

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УО «ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
КАФЕДРА КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

МЕДИЦИНСКАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Учебное пособие

Под ред. д.м.н., профессора И.И. ГЕНЕРАЛОВА

**Допущено Министерством образования
Республики Беларусь в качестве учебного пособия
для студентов учреждений высшего образования
по специальности «Лечебное дело»**

**ВИТЕБСК
2017**

УДК 61:578(042.314)

ББК 52.63я73

М 42

Рецензенты:

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

УО «Гомельский государственный медицинский университет»

(зав. кафедрой к.м.н., доц. Д.В. Тапальский)

В.М. Цыркунов, д.м.н., профессор,

кафедра инфекционных болезней

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Генералов, И.И.

М 42 Медицинская вирусология: учебное пособие / И.И. Генералов, Н.В. Железняк, В.К. Окулич, А.В. Фролова, И.В. Зубарева, А.М. Моисеева, С.А. Сенькович, В.Е. Шилин, А.Г. Денисенко, А.Г. Генералова. Под ред. И.И. Генералова. - Витебск, ВГМУ, 2017.- 307 с.

ISBN 985-985-466-898-7

Учебное пособие «Медицинская вирусология» написано в соответствии с типовой учебной программой по микробиологии, вирусологии, иммунологии.

Рассматриваются вопросы общей и частной медицинской вирусологии, включающие классификацию и характеристику свойств вирусов – возбудителей заболеваний человека, патогенез и основные клинические проявления вирусных инфекций, лабораторную диагностику, лечение и профилактику вирусных заболеваний.

Предназначается для студентов учреждений высшего медицинского образования, обучающихся по специальности «Лечебное дело».

УДК 61:578(042.314)

ББК 52.63я73

© Генералов И.И. с соавт., 2017

© УО «Витебский государственный
медицинский университет», 2017

ISBN 985-985-466-898-7

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
Список сокращений и условных обозначений	10
РАЗДЕЛ 1. ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ	12
I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСОВ (Генералов И.И.)	13
1.1. Краткая история открытия вирусов	13
1.2. Общие свойства вирусов. Структура вирионов	14
1.3. Химический состав вирусов	17
1.4. Классификация вирусов	21
1.5. Репродукция вирусов	26
1.6. Культивирование вирусов	32
1.7. Лабораторная диагностика вирусных инфекций	36
II. ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (Генералов И.И., Окулич В.К.)	43
2.1. Основы терапии вирусных инфекций	43
2.2. Профилактика вирусных инфекций	51
III. БАКТЕРИОФАГИ (Генералов И.И., Фролова А.В.)	56
3.1. Общая характеристика бактериофагов	56
3.2. Классификация и структура бактериофагов	57
3.3. Резистентность к факторам окружающей среды	58
3.4. Взаимодействие фагов с бактериальными клетками	58
3.5. Получение и определение бактериофагов	62
3.6. Практическое использование бактериофагов	63
РАЗДЕЛ 2. ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ ВОЗБУДИТЕЛИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА	65
РАЗДЕЛ 2.1. РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ	66
I. СЕМЕЙСТВО ОРТОМИКСОВИРУСОВ (<i>Orthomyxoviridae</i>). ВИРУСЫ ГРИППА (Генералов И.И.)	66
1.1. Классификация	67
1.2. Свойства вирусов гриппа	67
1.3. Репродукция вирусов гриппа	70
1.4. Эпидемиология гриппозной инфекции	70
1.5. Патогенез и характеристика заболевания	71
1.6. Особенности пандемии гриппа 2009 года	73
1.7. Характеристика инфекций, вызванных вирусами гриппа птиц	74

1.8. Лабораторная диагностика гриппа	76
1.9. Лечение и профилактика	77
II. СЕМЕЙСТВО ПАРАМИКСОВИРУСОВ <i>(Paramyxoviridae)</i> (Генералов И.И., Шилин В.Е.)	79
2.1. Классификация	79
2.2. Свойства парамиксовирусов	79
2.3. Репродукция парамиксовирусов	80
2.4. Особенности инфекций, вызванных вирусами парагриппа	81
2.5. Характеристика детских инфекций, вызванных вирусами кори и эпидемического паротита	82
2.6. Особенности инфекции вирусами Хендра и Нипах	85
2.7. Лабораторная диагностика инфекций, вызванных парамиксовирусами	86
2.8. Лечение и профилактика	87
III. СЕМЕЙСТВО ПНЕВМОВИРУСОВ <i>(Pneumoviridae)</i> (Генералов И.И., Шилин В.Е.)	88
3.1. Классификация	88
3.2. Структура и репродукция пневмовирусов	88
3.3. Особенности инфекций, вызванных пневмовирусами	89
3.4. Лабораторная диагностика инфекций, вызванных пневмовирусами	90
3.5. Лечение и профилактика пневмовирусных инфекций	90
IV. СЕМЕЙСТВО КОРОНАВИРУСОВ <i>(Coronaviridae)</i> (Генералов И.И., Зубарева И.В.)	92
4.1. Классификация	92
4.2. Свойства коронавируса	93
4.3. Характеристика коронавирусных ОРВИ	94
4.4. Характеристика коронавирусного тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС)	95
4.5. Характеристика ближневосточного респираторного синдрома (БВРС)	97
4.6. Лабораторная диагностика коронавирусных инфекций	99
4.7. Лечение и профилактика	100
V. СЕМЕЙСТВО ПИКОРНАВИРУСОВ <i>(Picornaviridae)</i> (Генералов И.И., Железняк Н.В.)	101
5.1. Классификация	101
5.2. Свойства пикорнавирусов	102

5.3. Репродукция пикорнавирусов	102
5.4. Характеристика полиомиелитной инфекции	103
5.5. Инфекции, вызванные вирусами Коксаки	106
5.6. Инфекции, вызванные ЕСНО-вирусами, пареховирусами, другими энтеровирусами	108
5.7. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика энтеровирусных инфекций	109
5.8. Риновирусы и риновирусные инфекции	110
5.9. Афтовирусы – вирус ящура	112
5.10. Род <i>Hepatovirus</i> . Возбудитель вирусного гепатита А	112
VI. СЕМЕЙСТВО <i>Hepeviridae</i>. ВОЗБУДИТЕЛЬ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА Е (Генералов И.И., Окулич В.К.)	116
6.1. Классификация	116
6.2. Свойства вирусов гепатита Е	117
6.3. Репродукция вируса гепатита Е	117
6.4. Характеристика различных форм вирусного гепатита Е	118
6.5. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика ВГЕ	120
VII. СЕМЕЙСТВО КАЛИЦИВИРУСОВ (<i>Caliciviridae</i>) – НОРОВИРУСЫ и САПОВИРУСЫ. АСТРОВИРУСЫ и АСТРОВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ (Генералов И.И., Сенькович С.А.)	122
7.1. Классификация	122
7.2. Свойства норовирусов и саповирусов	123
7.3. Репродукция вирусов	124
7.4. Характеристика норовирусных и саповирусных инфекций	125
7.5. Лабораторная диагностика норовирусных и саповирусных инфекций	127
7.6. Лечение и профилактика норовирусных и саповирусных инфекций	127
7.7. Особенности астровирусных кишечных инфекций	128
VIII. СЕМЕЙСТВО РЕОВИРУСОВ (<i>Reoviridae</i>). РОТАВИРУСЫ и РОТАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ (Генералов И.И., Сенькович С.А.)	129
8.1. Классификация реовирусов и ротавирусов	129
8.2. Свойства ротавирусов	130
8.3. Репродукция ротавирусов	132
8.4. Характеристика ротавирусных инфекций	133
8.5. Лабораторная диагностика ротавирусных инфекций	134

8.6. Лечение и профилактика ротавирусной инфекции	135
IX. СЕМЕЙСТВО РЕТРОВИРУСОВ (<i>Retroviridae</i>). ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ (Генералов И.И.)	136
9.1. Классификация ретровирусов	138
9.2. Свойства ВИЧ	139
9.3. Репродукция ВИЧ	141
9.4. Патогенез и клиническая характеристика ВИЧ-инфекции и СПИД	143
9.5. Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции и СПИД	148
9.6. Лечение и профилактика ВИЧ-инфекции	150
9.7. Пандемия ВИЧ-инфекции – итоговое состояние проблемы	152
X. СЕМЕЙСТВО РАБДОВИРУСОВ (<i>Rhabdoviridae</i>). РОД <i>Lyssavirus</i> – ВИРУС БЕШЕНСТВА (Генералов И.И., Денисенко А.Г.)	155
10.1. Классификация рабдовирусов	156
10.2. Свойства вируса бешенства	156
10.3. Репродукция вируса бешенства	158
10.4. Характеристика заболевания и патогенез бешенства	158
10.5. Лабораторная диагностика бешенства	161
10.6. Профилактика и лечение бешенства	162
XI. АРБОВИРУСНЫЕ И РОБОВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ. СЕМЕЙСТВО АРЕНАВИРУСОВ (<i>Arenaviridae</i>) (Генералов И.И., Фролова А.В.)	166
11.1. Классификация патогенных аренавирусов	167
11.2. Свойства аренавирусов	167
11.3. Репродукция аренавирусов	168
11.4. Характеристика аренавирусных инфекций	169
11.5. Лабораторная диагностика аренавирусных инфекций	172
11.6. Лечение и профилактика аренавирусных инфекций	173
XII. СЕМЕЙСТВО ФИЛОВИРУСОВ (<i>Filoviridae</i>) (Генералов И.И., Фролова А.В.)	174
12.1. Классификация филовирусов	175
12.2. Свойства филовирусов	175
12.3. Репродукция филовирусов	176
12.4. Характеристика филовирусных болезней Эбола и Марбург	177
12.5. Лабораторная диагностика филовирусных геморрагических лихорадок	179
12.6. Лечение и профилактика филовирусных инфекций	180

