали, что ящур, эпидемическая болезнь крупного рогатого скота, также вызывается фильтрующимся агентом — вирусом. Бейеринк написал по этому поводу научную статью, где заявил, что он не может согласиться с господином Леффлером в отношении корпускулярной природы возбудителя ящура, так как вирус должен быть жидким веществом.

В **1901** году **В. Рид** и его сотрудники установили, что возбудитель желтой лихорадки, тяжелой тропической болезни людей, также проходит через фильтры и является вирусом.

В **1915** году **Ф. Д'Эрель** открыл вирусы, паразитировавшие внутри различных микробов. Оказалось, что микробы тоже заражаются и гибнут от своих «микробных» вирусов. Д'Эрель назвал их бактериофагами, то есть «пожирателями микробов». Он придумал даже специальную окраску, с помощью которой сумел увидеть вирусы под сильным увеличением обычного оптического микроскопа.

Феликс д'Эрель

французско-канадский
микробиолог, открыл
в 1917 г

бактериофаги –
вирусы, поражающие
бактерии.



- **1897 г. – открыт вирус ящура (Леффлер и Фрош).**
- **1902 г. – изучены оспенные вирусы, вирус болезни Ауески.**
- **1908 г. – изучен вирус лейкоза кур.**
- **1911 г. – вирус саркомы Рауса.**
- **1916 г — вирус кори;**
- **1917 г — вирус герпеса,**
- **1930-е гг. - изучены все лейкозные вирусы.**
- **1982 г - вирус СПИД**
- **1997 г – открыты прионы.**
 - Этот список свидетельствует, что метод фильтрования материалов через фарфоровые фильтры позволил ученым быстро разграничивать мир вирусов от мира микробов и открывать одного за другим возбудителей вирусных болезней.

- **1932** году крупный английский химик **В. Элфорд** создает искусственные мелкопористые коллоидные мембраны с точно установленным размером отверстий в пределах от 50 до 300 нанометров. (Раньше эти величины называли миллимикронами, а теперь обозначают термином «нанометр», что значит — миллиардная доля метра.)
- Пропуская через эти мембраны растворы, содержавшие некоторые бактериофаги и вирус осповакцины, Элфорд устанавливает их размеры. Этот метод ультрафильтрации широко используется для определения размеров вирусов.

- Когда ученые исследуют вирусы, поражающие животных, растения, микробов, они используют в качестве модели соответствующие виды животных, растений и микроорганизмов. Иное дело, когда пытаются выделить вирус от человека. Приходится каждый раз отыскивать таких лабораторных животных, в организме которых вирус сможет размножиться и вызвать развитие определённой клинической картины болезни.

В 1931 году американские исследователи М. Вудруф и Э. Гудпасчер изобрели метод культивирования вирусов в развивающемся курином эмбрионе. После 7— 10 дней инкубации в куриное яйцо вводили материал, содержащий вирусы.

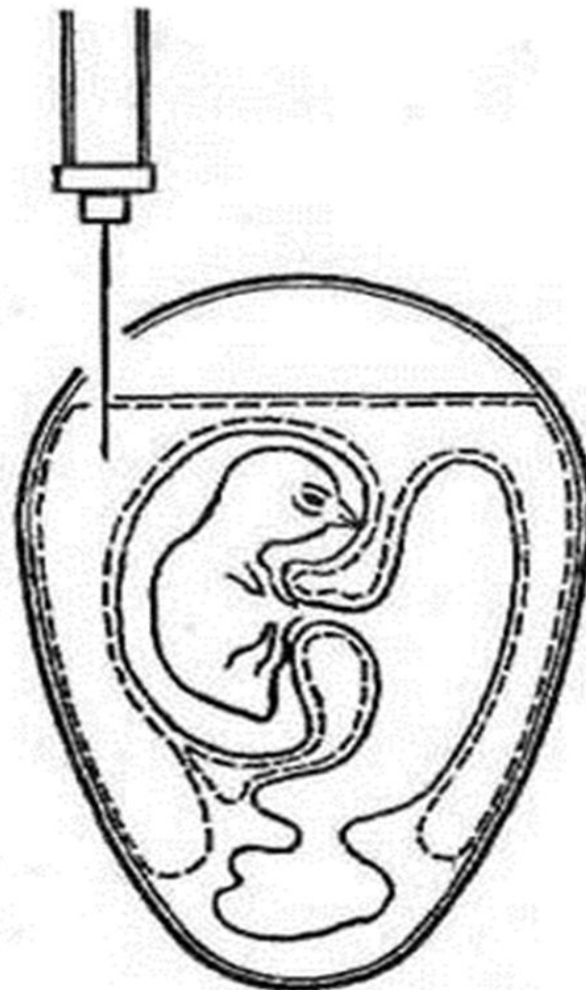
- Метод отличался гораздо большей чувствительностью и исключал возможность случайного загрязнения исследуемого материала спонтанными вирусами, которые нередко находятся в организме лабораторного животного. Яичная скорлупа делала внутреннее содержимое яйца вполне герметичным и препятствовала проникновению извне чужеродных вирусов и бактерий. В курином яйце не развивались антитела, и вирусы могли беспрепятственно размножаться.

- Заражение куриного эмбриона в аллантоисную полость



Заражение куриного эмбриона в аллантоисную полость

При заражении этим методом размножаются вирусы гриппа, ньюкаслской болезни, ринопневмонии лошадей



III период (1940- 1960 гг.). Широкое использование в вирусологии получают культуры клеток, что дало возможность культивировать вирусы, изучать их культуральные свойства, получать вакцины. Было доказано, что вирусы способны репродуцироваться только в живой клетке, вызывая при этом специфические изменения морфологии клеток (цитопатическое действие – ЦПД) или функциональное нарушение метаболизма клеток (цитопатический эффект – ЦПЭ). Этот уровень развития вирусологии назван **КЛЕТОЧНЫМ**.