XIII. СЕМЕЙСТВО БУНЬЯВИРУСОВ (<i>Bunyaviridae</i>) (Генералов И.И., Моисеева А.М.)	182
13.1. Классификация буньявирусов	182
13.2. Свойства буньявирусов	183
13.3. Репродукция буньявирусов	184
13.4. Характеристика буньявирусных инфекций	185
13.5. Лабораторная диагностика буньявирусных инфекций	188
13.6. Лечение и профилактика буньявирусных инфекций	189
XIV. СЕМЕЙСТВО ТОГАВИРУСОВ (<i>Togaviridae</i>). РОД <i>Rubivirus</i> – ВИРУС КРАСНУХИ (Генералов И.И., Моисеева А.М.)	190
14.1. Классификация и общая характеристика тогавирусов	190
14.2. Свойства вируса краснухи	191
14.3. Репродукция вируса краснухи	192
14.4. Патогенез краснухи и характеристика заболевания	193
14.5. Лабораторная диагностика краснухи	195
14.6. Лечение и профилактика краснушной инфекции	195
XV. СЕМЕЙСТВО ФЛАВИВИРУСОВ (<i>Flaviviridae</i>). РОД <i>Flavivirus</i> – ВОЗБУДИТЕЛИ АРБОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ. РОД <i>Hepacivirus</i> – ВОЗБУДИТЕЛЬ ГЕПАТИТА С (Генералов И.И.)	197
15.1. Классификация флавивирусов	198
15.2. Общие свойства флавивирусов	199
15.3. Репродукция флавивирусов	201
15.4. Характеристика арбовирусных инфекций, вызываемых флавивирусами	201
15.5. Вирус гепатита С	217
РАЗДЕЛ 2.2. ДНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ	222
I. СЕМЕЙСТВО ГЕПАДНАВИРУСОВ (<i>Hepadnaviridae</i>). ВИРУС ГЕПАТИТА В (Генералов И.И., Железняк Н.В.)	222
1.1. Классификация	223
1.2. Свойства вируса гепатита В	223
1.3. Репродукция вируса гепатита В	225
1.4. Эпидемиология, патогенез и клиническая характеристика вирусного гепатита В	226
1.5. Лабораторная диагностика вирусного гепатита В	229
1.6. Профилактика и лечение вирусного гепатита В	230
1.7. Возбудитель вирусного гепатита D (дельта-вирус)	232

II. СЕМЕЙСТВО <i>Adenoviridae</i>. ВОЗБУДИТЕЛИ АДЕНОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА (Генералов И.И., Зубарева И.В.)	236
2.1. Классификация	237
2.2. Свойства аденовирусов человека	238
2.3. Репродукция аденовирусов	239
2.4. Характеристика различных форм аденовирусной инфекции человека	239
2.5. Лабораторная диагностика аденовирусных инфекций	241
2.6. Лечение и профилактика аденовирусных инфекций	242
III. СЕМЕЙСТВО <i>Parvoviridae</i>. ПАРВОВИРУС ПРИМАТОВ 1 (парвовирус B19) – ВОЗБУДИТЕЛЬ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА (Железняк Н.В., Генералов И.И.)	244
3.1. Классификация	244
3.2. Свойства парвовируса B19	245
3.3. Репродукция парвовируса B19	246
3.4. Характеристика парвовирусных инфекций человека	247
3.5. Лабораторная диагностика парвовирусных инфекций	249
3.6. Лечение и профилактика	250
IV. СЕМЕЙСТВО <i>Herpesviridae</i>. ГЕРПЕСВИРУСЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА (Генералов И.И., Железняк Н.В.)	251
4.1. Классификация	252
4.2. Общие свойства герпесвирусов	253
4.3. Репродукция герпесвирусов	254
4.4. Характеристика инфекций, вызванных вирусами простого герпеса (ВПГ-1 и ВПГ-2)	256
4.5. Характеристика инфекций, вызванных вирусом ветряной оспы и опоясывающего лишая (герпесвирусом человека 3 типа)	261
4.6. Характеристика инфекций, вызванных вирусом Эпштейна-Барр (герпесвирусом 4 типа)	264
4.7. Характеристика инфекций, вызванных цитомегаловирусом (герпесвирусом 5 типа)	269
4.8. Герпесвирусы 6, 7 и 8 типов и их роль в патологии человека	273
V. СЕМЕЙСТВО <i>Papillomaviridae</i>. ВИРУСЫ ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА (Генералов И.И., Железняк Н.В.)	276

5.1 Классификация	276
5.2 Свойства папилломавирусов	277
5.3. Репродукция папилломавирусов человека	279
5.4. Характеристика папилломавирусных инфекций человека	280
5.5. Лабораторная диагностика папилломавирусных инфекций человека	282
5.6. Лечение и профилактика папилломавирусных инфекций человека	284
VI. СЕМЕЙСТВО <i>Poxviridae</i>. ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ (<i>Генералов И.И., Сенькович С.А.</i>)	286
6.1. Классификация	286
6.2. Свойства вируса натуральной оспы	287
6.3. Репродукция поксвирусов	288
6.4. Патогенез и характеристика заболевания	288
6.5. Лабораторная диагностика натуральной оспы	289
6.6. Лечение и профилактика натуральной оспы	290
VII. ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ (<i>Генералова А.Г.</i>)	291
7.1. Общая характеристика онкогенных вирусов	291
7.2. Онкогенные вирусы папилломы человека (ВПЧ)	291
7.3. Герпесвирус 4 типа – вирус Эпштейна–Барр	293
7.4. Герпесвирус 8 типа (герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши)	294
7.5. Вирус гепатита В	295
7.6. Вирус гепатита С	297
7.7. Т-лимфотропный вирус 1 типа (HTLV-1)	299
VIII. ПРИОНЫ И ПРИОНОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА (<i>Генералова А.Г.</i>)	301
8.1. Происхождение прионов и патогенез прионовых инфекций	301
8.2. Характеристика прионовых заболеваний	302
8.3. Лабораторная диагностика прионовых болезней	305
8.4. Профилактика и лечение прионовых заболеваний	306

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – антиген, антигены;
АПФ – ангиотензин-превращающий фермент;
АТ – антитело, антитела;
АФК – активные формы кислорода;
БВРС – ближневосточный респираторный синдром;
ВААРТ – высокоактивная антиретровирусная терапия;
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека;
ВГА – вирус гепатита А;
ВГВ – вирус гепатита В;
ВГС – вирус гепатита С;
ВГD – вирус гепатита D;
ВГЕ – вирус гепатита E;
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения;
ВПГ – вирус простого герпеса;
ВПГЧ – вирус парагриппа человека;
ВПЧ – вирусов папилломы человека;
ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр;
ГАЕ – гемагглютинирующая единица;
ГЛПС – геморрагическая лихорадка с почечным синдромом;
ГПДВ – Глобальный план действий в отношении вакцин;
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;
ИФА – иммуноферментный анализ;
ИЛ – интерлейкин;
ИФА – иммуноферментный анализ;
ККГЛ – Крымская-Конго геморрагическая лихорадка;
КПК – живая комбинированная вакцина;
ЛНП – липопroteины низкой плотности;
ЛХМ – вирус лимфоцитарного хориоменингита;
МГ – молекулярная гибридизация;
МКТВ – Международный комитет по таксономии вирусов;
МПА – мясо-пептонный агар;
НТКП – Na⁺-таурохолат котранспортирующий полипептид;
ОРВИ – острые респираторные вирусные инфекции;
ОРС – открытая рамка считывания;
ОТ – обратная транскрипция;
ПЦР – полимеразная цепная реакция;
ПЭГ – полиэтиленгликоль;

РИФ – реакция иммунной флюоресценции;
РН – реакции нейтрализации;
РНК – рибонуклеиновая кислота;
РС-вирус – респираторно-синцитиальный вирус;
РСК – реакция связывания комплемента;
РТГА – реакции торможения гемагглютинации;
СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита;
ТОРС – тяжелый острый респираторный синдром;
УГС – ультраглубокое секвенирование;
ФНО – фактор некроза опухоли;
ЦМВ – цитомегаловирус;
ЦНС – центральная нервная система;
ЦПД – цитопатическое действие;
ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких;
EBNA – Epstein-Barr Nuclear Antigen;
ЕСНО-вирусы – [Enteric Cytopathogenic Human Orphans]-вирусы;
ICAM-1 – белок межклеточной адгезии;
GP – гликопротеин;
NP – нуклеопротеин;
SOFIA-тест – Surround Optical Fibers Immunoassay – оптоволоконный иммунологический анализ (прионовых белков)

РАЗДЕЛ 1.

ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСОВ

Вирусы – это мельчайшие инфекционные агенты, которые имеют молекулярную (неклеточную) организацию, обладают **единственным типом нуклеиновой кислоты** (ДНК или РНК) и являются **облигатными** (строгими) **внутриклеточными паразитами**.

Несмотря на уникальный жизненный цикл и особенности структуры, вирусы являются биологическими организмами, способными к самовоспроизведению на основании универсального для всего живого генетического кода.

Вирусы являются важнейшими возбудителями инфекционных заболеваний человека.

1.1. Краткая история открытия вирусов

Заболевания, имеющие вирусную природу, известны с глубокой древности. Опустошительные эпидемии оспы в Китае и Индии отмечены еще в источниках X века до нашей эры. Свидетельства о поражении людей паралитической формой полиомиелита обнаруживаются при анализе источников и артефактов Древнего Египта. В V веке д. н. э. Гиппократ называл герпесом воспалительное поражение полости рта и губ с образованием пузырьков.

Несмотря на отсутствие знаний о природе таких состояний, в конце XVIII века Э. Дженнер впервые использовал вакцинацию (вариоляцию) для профилактики наиболее тяжелого вирусного заболевания – натуральной оспы. К 1885 г. Луи Пастер и Эмиль Ру разработали и с успехом применили первую вакцину против бешенства – вирусного заболевания, смертельного для животных и человека. Эти выдающиеся достижения ознаменовали собой эмпирический период в развитии вирусологии.

Сами вирусы впервые были открыты в 1892 г. русским ученым Д.И. Ивановским при изучении мозаичной болезни табака. Д.И. Ивановский установил, что возбудитель данного заболевания – мельчайший инфекционный агент, который проходит через бактериальные фильтры, не растет на питательных средах и не обнаруживается в световом микроскопе.

В 1898 г. голландский исследователь М. Бейеринк подтвердил основные свойства возбудителя мозаичной болезни, включая его

способность проходить через бактериальные фильтры, и использовал для его обозначения термин «**вирус**» (лат. *virus* – яд).

В том же 1898 г. Ф. Леффлер и П. Фрош обнаружили фильтрующийся вирус ящура.

В 1901 г. У. Рид с сотрудниками выделили фильтрующийся вирус из органов и тканей людей, умерших от желтой лихорадки.

В 1909 г. К. Ландштейнер и Э. Поппер установили вирусную природу полиомиелита.

Ф. Туорт в 1915 г и Ф. д'Эррель в 1917 г. открыли вирусы бактерий – бактериофаги.