- Наиболее быстрое развитие вирусологии началось после 1948 года, когда Д. Эндерс, известнейший американский исследователь-вирусолог, впоследствии лауреат Нобелевской премии, разработал метод так называемых однослойных тканевых культур.

- Любые кусочки живых тканей, взятые от человека, животных, насекомых, растений, после их обработки раствором особого фермента — трипсина, получаемого из поджелудочной железы коров, распадаются на отдельные клетки. После удаления трипсина клетки приобретают способность жить в искусственных условиях, внутри стеклянных пробирок или флаконов с небольшими количествами питательной среды. В таких благоприятных условиях клетки активно размножаются, постепенно покрывают тонким слоем поверхность стекла и могут существовать в течение большого промежутка времени. Нужно лишь поместить их в термостат при температуре 37 градусов Цельсия.

Такие культуры клеток хорошо поддерживали рост различных вирусов. С помощью метода тканевых культур за последние двадцать лет удалось подробно изучить, как живут и размножаются многие известные вирусы. Кроме того, этот метод позволил выделить и исследовать несколько сот ранее неизвестных вирусов.

- **IV период (1970 г. – наши дни).** Вирусы стали использовать для изучения фундаментальных проблем генетики, молекулярной биологии. Ведется производство разнообразных вирусных вакцин диагностических препаратов. Этот уровень развития вирусологии назван **МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИМ.**

,

• **3. Достижения вирусологии. Связь вирусологии с другими науками**

- За последние годы изучены многие свойства вирусов, предложены новые методы диагностики — ИФА, ПЦР, метод ДНК-зондов. Все достижения вирусологии стали возможны только путем совершенствования старых методов исследования.
- Благодаря усилиям вирусологов полностью ликвидирована оспа человека, ученые близки к искоренению ветрянки, вирусного паротита человека. Были предложены вакцины против полиомиелита.
- В 1935 году создана Центральная вирусная лаборатория.

- Также было доказано, что противовирусные вакцины небезопасны. Изучена роль вирусов в экологии, ассоциации вирусов при различных болезнях. Доказана способность вирусов длительно персистировать в организме человека и животных.
- **Вирусология тесно связана с микробиологией. В вирусологии используются все те же методы, применяемые в микробиологии, так как она развивалась в недрах микробиологии и долгое время была ее неотъемлемой**

- Кроме того, вирусология тесно связана с другими биологическими науками — биохимией, генетикой, химией, гистологией, фармакологией и др.
- Вирусология является базой для развития эпизоотологии и некоторых других наук. Вирусы являются уникальными объектами для изучения нуклеиновых кислот и других вопросов генетики.

•4. Методы исследования в вирусологии

1. ВИРУСОСКОПИЧЕСКИЙ. Этот метод исследования основан на использовании различных видов микроскопов: *световой, люминесцентный* (МИФ — метод иммунофлуоресценции, метод флуорохромирования), *электронный* (изучение морфологии вирусов). Световая вирусоскопия позволяет выявлять крупные вирусы (вирусы оспы, эктимы овец), обнаруживать внутриклеточные включения, а также регистрировать цитопатическое действие вирусов на чувствительных тест-объектах.

- **Метод флуорохромирования** люминесцентной вирусоскопии основан на свечении (люминесценции) вирусов после обработки их веществами – флуорохромами. Этот метод позволяет решать все те же задачи, что и световая вирусоскопия, однако за счет различного свечения двух типов нуклеиновых кислот вирусов дает возможность дифференцировать вирусы по содержанию нуклеиновой кислоты.
- **Метод иммунофлуоресценции** люминесцентной вирусоскопии основан на специфическом взаимодействии вирусного антигена с антителами, меченными флуорохромами. Этот метод позволяет идентифицировать вирусы.

- **Электронная вирусоскопия** позволяет визуально наблюдать вирусные частицы за счет формирования изображения в электронном микроскопе потоком электронов. При этом становится возможным изучать морфологию вирионов, что позволяет дифференцировать вирусы по семействам (прямая электронная вирусоскопия), либо наблюдать взаимодействие вирусов и антител, что позволяет проводить дифференциацию вирусов по видам (непрямая иммунная вирусоскопия).

2. ВЫДЕЛЕНИЕ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ВИРУСОВ. Этот метод исследования основан на способности вирусов репродуцироваться (культивироваться) в живых клетках. В вирусологической практике нашли широкое применение *три типа тест-объектов: РКЭ (развивающиеся куриные эмбрионы), культуры клеток и организм лабораторных животных.* Использование этих тест-объектов позволяет обнаруживать присутствие вирусов в исследуемом материале, поддерживать его в активном состоянии, титровать вирусы, изучать их патогенные свойства, проводить постановку реакции нейтрализации и получать вакцины для профилактики вирусных инфекций.

3. БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД.

Этот метод исследования заключается в постановке биопробы на лабораторных животных и естественно восприимчивых животных с целью изучения патогенности вирусов.

4. СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ.

В основе этого метода лежит постановка серологических реакций, т.е. реакций взаимодействия антигена с антителом *in vitro*. При этом возможно проводить идентификацию вируса, а также обнаруживать противовирусные антитела в сыворотке крови животных. Это основной метод диагностики вирусных инфекций, требующий минимум затрат и времени для проведения исследования.