Эти результаты позволили выделить вирусы в совершенно особую группу возбудителей. Они поражают все формы живых организмов, имеющих клеточное строение – от бактерий до человека.

1.2. Общие свойства вирусов. Структура вирионов

Для вирусов характерен ряд *общих свойств*:

- молекулярная (**неклеточная**) структура;
- геном представлен только **одним типом нуклеиновой кислоты** (ДНК или РНК); количество цепей (1 или 2) и их структура у разных вирусов существенно отличаются;
- вирусы обладают наследственностью и выраженной изменчивостью; филогенез вирусов подчиняется законам эволюции;
- размножение (или *репродукция*) вирусов происходит только в зараженных ими клетках (**строгий внутриклеточный паразитизм**);
- вирусы не обладают собственными системами синтеза белка и генерации энергии; для репродукции используют белок-синтезирующие и энергетические системы клеток хозяина;
- имеют минимальный размер (обычно в пределах от 10-20 до 400 нм);
- в природе распространены повсеместно (*убиквитарность* вирусов).

До сих пор предметом дискуссии является эволюционное происхождение вирусов. Выдвигались 3 основных гипотезы:

- вирусы возникли еще до появления клеточных форм жизни и представляют собой древнюю самостоятельную ветвь молекулярной эволюции; впоследствии они приспособились к внутриклеточному паразитированию;

– вирусы – результат дегенеративной эволюции; происходят из отделившихся генов бактерий или других организмов;

– вирусы произошли от автономных структур клетки, содержащих нуклеиновые кислоты (митохондрии и др.)

Ведущей в настоящее время является теория самостоятельного происхождения и эволюции вирусов. Предполагается, что их источником стали вновь образованные нуклеиновые кислоты (первоначально РНК, затем ДНК). При этом они могли проявлять собственную каталитическую активность. Впоследствии в состав вирусов были включены белки. После возникновения клеточных структур вирусы приобрели способность к внутриклеточному паразитизму.

Сформированная вирусная частица, находящаяся вне клетки, получила название «**вирион**».

Вирион является *внеклеточной формой существования* вируса. Эти частицы способны кристаллизоваться.

Вирионы метаболически инертны и активируются только после взаимодействия с клеткой, чувствительной к данному вирусу. Они обладают *инфекционностью*, т.е. благодаря рецепторным белкам и ферментам проникают в клетку, где и происходит репродукция вирусов.

Некоторые вирусы способны встраивать свою ДНК в геном клетки-хозяина. Такая вирусная ДНК становится **провирусом**.

Вирус, утративший какие-либо важные функции или признаки, называется **дефектным**. Обычно это явление связано с утратой ряда генов, характерных для полноценной вирусной частицы. Многие дефектные вирусы не способны к самостоятельной репродукции без вирусов-помощников (*вирусы-сателлиты*). К ним относятся, например, аденосателлиты, для размножения которых необходимы адено- или герпесвирусы, а также *дельтавирус* – возбудитель тяжелой формы гепатита, для репродукции которого требуется гепаднавирус – возбудитель гепатита В.

Необычной *субвирусной частицей* является **вириод**. Вироиды – это инфекционные агенты, размножающиеся в клетках растений. Они имеют в своем составе только небольшую (250-400 нуклеотидов) циркулярную молекулу РНК, белки не выявлены. РНК вириодов способна к автономной репликации в растительных клетках.

В *структуре вириона* нуклеиновая кислота плотно упакована в белковую оболочку (**капсид**), и образует вместе с ним **нуклеокапсид**

вируса. Капсид состоит из повторяющихся белковых субъединиц-**капсомеров**.

Простые вирусы имеют только нуклеокапсид.

Сложные вирусы окружены **внешней оболочкой (суперкапсидом)**, состоящей из липидов и встроенных в нее белков (обычно – гликопротеинов). Суперкапсид иначе называют «*непелос*» (от греч. *perplos* – мантия, покров), а его белки – *непеломерами*. Внешнюю липидную оболочку сложные вирусы приобретают при прохождении через цитоплазматическую мембрану клетки хозяина.

Форма укладки капсомеров вокруг нуклеиновой кислоты определяет **тип симметрии** вируса.

Существуют 2 основных типа симметрии:

– **спиральный** – винтообразная структура нуклеокапсида, капсомеры укладываются по спирали;

– **икосаэдрический** (или **кубический**) – в основе лежит фигура икосаэдра (**20-гранника**); капсомеры формируют грани многогранника;

Возможен **смешанный** тип симметрии, сочетающий оба варианта (характерен для бактериофагов – головка фага имеет кубический тип симметрии, отросток – спиральный).

Вирионы с капсидом, построенным более чем из 60 капсомеров, содержат группы из 5 субъединиц – пентамеры или из 6 субъединиц – гексамеры.

Из-за особенностей своего строения многие вирионы устойчивы во внешней среде. Это характерно для вирусов, имеющих белковую оболочку (большинство простых вирусов). Они сохраняют жизнеспособность при замораживании, высушивании, однако чувствительны к высокой температуре. Сложные вирусы, окруженные липидной оболочкой, чувствительны к детергентам, спиртам, эфирам.

На вирусы **не действуют антибиотики**. Препараты, подавляющие активность вирусов, отнесены к отдельной группе противовирусных лекарственных средств.

Медицинская вирусология изучает лишь вирусы, патогенные для человека, или вирусы, значимые для медицины (бактериофаги).

Основной **задачей медицинской вирусологии** является разработка методов диагностики, лечения и профилактики вирусных инфекций у человека.

1.3. Химический состав вирусов

В состав простых вирусов входят белки и нуклеиновая кислота (ДНК или РНК), сложные вирусы содержат все основные биополимеры, включая липиды и углеводы, локализованные в суперкапсиде.

1.3.1. Вирусные нуклеиновые кислоты

Нуклеиновые кислоты формируют вирусный геном, обеспечивая наследственность и изменчивость вирусов. Многие из них являются инфекционными, т.е. могут самостоятельно вызывать инфекционный процесс после попадания в чувствительные клетки.

В вирионе присутствует только *один тип нуклеиновой кислоты* – РНК или ДНК. Исключения – вирион цитомегаловируса, который помимо геномной ДНК содержит определенное количество иРНК, и недавно открытый уникальный РНК-ДНК гибридный вирус (РДГВ), выделенный из горячих источников в Калифорнии, США (2012 г.) Последний пример указывает на возможность генетических рекомбинаций между РНК и ДНК-вирусами.

Вирусная ДНК может быть одно- или двунитчатой, фрагментированной и нефрагментированной, линейной или кольцевой. Размеры ее варьируют в широких пределах – от 2-3 тысяч до 300 тысяч пар нуклеотидных остатков (т.н.о.) и более, поэтому геном ДНК-вирусов может содержать и единичные гены, и объединять до нескольких сотен генов.

Гены вирусов могут включать *экзоны* и *интроны*. Интроны не кодируют вирусные белки и в ходе транскрипции удаляются из последовательности вирусной иРНК.

Гены ДНК-вирусов могут располагаться как на одной цепи ДНК, так и мозаично на обеих цепях.

Геномная ДНК содержит разные функциональные участки, обеспечивающие ее репликацию, транскрипцию иРНК, транспорт нуклеиновой кислоты вируса к месту сборки вириона.

Минимальный ДНК-геном характерен для гепаднавирусов (вирус гепатита В – 3,2 т.н.о.), максимальный – у вируса натуральной оспы (375 тыс. пар нуклеотидных остатков).

Кольцевая двухцепочечная ДНК является основной формой вирусной ДНК, способной к репликации. Для ее образования на концах ДНК имеются прямые или инвертированные (развернутые на 180°) повторы. Они обеспечивают способность ДНК замыкаться в

кольцо. Такая форма ДНК используется для репликации или встраивания в клеточный геном. Генетическая информация с ДНК затем транскрибируется на иРНК в клетке с помощью РНК-полимераз.

Для контроля транскрипции в геномной ДНК имеются промоторные области, энхансеры (усилители транскрипции), участки терминации, участки, влияющие на сплайсинг и другую модификацию иРНК.

Сплайсинг иРНК – это удаление отдельных участков из первично синтезированной иРНК (*первичного транскрипта*) с образованием различных зрелых иРНК, которые кодируют разные белки. Это позволяет значительно расширить разнообразие вирусных белков при ограниченном размере вирусного генома. Механизм сплайсинга характерен как для ДНК-, так и РНК-содержащих вирусов.

Вирусная РНК по своему химическому составу не отличается от РНК клеточного происхождения, однако может иметь самую разную структуру. Встречаются одно- и двунигчатая, линейная, кольцевая, фрагментированная вирусная РНК.

Вирусный РНК-геном является гаплоидным. Только у ретровирусов имеется диплоидный геном, который представлен двумя идентичными цепями РНК.

Размер геномных вирусных РНК в сравнении с ДНК весьма невелик и не превышает 30 т.н.о. (пример – коронавирусы). Во многом это связано с тем, что репликация вирусной РНК склонна к ошибкам; в результате возникают множественные мутации в РНК-геноме. Кроме того, в клетках отсутствуют системы репарации РНК. Из этого следует, что протяженные вирусные РНК-геномы нестабильны и мало жизнеспособны.

Кроме того, после ряда циклов репликации вирусной РНК образуется набор разных мутантных вирусов, геном которых отличается от исходной РНК-последовательности (мутантный спектр или «*мутантное облако*»). Это приводит к ускоренной генетической дивергенции РНК-вирусов между собой, что имеет клиническое значение. В частности, накопление мутаций в РНК вируса гепатита С приводит к быстрому развитию устойчивости к противовирусной терапии.

Среди вирусов с одноцепочечной РНК различают 2 основные группы: имеющих (+) РНК (плюс-РНК, положительный геном, положительная полярность РНК) и (–) РНК (минус-РНК, отрицательный геном, отрицательная полярность РНК).

Вирусная (+) **РНК** инфекционная и обладает функциями информационной РНК (*смысловая цепь*). Она сама является матрицей для синтеза белка на рибосомах, где происходит процесс трансляции.

Вирусная (–) **РНК** не является инфекционной. Нить (–) РНК не обладает функцией информационной РНК (*антисмысловая цепь*) и выполняет только наследственную функцию. В зараженной клетке на матрице вирусной геномной (–) РНК ферментом РНК-полимеразой проводится синтез комплементарной смысловой цепи (+) РНК. С этой цепи в дальнейшем будет происходить синтез вирусных белков.

Нити (+) РНК вирусов в отличие от (–) РНК имеют концевой остаток 5'-метилгуанозина (кэп или «шапочка») для специфического узнавания рибосом.

Обычно вирусный геном содержит РНК только одной полярности – «плюс» или «минус». Однако у некоторых вирусов может быть *амбиполярный геном*, где положительные участки чередуются с отрицательными (пример – аренавирусы).

Наряду с типичной для всех РНК однонитевой формой у многих вирусов имеется двунитевая геномная РНК (*диплорнавирусы*). К ним относятся, в частности, реовирусы. РНК диплорнавирусов фрагментирована и состоит из нескольких сегментов.

С другой стороны, и в однонитевой вирусной РНК могут образоваться двухцепочечные участки (*«шпильки»*) с поворотом цепи РНК на 180°. Это происходит из-за спаривания комплементарных нуклеотидов (*палиндромные последовательности*) в линейной РНК-молекуле. Такие структуры принимают участие в регуляции транскрипции и трансляции вирусной РНК.

1.3.2. Вирусные белки

У вирусов различают *структурные* и *неструктурные* белки.

Среди структурных белков выделяют *капсидные* и *суперкапсидные*.

Капсидные белки входят в состав капсомеров. Плотнo упакованные *нуклеокапсидные* или NP-белки образуют комплекс с нуклеиновой кислотой; собственно капсидные белки формируют капсид, защищая вирусную нуклеиновую кислоту. У простых вирусов капсидные белки также являются рецепторами.

Суперкапсидные белки имеются у сложных вирусов. Часто это *наружные гликопротеины*, которые формируют шипы на поверхности суперкапсида. Они выполняют роль *рецепторов* –

узнают чувствительную клетку и адсорбируются на ней (*адресные и прикрепительные белки*).

Для проникновения внутрь клетки (интернализации) вирусов используются *матриксные* М-белки и *белки слияния* – F-белки (от англ. *fusion* – слияние). F-белки обеспечивают слияние вирусной и клеточной мембран и приводят к образованию симпластов.

Функции структурных белков: определяют тип симметрии вируса, обеспечивают самосборку нуклеокапсида, участвуют в распознавании клеток и взаимодействии с ними; защищают вирусный геном от нуклеаз; обладают антигенными свойствами.

Среди *неструктурных белков* различают:

- предшественники вирусных белков (обычно формируют полипротеины из которых под действием протеаз образуются конечные вирусные белки);

- *регуляторные белки* участвуют в репродукции вируса;

- вирусные *ферменты*: ДНК- и РНК-полимеразы обеспечивают репликацию вирусного генома; транскриптазы – синтез вирусных иРНК, интегразы вирусов выполняет встраивание вирусной ДНК в геном клетки, вирусные протеазы гидролизуют вирусные и клеточные белки и т.д.

Выделяют *вирионные* и *вирусиндуцированные* ферменты вирусов.

Вирионные ферменты постоянно присутствуют в составе вириона. Они участвуют в репликации, транскрипции и рекомбинации вирусных нуклеиновых кислот (эндо- и экзонуклеазы, ДНК и РНК-полимеразы, обратная транскриптаза у ретровирусов и др.), адсорбции и проникновении вируса в клетку (нейраминидаза, АТФаза) и т.д.

К *вирусиндуцированным* относятся ферменты, которые закодированы в вирусном геноме, а их синтез происходит в клетке. Это РНК-полимеразы многих РНК-вирусов (орто- и парамиксовирусов, пикорна- и тогавирусов), ДНК-полимераза герпесвирусов и др.

Помимо собственных белков, формирующийся вирион в процессе сборки может захватывать и некоторые клеточные протеины (белки клеточных мембран, гистоны, белки цитоскелета и т.д.) Иногда это имеет значение в патогенезе вирусной инфекции (например, зрелая частица ВИЧ включает до 30% от общего количества клеточного белка циклофилина А; без него инфекционные вирусные частицы не формируются).

1.3.3. Липиды и углеводы в составе вирусов

Липиды входят в состав суперкапсида сложных вирусов. Они включают фосфо- и гликолипиды, полученные из мембран клеток хозяина.

Липиды стабилизируют вирусную частицу, определяют конформацию суперкапсидных белков, а также способствуют проникновению вируса через гидрофобную клеточную мембрану. Большинство липидсодержащих вирусов чувствительно к эфиру и детергентам.

Липиды могут составлять до 20-30% от массы сложного вириона.

Углеводы входят в состав гликопротеинов суперкапсида. Типичным примером такого гликопротеина является рецептор *гемагглютинин*, который вызывает склеивание эритроцитов и обладает антигенной специфичностью.

Гликозилирование поверхностных белков влияет на их рецепторную специфичность, а также предохраняет от действия антител и клеточных протеаз.

Углеводные остатки могут составлять до 10-15% от общей массы вируса.

1.4. Классификация вирусов

Современная таксономия и классификация вирусов разрабатывается Международным комитетом по таксономии вирусов (МКТВ). Данный комитет входит в состав Отделения вирусологии Международного союза микробиологических обществ.

МКТВ устанавливает принципы и правила для классификации существующих вирусов и для признания новых вирусных таксонов.

Сведения о современной таксономии вирусов излагаются в периодических Докладах и релизах МКТВ. Последний официальный X Доклад (текущая онлайн-версия) представлен в 2017 г., утвержденный релиз – в 2016 г. Доклад включает Международный кодекс классификации и номенклатуры вирусов, который объединяет все известные к настоящему времени вирусные таксоны.

Предложения по дополнениям, изменениям и комментариям к X Докладу производятся до настоящего времени.

С учетом большого разнообразия и уникальности организации вирусов строгая классификация вирусных организмов представляется трудной задачей. МКТВ подчеркивает, что номенклатура вирусов не

зависит от другой биологической номенклатуры. Вирусные таксоны признаются исключением в Международном кодексе по биономенклатуре (Биокодекс).

В современной классификации вирусов выделяют следующие таксономические уровни: *порядок*, *семейство*, *подсемейство*, *род* и *вид*. Указывается, что не все уровни могут применяться для классификации конкретных видов вирусов.

Название порядка вирусов имеет окончание «*-virales*», семейства – «*viridae*», подсемейства – «*virinae*», рода – «*-virus*».

Примером такой номенклатуры вирусов может служить представитель порядка *Herpesvirales*, семейства *Herpesviridae*, подсемейства *Alphaherpesvirinae*, рода *Varicellovirus*.

Наименование вида вируса состоит более чем из одного слова, и может включать название местности, заболевания, вызванного вирусом, организм хозяина или порядковый номер вида.

Написание всех таксонов выполняется курсивом.

В 2017 г. в Кодексе было представлено 8 порядков, 122 семейства, 35 подсемейств, более 700 родов и свыше 4400 видов вирусов. Многие вирусы пока не точно не определены.

Согласно данной классификации базовой таксономической единицей в вирусологии является вид.

Вид определяется как *монофилетическая группа вирусов*, которая *отличается от других видов вирусов согласно установленным множественным критериям*.

Уровни *от рода и выше* определяются как группа соответствующих таксонов (видов и т.д.), имеющих определенные общие свойства.

Разработка конкретных критериев для каждого вида возлагается на группы специалистов-вирусологов, изучающих соответствующие вирусы.

Понятие «*монофилетическая группа вирусов*» означает, что каждый представитель вида должен иметь единого общего предка в эволюции. Это определяется методами молекулярной генетики (филогенетический анализ). Разные виды представлены разными генетическими линиями.

Генетические расстояния между видами и внутри видов (мера дивергенции) устанавливаются, сравнивая последовательности ДНК или РНК изучаемых вирусов (путем секвенирования вирусных нуклеиновых кислот). Однако пока не существует единых генетических критериев установления вида вируса.

В частности, вирусы растений семейства *Geminiviridae* будут отнесены к разным видам уже при различии их ДНК свыше 11%, тогда как вирусы геморрагических лихорадок из семейства *Filoviridae* относят к разным видам при отличиях последовательности их РНК свыше 30%.

Исходя из этого, для установления вида вируса необходимы дополнительные признаки. К ним относятся антигенная структура вируса; клеточный и тканевой тропизм; патогенность вируса; круг восприимчивых хозяев; пути передачи инфекции и ее переносчики; географическое распространение вируса и т.д.

Введение дополнительных критериев указывает на трудности современной таксономии вирусов. Кроме того, определение генетической последовательности выделенных вирусов пока недоступно для большинства лабораторий.

Поэтому до сих пор на практике часто применяется классификация, впервые предложенная американским вирусологом Д. Балтимором в 1971 г.

Согласно этой классификации все вирусы делятся на группы в зависимости от вида, полярности и способа репликации их нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК (+) или (–); однонитевая или двунитевая, линейная или кольцевая, фрагментированная или нефрагментированная; наличие обратной транскрипции).

Выделяют **7 вирусных групп**:

- I. Вирусы, содержащие двунитевую ДНК;
- II. Вирусы, содержащие однонитевую ДНК;
- III. Вирусы, содержащие двунитевую РНК;
- IV. Вирусы, содержащие однонитевую (+) РНК;
- V. Вирусы, содержащие однонитевую (–) РНК;
- VI. Вирусы, содержащие однонитевую (+) РНК, реплицирующиеся через стадию ДНК;
- VII. Вирусы, содержащие двунитевую ДНК, реплицирующиеся через стадию одноцепочечной РНК.

Репродукция вирусов групп VI и VII включает стадию обратной транскрипции.

Для характеристики вирусов внутри групп используется тип симметрии, наличие или отсутствие суперкапсида.

Вирусные семейства, имеющие клиническое значение и входящие в состав групп I-VII, представлены в Таблице.

Таблица. Общая характеристика вирусных семейств, имеющих медицинское значение				
Группа	Тип нуклеиновой кислоты	Тип симметрии	Наличие суперкапсида	Основные семейства
I	днДНК линейная	Кубический	Нет	Adenoviridae
	днДНК линейная	Кубический	Есть	Herpesviridae
	днДНК линейная	Комплексный	Есть	Poxviridae
	днДНК кольцевая	Кубический	Нет	Polyomaviridae Papillomaviridae
II	онДНК линейная	Кубический	Нет	Parvoviridae
	онДНК кольцевая	Кубический	Нет	Anelloviridae
III	днРНК сегментированная	Кубический	Нет	Picobirnaviridae Reoviridae
IV	онРНК (+)	Кубический	Нет	Picornaviridae Astroviridae Caliciviridae Heperviridae
	онРНК (+)	Кубический	Есть	Togaviridae Flaviviridae
	онРНК (+)	Спиральный	Есть	Coronaviridae
V	онРНК (-)	Спиральный	Есть	Paramyxoviridae Filoviridae Rhabdoviridae Bornaviridae
	онРНК (-) сегментированная	Спиральный	Есть	Orthomyxoviridae
	онРНК (-) сегментированная	Спиральный или кубический	Есть	Bunyaviridae
	онРНК (-) сегментированная амбиполярная	Не определен	Есть	Arenaviridae
VI	онРНК (+) 2 копии; обратная транскрипция	Капсид конусовидной формы.	Есть	Retroviridae
VII	днДНК кольцевая; обратная транскрипция	Кубический	Есть	Hepadnaviridae

Примечание:

«дн» – двунитевая нуклеиновая кислота, «он» – однонитевая нуклеиновая кислота

В целом, к настоящему времени известно, что свыше 300 видов вирусов, принадлежащих более чем к 50 родам и 30 вирусным семействам, вызывают заболевания у человека. Количество патогенных вирусов постоянно возрастает.

При определении вирусов существенное значение имеет их *внутривидовая дифференциация на варианты*.

Ведущими среди них являются *генетические* варианты (*генотипы* вируса) и *серологические* (антигенные) варианты или вирусные *серотипы*. Для задач медицинской вирусологии такое подразделение особенно необходимо, так как разные варианты вируса многократно отличаются по своей патогенности.

Серотип вируса определяется в *реакциях со специфическими антителами* – реакции нейтрализации (РН), иммуноферментном анализе (ИФА), реакции иммунной флюоресценции (РИФ), реакции торможения гемагглютинации (РТГА), реакции связывания комплемента (РСК) и других.

Генотип (генетический вариант, геногруппа) вируса устанавливается методами молекулярной гибридизации (МГ), полимеразной цепной реакции (ПЦР), методами определения последовательности (секвенирования) нуклеиновых кислот.

Выделенная от пациента в ходе инфекции чистая культура вируса получила название «*изолят*».

Штамм вируса – это выделенная из определенного источника генетически однородная популяция вирусов, обладающая установленным набором свойств, по которым ее отличают от других популяций вирусов того же вида.

После идентификации и детальной характеристики штамм получает наименование и помещается в коллекцию вирусных штаммов.

Международный комитет по таксономии не устанавливает и не проводит внутривидовое разделение вирусов на штаммы, варианты и изоляты. Такое деление является задачей рабочих групп специалистов-вирусологов.

В связи с высокой мутационной и рекомбинационной изменчивостью варианты одного и того же вируса также не являются генетически стабильными.

В ходе конкретного инфекционного процесса происходит их дальнейшая эволюция с образованием вирусных «*квазивидов*». Это особенно характерно для РНК-содержащих вирусов.

Категория квазивида не является таксономической. Данное понятие отражает способность вируса к активной генетической изменчивости.

Квазивид – это набор генетически близкородственных вариантов вирусов («генетическое облако»), возникающих вследствие мутаций из первоначального вируса в ходе инфекционного процесса в организме хозяина.

Образование квазивидов играет важную роль в прогрессировании вирусной инфекции. Под действием системы иммунитета происходит отбор устойчивых квазивидов (линий) вируса, что может привести к хроническому течению вирусного процесса и развитию резистентности к противовирусной терапии.

1.5. Репродукция вирусов

Патогенность вирусов определяется их внутриклеточным паразитизмом. Вирусы связываются с мембранными рецепторами и проникают в чувствительные клетки, перестраивают клеточный метаболизм, обеспечивают репликацию собственного генома, синтез вирусных белков, формирование новых вирионов. Репродукция вирусов в клетках ведет к патологии: повреждению клеток, тканей и органов, развитию воспаления.

Механизмы репродукции вирусов отличаются большим разнообразием, однако основные этапы этого процесса являются общими. Выделяют следующие **стадии продуктивной вирусной инфекции**:

- адсорбция вируса на клеточной мембране;
- проникновение в клетку;
- депротенинизация или «раздевание» вириона;
- биосинтез вирусных компонентов;
- сборка вирусной частицы (морфогенез);
- выход вируса из клетки.

Адсорбция вируса обусловлена взаимодействием специфических вирусных *рецепторов* (адресные белки, белки прикрепления) с *рецепторами на мембранах* чувствительных клеток. Число клеточных рецепторов может достигать до 10^4 - 10^5 молекул на мембране одной клетки.

Рецепторы вирусов обычно представлены гликопротеинами, которые имеют форму шипов (орто- или парамиксовирусы) или нитей (фибры аденовирусов). Взаимодействие обеспечивается в первую очередь комплементарностью между вирусным и клеточным рецептором, а также силами неспецифического межмолекулярного взаимодействия (разностью зарядов, водородными или гидрофобными связями).

Первоначально адсорбция обратима из-за единичных связей между вирусом и клеткой; необратимую адсорбцию обеспечивает множественное поливалентное прикрепление вирусов.

Рецепторы к вирусам на мембранах клеток очень разнообразны. В норме эти молекулы обеспечивают важные клеточные функции передачи сигнала или межклеточной адгезии. В ходе эволюции вирусы приобрели сродство (*тропизм*) ко многим из них. В частности, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) при помощи своего рецептора **gp120** взаимодействует с молекулой **CD4** на клетках системы иммунитета; коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС) связывается с ангиотензинпревращающим ферментом, риновирусы – с белком межклеточной адгезии ICAM-1, вирус Эпштейна-Барр – с рецептором для С3d-компонента комплемента CD21; ЕСНО-вирусы – с клеточными интегринами, орто- и парамиксовирусы – с рецепторами, содержащими остатки сиаловой кислоты.

Проникновение вируса в клетку происходит по двум основным механизмам: посредством **эндоцитоза** (или *виropексиса*) и путем **слияния** вирусной и клеточной мембран.

При **рецепторном эндоцитозе** возникает инвагинация клеточной мембраны и образование внутриклеточной вакуоли (**эндосомы**). Инвагинация обычно происходит в участках мембраны, обогащенных белком клатрином («клатриновые ямки»), или белком кавеолином. Вакуоль с вирусом может попадать в разные участки цитоплазмы или в клеточное ядро с последующим выходом вируса за пределы эндосомы.

Процесс **слияния** активируется связыванием вирусных белков капсидной или суперкапсидной оболочек с клеточными рецепторами. Оболочки вируса далее сливаются с цитоплазматической мембраной клетки хозяина, чему способствует их гидрофобность.

У ряда возбудителей (например, парамиксовирусов) имеется специальный **F-белок**, вызывающий слияние клеточных и вирусных мембран. Сходные по функции белки имеются и у других вирусов.

Эндоцитарным путем в клетку поступают простые вирусы (аденовирусы, пикорнавирусы), а также некоторые сложные вирусы – ортомиксовирусы (вирус гриппа), рабдовирусы (вирус бешенства), тогавирусы. Путем слияния проникают сложные вирусы – герпесвирусы, парамиксовирусы, ретровирусы (ВИЧ).

Некоторым вирусам для эффективной адсорбции и проникновения требуется наличие дополнительных *корцепторов* на клеточной мембране. Для ВИЧ корцепторными молекулами на мембране лимфоцитов и макрофагов являются рецепторы к хемокинам CXCR4 и CCR5.

Депротенинизация или «раздевание» вирионов – это процесс освобождения вируса от его оболочек (суперкапсида или капсида) с последующим выходом нуклеиновой кислоты в цитоплазму клетки. «Раздевание» вирионов начинается сразу же после их прикрепления к клеточным рецепторам и продолжается в эндоцитарной вакуоли.

Кислая среда в эндосоме (рН 5,0-6,0) дополнительно активирует белки, ответственные за депротенинизацию. Например, у вируса гриппа в этом процессе участвуют гемагглютинин, нейраминидаза и матриксный белок М2. Белок М2 формирует ионный канал для протонов, и закисление содержимого вириона приводит к растворению основного матриксного белка М1 вируса гриппа.

Биосинтез компонентов вирусов является сложным и многостадийным.

Проникновение вируса в клетку дезорганизует и перестраивает нормальный клеточный метаболизм. В результате синтезируются вирусные нуклеиновые кислоты и белки, которые идут на построение новых вирусных частиц.

Особенности репродукции разных вирусов определяются различиями в строении их генома (наличие ДНК или РНК, их полярность, способность к обратной транскрипции).

Для вирусов характерна **дизъюнктивная** (или *разобъединенная*) репродукция: в клетке отдельно синтезируются нуклеиновые кислоты и белки вирусов, а затем происходит их сборка в вирусные частицы.

У большинства ДНК-содержащих вирусов синтез новой геномной ДНК (**репликация**) и образование информационной РНК (**транскрипция**) происходит в ядре инфицированной клетки.

Вначале в ядре выполняется транскрипция ДНК вируса на иРНК с помощью *клеточной ДНК-зависимой РНК полимеразы* (характерно для аденовирусов или герпесвирусов). Далее вирусная иРНК перемещается в цитоплазму на рибосомы, где начинается ее

трансляция с образованием вирусных белков. «Ранние» белки, синтезированные в клетке еще до репликации вирусного генома, обеспечивают дальнейшую репродукцию вируса. Среди них фермент *вирусная ДНК-полимераза*, которая на матрице вирусной ДНК выполняет в ядре синтез новых молекул ДНК генома вируса

Дальнейшие процессы транскрипции и трансляции приводят к синтезу «*поздних*» белковых молекул, в первую очередь – структурных белков.

Если репродукция ДНК-вирусов происходит в цитоплазме клеток (поксвирус натуральной оспы), то репликация и транскрипция вирусного генома обеспечивается ферментами самого вируса.

РНК-вирусы размножаются в цитоплазме, кроме ретровирусов и вирусов гриппа, репликация которых происходит в ядре.

Если у РНК-вирусов геном представлен однонитевой (+) РНК, то она одновременно может выполнять функцию иРНК, с которой непосредственно осуществляется трансляция вирусных белков на рибосомах. Считается, что такая РНК обладает «*инфекционностью*» – при попадании в клетку она может самостоятельно вызвать инфекционный процесс.

Репликация генома у РНК (+) вирусов (флави-, тога-, пикорнавирусы) выполняется вирусным ферментом РНК-полимеразой с образованием промежуточной антисмысловой (–) РНК цепи. При этом в клетке временно образуется фрагмент двухцепочечной РНК. По матрице (–) цепи РНК синтезируется геномная РНК (+) цепь. В свою очередь, (+) цепь РНК служит матрицей для трансляции вирусных белков.

У ряда вирусов транслируется вся геномная РНК (+) с образованием единого полипротеина. Далее он нарезается с участием вирусных или клеточных протеаз с образованием конечных структурных вирусных белков (пикорнавирусы, флавивирусы). Дополнительно вирусные белки могут подвергаться гликозилированию, связываться с липидами и т.д.

У РНК (–) вирусов (орто-, парамиксовирусов, рабдовирусов и других) геном с отрицательной полярностью не выполняет функцию информационной РНК, тем самым он не обладает инфекционностью. Такие вирусы имеют РНК-полимеразы (*транскриптазы*), которые с негативной РНК-цепи генома синтезируют комплементарную смысловую (+) цепь РНК. С молекулы (+) РНК происходит трансляция вирусных белков на рибосомах. Также она служит матрицей для синтеза геномной (–) РНК.

Некоторые вирусы содержат сегментированную двунитевую РНК с положительной и отрицательной полярностью (бирнавирусы, реовирусы и ротавирусы). Их вирионы включают фермент транскриптазу. После попадания вирусов в клетку транскриптаза на матрице (–) цепи РНК образует множественные копии (+) РНК. В свою очередь, они служат матрицей для синтеза вирусных белков и геномной (–) цепи РНК.

Наиболее сложной представляется репродукция вирусов, обладающих функцией *обратной транскрипции*.

РНК-содержащие ретровирусы, такие как ВИЧ, обладают ферментом *обратной транскриптазой* (или ревертазой). Данный фермент является РНК-зависимой ДНК-полимеразой и способен синтезировать цепь вирусной ДНК на матрице вирусной РНК (*обратная транскрипция*). Далее обратная транскриптаза выполняет синтез второй комплементарной нити ДНК. Двунитевая ДНК транспортируется в ядро и при помощи фермента интегразы встраивается в геном клетки. Образуется ДНК-провирус ВИЧ. На матрице ДНК провируса клеточная РНК-полимераза синтезирует геномные (+) РНК вируса ВИЧ, а также вирусные иРНК. Синтезированные РНК транспортируются в цитоплазму, где на рибосомах создаются структурные белки и ферменты ВИЧ, а также происходит дальнейшая сборка вирионов.

Геном гепаднавирусов, к которым относится вирус гепатита В (ВГВ) представлен кольцевой молекулой ДНК с недостроенной (+) цепью. После заражения клетки ДНК ВГВ проникает в ядро. Здесь клеточная или вирусная ДНК-полимераза достраивает ДНК ВГВ до полного генома. По матрице вирусной ДНК клеточная РНК-полимераза синтезирует полную РНК-копию генома ВГВ (так называемый *прегеном*), а также ряд иРНК. иРНК перемещаются в цитоплазму и транслируются на рибосомах в вирусные белки. Один из них (фермент полимеразы) обладает функцией обратной транскрипции. В ядре полимеразы на матрице РНК-прегенома выполняет синтез вирусной ДНК.

Сборка вирусных частиц происходит в результате специфического взаимодействия вирусных белков и нуклеиновых кислот, которые соединяются электростатическими, гидрофобными и водородными связями. Самосборка простых вирионов основана на способности вирусных белков соединяться в капсомеры, которые в итоге образуют многогранник. Капсиды с кубическим типом симметрии могут собираться и без присутствия вирусной

нуклеиновой кислоты. С другой стороны, вирусы со спиральным типом симметрии формируют нуклеокапсиды только на основе вирусной РНК.

Морфогенез сложных вирусов включает также формирование липидной оболочки из клеточных мембран. Обычно это происходит при выходе вируса из клетки. В состав суперкапсида также включается ряд структурных белков.

Выход вирусных частиц из клетки может происходить:

1) путем «взрыва» с гибелью клетки, что характерно для активно размножающихся простых вирусов, не имеющих суперкапсид (например, пикорнавирусов);

2) путем почкования, что типично для сложных вирусов, имеющих липидную оболочку. У них на заключительном этапе сборки нуклеокапсиды фиксируются на клеточной цитоплазматической мембране. При формировании суперкапсида происходит ее выпячивание, образуется «почка», которая затем отделяется (примеры – рабдовирусы, орто- и парамиксовирусы). Клетка при этом может сохранять жизнеспособность.

Дальнейшая передача вирусов между клетками осуществляется по ходу свободного тока межтканевой жидкости или через прямые межклеточные контакты. Во многих случаях образование таких контактов определяется самим вирусом.

Время, необходимое для репродукции, колеблется от 6-8 часов для вируса гриппа до нескольких суток (вирусы кори, аденовирусы). У ряда вирусов цикл репродукции может быть длительным (цитомегаловирусы, ВГВ, ВИЧ и другие), что ведет к хроническому течению вирусных инфекций.

Весьма часто стандартный цикл репродукции нарушается. В первую очередь это связано с генетической нестабильностью репликации у вирусов, особенно РНК-содержащих (*репликация, склонная к ошибкам*). В результате образуются **дефектные вирусы**, утратившие ряд генов, необходимых для репродукции. Они могут размножаться только при участии *вируса-помощника* в случае совместной инфекции данными вирусами.

Иногда при нарушении сборки вирионов возникают **псевдовirusы** – частицы, имеющие вирусный капсид, но включающие фрагменты нуклеиновой кислоты клетки хозяина. Псевдовirusы также не способны к дальнейшей репродукции.

Исходы вирусной инфекции зависят от характера взаимодействия вируса и клетки.

Выделяют несколько вариантов такого взаимодействия:

продуктивная инфекция – завершается успешным образованием вирусного потомства с выходом вирусов и заражением соседних клеток; активная репродукция обычно соответствует *острой форме вирусной инфекции*;

абортивная инфекция – эффективной репродукции вирусов и образования новых вирионов не происходит, инфекционный процесс прерывается;

персистирующая инфекция (как вариант продуктивной) – репродукция вирусов происходит длительно и постоянно, однако на более низком уровне;

латентная инфекция – вирус постоянно присутствует в клетках, но репродукции вируса не определяется, или она происходит редко (*скрытая инфекция*);

интегративная инфекция (*виrogenия*) – происходит встраивание вирусной ДНК в геном клетки-хозяина с образованием *провируса* (например, у ретровирусов); часто связана с латентной вирусной инфекцией;

трансформирующая инфекция – длительно протекающая вирусная инфекция, которая сопровождается опухолевой трансформацией зараженных клеток (ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты С и В, инфекция папилломавирусом человека).

Персистирующий и латентный варианты характерны для *хронической вирусной инфекции* с ее периодами обострения и ремиссии, а также для *вирусоносительства*.

1.6. Культивирование вирусов

Так как вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами, их культивирование проводят в *живых клеточных системах*: **культурах клеток** и тканей, **куриных эмбрионах**, организме **лабораторных животных**.

Основными **задачами культивирования** являются:

- изучение *механизмов патогенеза* вирусной инфекции;
- разработка *методов лабораторной диагностики* вирусных заболеваний;
- получение *препаратов для диагностики, профилактики и лечения* вирусных инфекций (вирусные диагностикумы, противовирусные вакцины и лекарственные средства).

При **заражении лабораторных животных** оценивают типичные симптомы вирусной инфекции и проводят патоморфологическое исследование их органов и тканей для обнаружения и дальнейшего исследования вирусов. Наиболее широко с этой целью используются новорожденные и взрослые мыши, сирийские хомячки, морские свинки, обезьяны. Животных заражают интраназально, интрацеребрально, внутрибрюшинно, накожно. Мозг и другие ткани животных часто используются для приготовления вирусных антигенов.

Куриный эмбрион представляет собой удобную и простую модель для выращивания вирусных культур. Его полости защищены твердой оболочкой и стерильны. При выделении вирусов 7-12-дневный эмбрион заражают инфекционным материалом в амниотическую или аллантоисную полость (вирусы гриппа, кори, герпеса), желточный мешок, на хорион-аллантоисную мембрану.

Наиболее широко в настоящее время применяется культивирование вирусов на **культуре клеток**.

Культура клеток – это совокупность клеток человека, животных или растений, живущих и размножающихся в питательной среде в условиях *in vitro*.

Виды клеточных культур:

однослойные – клетки прикрепляются и размножаются в один слой на поверхности культурального сосуда (пластикового или стеклянного флакона, матраса или планшета);

суспензионные – клетки поддерживаются и размножаются по всему объему жидкой питательной среды;

3D-клеточные культуры – искусственно сформированные многослойные клеточные культуры, заключенные в белковый или гелевый матрикс;

органные культуры – фрагменты органов или тканей, которые поддерживаются в питательной среде вне организма и при этом сохраняют исходную клеточную структуру (в настоящее время применяются редко).

Максимальное распространение получили **однослойные клеточные культуры**. Они различаются в зависимости от числа *пассажей*.

Пассаж (или *субкультивирование*) – это перенос небольшой части клеток из выросшей клеточной культуры во флакон или лунки планшета со свежей питательной средой для дальнейшего размножения. При обычном культивировании наступает ускоренное

старение клеток из-за их высокой плотности и накопления продуктов метаболизма. Пассажи обеспечивают длительное поддержание клеточной культуры.

В этой связи выделяют 3 основных типа культур – *первичные* (первично трипсинизированные), *диплоидные* (или *полуперевиваемые*) и *перевиваемые*.

По своему *происхождению* они могут быть эмбриональными, из клеток взрослых организмов или опухолевыми.

Первичные культуры клеток получают из тканей человека или животных (клетки почек обезьян, человеческие или куриные фибробласты и др.) Они жизнеспособны в течение 1-3 недель, при этом выдерживают лишь несколько пассажей (обычно 1-2) и в дальнейшем погибают.

Диплоидные (или *полуперевиваемые*) клеточные культуры содержат неизмененный диплоидный геном и способны поддерживаться в течение 40-50 и более пассажей. Источник таких культур – эмбриональные человеческие или животные клетки (человеческие легочные и панкреатические фибробласты, эпителиальные клетки молочной железы и др.) Они активно используются как для культивирования вирусов, так и для получения вирусных вакцин (для профилактики полиомиелита, краснухи, бешенства и других болезней).

Перевиваемые (или *непрерывные*) **культуры** представляют собой клетки, которые могут размножаться *in vitro* неопределенно долго через бесконечное количество пассажей. Многие из них происходят из злокачественных опухолевых клеточных линий (опухолевая *трансформация клеток*). Обычно они имеют измененный набор хромосом. К таким культурам относятся клетки **HeLa** из аденокарциномы шейки матки (получены от пациентки, умершей в 1956 г.), *Нер-2* из клеток карциномы гортани, RD из клеток рабдомиосаркомы и др.

Также широко используются перевиваемые клеточные линии животного происхождения (клетки почек золотистого сирийского хомячка *BHK*, клетки почек африканских зеленых мартышек *Vero* и многие другие). Дополнительным источником перевиваемых клеточных линий могут стать клетки первичных культур, которые подверглись трансформации в условиях *in vitro*.

Для **получения клеточных культур** проводят выделение и гомогенизацию тканей, содержащих необходимые клетки. Далее их обрабатывают протеазой (трипсином или коллагеназой) для

разрушения межклеточных перегородок и вносят в сосуд со средой для культивирования (плоскодонные флаконы, матрасы или планшеты из пластика или стекла). После начала инкубации в термостате клетки начинают делиться и покрывают в один слой (монослой) дно флакона или планшета. После этого они останавливают свое размножение (контактное торможение). При необходимости выполняют дальнейшие пассажи клеточной культуры. Культуру заражают изучаемым штаммом вируса и регистрируют изменения в клетках.

Питательные среды для культивирования разделяют на **ростовые** и **поддерживающие**. Ростовые питательные среды обогащают для стимуляции активного деления клеток и формирования монослоя. Поддерживающие среды сохраняют жизнеспособность клеток в уже готовом монослое, а также при размножении в клетке вирусов.

Основой всех питательных сред является сбалансированный забуференный солевой раствор (например, *раствор Хенкса* с pH 6,8-7,2). В него добавляют факторы роста (аминокислоты, витамины) и антибиотики для предупреждения бактериальной или грибковой контаминации. Широко используются стандартные синтетические среды с известной композицией. К ним относятся среда 199, среда Игла, Дульбекко, наиболее активно применяется среда RPMI. Для обеспечения эффективного размножения клеток и создания монослоя в ростовые среды добавляют 5-10% эмбриональной телячьей сыворотки или сыворотки других видов животных. В состав поддерживающих сред сыворотку обычно не включают.

Суспензионные клеточные культуры активно применяются в биотехнологии с целью получения большого количества вирусной биомассы в промышленных биореакторах для приготовления вакцин или вирусных диагностикумов.

Перспективными моделями для культивирования вирусов становятся **3D-клеточные культуры** с запрограммированным трехмерным расположением клеточных слоев и межклеточного матрикса. Для управления клетками в такой среде в них могут добавлять наночастицы с заданными свойствами (например, магнитные наночастицы, создающие эффект *магнитной левитации клеток*). Считается, что такие среды наиболее приближены к естественным условиям вирусной репродукции. С другой стороны, они могут быть разработаны и подобраны индивидуально для получения трудно культивируемых вирусов.

Современным методом изучения вирусов является также применение **трансфецированных культур клеток**. Для этого в клеточные линии методом генной инженерии вводят вирусные гены, кодирующие вирусные белки для их последующей экспрессии (**трансфекция** клеток). В дальнейшем эти белки могут быть выделены и использованы в качестве вирусных диагностикумов или экспериментальных вакцин.

1.7. Лабораторная диагностика вирусных инфекций

Вирусная этиология инфекционных заболеваний может быть установлена только с помощью различных методов лабораторной диагностики вирусных инфекций.

Целью диагностики является *индикация* и *идентификация* вирусов в клиническом материале, полученном от пациента.

Индикация – это обнаружение вирусов в клиническом материале или в системе для вирусного культивирования (культуре клеток, курином эмбрионе и т.д.). Во многих случаях эффективная индикация позволяет провести предварительное определение вируса.

Идентификация – это точное установление рода, вида, варианта или типа вируса.

Для индикации и идентификации вирусов в медицинских целях используется обширный набор лабораторных методов исследования.

1.7.1. Генетические методы исследования в медицинской вирусологии

Поскольку действующая классификация вирусов базируется на их генетическом анализе, ведущими среди методов исследования становятся **молекулярно-генетические** способы идентификации вирусов с определением их **нуклеиновой кислоты** в клиническом материале. Генетические тесты позволяют обнаружить вирусы в минимальной концентрации и в кратчайшие сроки.

Доминирующими в генодиагностике вирусов сейчас являются *методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК)*; основной из них – **полимеразная цепная реакция (ПЦР)**. Технология ПЦР применяется также в наиболее современных методах генодиагностики, включая определение последовательности (**секвенирование**) вирусных нуклеиновых кислот.

Используя специфичные праймеры, ПЦР позволяет быстро и с высокой чувствительностью проводить как *индикацию* (обнаружение) вируса, так и его *генетическую идентификацию* (определение вида, геногруппы, типа или субтипа вируса).

Базовый вариант ПЦР выявляет вирусную ДНК; ПЦР с обратной транскрипцией – вирусную РНК; ПЦР в режиме реального времени определяет количество вирусных нуклеиновых кислот в образцах (вирусную нагрузку); мультиплексная ПЦР может одновременно выявлять несколько вирусов.

Также для определения вирусов в материале применяют метод *молекулярной гибридизации* нуклеиновых кислот. На принципе гибридизации основано действие *ДНК-* и *РНК-микрочипов* (*microarrays*), где массив из сотен или даже тысяч зондов, комплементарных разным вирусным ДНК или РНК, адсорбирован в микроячейках на твердой фазе. Достоинством способа является одновременное определение многих вирусов в клинических образцах. Это требуется, например, для быстрой и точной диагностики респираторных или кишечных вирусных инфекций.

В самом ближайшем будущем универсальным способом диагностики вирусных инфекций может стать *множественное параллельное секвенирование нуклеиновых кислот*, выделенных из клинического материала. Данная технология основана на революционных методах *«секвенирования нового поколения»*, которые были разработаны в начале XXI века. Их называют также методами *«ультраглубокого секвенирования» (УГС)*, поскольку каждый анализируемый участок нуклеиновой кислоты (или «рид») «прочитывается» не менее 100 раз. Это значительно снижает вероятность ошибок при диагностике.

Ряд таких методов уже активно используется в практике (пиросеквенирование, технологии Illumina или SOLiD и другие). Принцип некоторых из них заключается в амплификации в большом количестве изучаемой ДНК методом ПЦР на твердой или липидной фазе, переводом ее в одноцепочечную форму и проведении полимеразной или лигазной реакции на полученной исходной ДНК-матрице. При этом присоединение каждого нуклеотида или зонда сопровождается флюоресцентным сигналом, который регистрируется детектором. Такие методики позволяют анализировать миллиарды перекрывающихся участков изучаемой нуклеиновой кислоты разной длины в течение 1 теста. Дальнейший анализ полученных данных проводится методами биоинформатики с применением сложных

вычислительных алгоритмов. В результате можно провести полногеномный анализ нуклеиновой кислоты, представленной в изучаемом материале. Время тестирования занимает от нескольких часов до нескольких дней.

В области вирусологии методики ультраглубокого секвенирования обладают преимуществами, которые позволяют решать задачи, недоступные другим способам. Среди них – одновременная идентификация всех вирусов, присутствующих в пробе от пациента. В этом случае будут также установлены вирусы, которые невозможно культивировать; уже известно, что они составляют большинство среди открытых вирусов.

Кроме того, только методы УГС позволяют выявить у пациента все возможные генетические варианты и квазивиды («генетическое облако») одного вида вируса. Среди них могут оказаться генотипы, устойчивые к терапии противовирусными препаратами.

Наконец, УГС позволяет установить ключевые этапы взаимодействия вируса и клетки, оценивая динамику экспрессии всех вирусных генов («вирусный транскриптом»).

Тем не менее, широкое внедрение технологий секвенирования в медицинскую практику пока сдерживается их высокой стоимостью и сложностью клинической интерпретации полученных данных.

В целом все молекулярно-генетические методы играют важнейшую роль в лабораторной диагностике вирусных инфекций. Однако их результаты должны рассматриваться только совместно с данными других методов исследования в вирусологии.

1.7.2. Основные методы индикации и идентификации вирусов

В лабораторной диагностике вирусных инфекций используют следующие основные группы методов:

1) определение вирусов *непосредственно в клиническом материале (экспресс-тесты)*;

2) *выделение вирусной культуры* с индикацией и идентификацией вируса (*вирусологический метод*);

3) *серологическая диагностика* вирусной инфекции (определение *специфических антител* к вирусу в сыворотке пациента для подтверждения диагноза вирусной инфекции; при некоторых заболеваниях помимо антител в сыворотках проводят определение антигенов).

Происхождение материала для исследования зависит от локализации и формы вирусной инфекции. Исследуют

носоглоточный смыв, мокроту, кровь, ликвор, фекалии, мочу, соскобы из высыпных элементов, биоптаты органов и тканей, включая аутопсийный материал.

Определение вирусов непосредственно в клиническом материале основано на прямом выявлении **специфических вирусных нуклеиновых кислот** или **вирусных антигенов** в образцах, полученных от пациента.

Иногда для выявления вируса в материале могут применяться прямые **вирусоскопические** методы обнаружения вирусных частиц (**электронная микроскопия**, микроскопия внутриклеточных **вирусных включений**).

Вирусные ДНК или **РНК** в материалах определяют при помощи **ПЦР**, реже – методом *молекулярной гибридизации*. С их помощью проводят как индикацию, так и генетическую идентификацию вирусов (вид, вариант и т.д.)

Вирусные АГ выявляют методом *иммуноферментного анализа (ИФА)* и в *реакции иммунной флюоресценции (РИФ)*.

ИФА позволяет быстро и высокочувствительно проводить индикацию вирусов в материале по наличию вирусных АГ. При использовании типоспецифических АТ методом ИФА можно идентифицировать серотип вируса.

Вирус-инфицированные клетки в материале обнаруживают по экспрессии вирусных АГ методом **иммунной флюоресценции**.

Электронная микроскопия (просвечивающая или сканирующая) позволяет непосредственно обнаружить вирусные частицы в материале (*индикация вируса*). Их характерная морфология может указывать на принадлежность вируса к конкретному семейству или роду. Данный вид микроскопии обладает наивысшей разрешающей способностью. Однако в связи со сложностью метода и высокой стоимостью оборудования электронная микроскопия обычно применяется для проведения научных исследований в области вирусологии. Вариант методики – *иммуноэлектронная микроскопия* – обладает более высокой чувствительностью и специфичностью. В нем обычно используются конъюгаты специфических АТ с коллоидным золотом.

Методом *световой микроскопии* в клетках, содержащихся в материале для исследования при вирусной инфекции, можно обнаружить **вирусные включения**. Образование внутриклеточных включений – это скопление вирусных частиц (вирусных белков и нуклеиновых кислот), наблюдаемых при микроскопии зараженных

клеток. У ДНК-содержащих вирусов они обычно локализованы в ядре (исключение – *тельца Гварниери* при оспе в цитоплазме). У РНК-содержащих вирусов включения обнаруживаются в цитоплазме (тельца *Бабеша-Негри* при бешенстве).

Для выделения вируса из исследуемого материала (**вирусологический метод исследования**) применяют различные способы культивирования, индикации и идентификации вирусов.

Культивирование проводят в культуре клеток, курином эмбрионе, организме чувствительного лабораторного животного.

Индикацию вирусов выполняют по их **цитопатическому действию (ЦПД)** на клетки. К нему относится дегенерация клеток – мелкозернистая деструкция (энтеровирусы), фрагментация, округление; образование *симпластов* (вирус кори), *синцития*, внутриклеточных *включений*. В клеточном монослое могут образоваться *бляшки* – зоны разрушения клеток под действием вируса (негативные вирусные колонии).

Вариантом оценки цитопатического действия является *цветная проба* Солка. При ее проведении вирус вносят в культуру клеток, содержащую индикатор; при культивировании вирус разрушает клетки, и изменения цвета индикатора не наблюдается. В контроле без вируса пролиферация клеток ведет к накоплению продуктов их метаболизма с изменением рН среды и цвета индикатора.

Если вирус содержит гемагглютинин, то его индикация проводится в **реакции гемагглютинации** вируса с чувствительными к нему эритроцитами. Для этого к двукратным разведениям культуральной жидкости, содержащей вирус, добавляют эритроциты, и после инкубации определяют гемагглютинирующий титр вируса (соответствует его 1-й гемагглютинирующей единице – ГАЕ).

Клетки, инфицированные гемагглютинирующим вирусом, могут также быть обнаружены с помощью микроскопии по феномену **гемадсорбции** – прикреплению эритроцитов к мембранам инфицированных клеток, экспрессирующих на своей поверхности гемагглютинины вируса.

Серологическую идентификацию вируса (определение его *серотипа* или антигенной группы) проводят в **реакции нейтрализации ЦПД (РН ЦПД)** с типоспецифическими противовирусными антителами (сыворотками). Вариантами РН являются реакция нейтрализации бляшкообразования; предупреждения образования включений; нейтрализации по цветной пробе. В последнем случае специфические АТ связывают вирус, он не

блокирует клеточный метаболизм; клетки размножаются, и с накоплением продуктов метаболизма происходит изменение цвета индикатора в среде.

Идентификация гемагглютинирующих вирусов осуществляется в *реакции торможения гемагглютинации (РТГА)* с типоспецифическими сыворотками и в *реакции торможения гемадсорбции*.

При культивировании в курином эмбрионе индикацию вируса выполняют по гибели эмбриона, помутнению хорион-аллантоисной мембраны с кровоизлияниями, образованию бляшек на мембране, в реакции гемадсорбции и реакции гемагглютинации с аллантоисной жидкостью. Идентификацию проводят в реакции нейтрализации гибели куриного эмбриона и в РТГА.

Соответственно, при заражении лабораторных животных индикацию вирусов проводят по их гибели животных, идентификацию – в реакции нейтрализации со специфическими сыворотками.

Дополнительно при любом варианте культивирования вируса может производиться его *генетическая индикация* и *идентификация* (определение вида и генетического типа или варианта) методом *ПЦР*.

Серологическая диагностика относится к непрямым методам лабораторной диагностики вирусных инфекций. Она основана на определении *специфических антител* к вирусу в сыворотке пациента при помощи *серологических реакций*. Иногда с этой целью в сыворотке также определяют специфические вирусные АГ (например, Hbs АГ при вирусном гепатите В).

Накопление и последующее выявление АТ к вирусу происходит не сразу, а в течение некоторого времени после заражения («*серонегативное окно*»). Обнаружение в сыворотке специфических противовирусных АТ после серонегативного периода различной степени длительности называется *сероконверсией*. *Сероконверсией* также является переключение синтеза противовирусных АТ с класса IgM на IgG с последующим выявлением АТ класса IgG в сыворотке.

Наибольшее распространение для серологической диагностики вирусных заболеваний получил *иммуноферментный анализ (ИФА)*. Метод высокочувствителен и специфичен, может выполняться в автоматическом режиме, применяется для массового скрининга вирусных инфекций.

Обычно в ИФА определяют уровень (количество) специфических АТ к вирусу; в случае превышения порогового значения («точка отсечения») устанавливают диагноз вирусной инфекции. Уровень АТ необходимо исследовать в динамике. Повышенную диагностическую значимость имеет **определение АТ в реакции с парными сыворотками**. В этих случаях АТ в сыворотке крови пациента определяют в начале и конце заболевания (обычно с интервалом в 2-3 недели). При увеличении уровня (*нарастании титра*) АТ в **4 раза и более** диагноз вирусной инфекции подтверждается.

Нахождение **АТ класса IgM** к вирусу, как правило, свидетельствует об *острой первичной вирусной инфекции*. Выявление **АТ класса IgG** свидетельствует о *вторичном иммунном ответе* (продолжающаяся или перенесенная вирусная инфекция, обострение хронической инфекции, предыдущая вакцинация и т.д.). В этих случаях также целесообразно исследовать уровень АТ в динамике.

Если вирус имеет в своем составе гемагглютинин, то наличие противовирусных АТ устанавливают в **реакции торможения гемагглютинации (РТГА)**. При постановке реакции предварительно готовят ряд последовательных двукратных разведений сыворотки пациента (*титрование сыворотки*). В РТГА определяют **титр АТ сыворотки** – максимальное разведение сыворотки, при котором еще наблюдается положительная реакция. Полученные значения титра сравнивают с *диагностическим титром АТ*, который заранее устанавливается для конкретной вирусной инфекции. В случае равенства или превышения данного показателя диагноз инфекции считается подтвержденным. Весьма часто РТГА проводят с парными сыворотками, полученными от пациента в начале и конце заболевания.

Для выявления противовирусных АТ также используют латекс-агглютинацию, метод иммунохроматографии, вестерн-блотинг. РСК для серодиагностики вирусных инфекций сейчас применяется редко из-за трудоемкости методики и недостаточной стандартизации реагентов.

II. ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

2.1. Основы терапии вирусных инфекций

Лечение вирусных инфекций является весьма сложной задачей. Жизненный цикл вируса теснейшим образом связан с метаболизмом клетки. Поэтому разработка лекарственных средств, эффективно подавляющих вирус на различных этапах репродукции и одновременно не влияющих на нормальные клеточные функции, представляет значительные трудности. Для многих вирусных инфекций *этиотропная терапия* (т.е., действующая на сам вирус) пока не разработана; лечение пациентов остается *патогенетическим* и *симптоматическим* (восстановление водно-электролитного баланса, глюкокортикоидная терапия, поддержка вентиляции легких и т.д.).

Тем не менее, данная ситуация в последние годы существенным образом улучшилась. В клинической практике уже используется целый ряд новых высокоэффективных противовирусных средств; десятки других соединений с противовирусной активностью проходят стадию клинических испытаний и будут внедрены в ближайшем будущем. Их внедрение позволяет добиться перелома в лечении таких тяжелых вирусных заболеваний, как ВИЧ-инфекция и вирусный гепатит С.

Это обусловлено выдающимися достижениями молекулярной вирусологии с расшифровкой ключевых звеньев патогенеза вирусных инфекций. Определяется молекулярная структура рецепторов и основных вирусных ферментов, активные центры которых становятся мишенями для противовирусных средств. Далее проводится компьютерный дизайн новых химических соединений и отбор наиболее эффективных из них, обладающих необходимыми характеристиками (прочность связывания с вирусной молекулярной мишенью, высокая избирательность, оптимальная фармакокинетика).

По *происхождению* различают противовирусные *биологические препараты* и противовирусные *химиотерапевтические средства* (продукты химического синтеза).

К препаратам *биологического происхождения* относят противовирусные *антитела*, *иммуноглобулины* и *сыворотки*; генно-инженерные *интерфероны*.

Противовирусные АТ и иммуноглобулины обычно имеют человеческое происхождение (противокоревой, противогриппозный иммуноглобулин); реже их получают от животных (лошадиный антирабический гамма-глобулин). Основной метод получения – *иммунизация* соответствующими вакцинами, содержащими вирусные антигены.

В отдельных случаях для лечения тяжелых вирусных инфекций применяют сыворотки реконвалесцентов, содержащие высокие титры специфических противовирусных АТ (лечение лихорадки Эбола, ТОРС и др.)

Противовирусные сыворотки и антитела связываются с вирусными рецепторами, блокируя их взаимодействие с клетками. Если клетка уже инфицирована вирусом, то АТ связываются с вирусными АГ, представленными на мембранах клеток. Образующийся иммунный комплекс активирует систему комплемента и естественные киллеры, которые разрушают зараженную клетку (комплемент- и антителозависимая клеточная цитотоксичность).

Кроме того, впервые для лечения вирусных инфекций начал применяться препарат на основе гуманизированных моноклональных АТ *паливизумаб*, полученный методами генной инженерии. Мишенью паливизумаба является белок слияния F респираторно-синцитиального (РС) вируса. Механизм действия препарата – блокада проникновения РС-вируса в эпителиальные клетки дыхательных путей. Показанием к применению является профилактика респираторно-синцитиальной инфекции у недоношенных детей раннего возраста с иммунодефицитами. Эффективность профилактики – до 50-55%.

Интерфероны являются *цитокинами* с широким спектром противовирусной и иммуномодулирующей активности. Известно III типа интерферонов, которые отличаются как по структуре, так и механизму действия.

К молекулам I типа относятся α - и β -интерфероны, которые образуются, соответственно, моноцитами и фибробластами, при возникновении вирусной инфекции. Основной функцией интерферонов I типа является подавление репродукции вирусов в клетках. Интерфероны II типа представлены γ -интерфероном. Это мощный провоспалительный цитокин, который продуцируется макрофагами и стимулирует трансформацию T_H0 в T_H1 с развитием клеточных иммунных реакций. Менее изучены интерфероны III типа,

к которым относятся несколько разновидностей λ -интерферона. Считается, что они также обладают противовирусной активностью.

Большинство препаратов на основе интерферонов представлены *рекомбинантными α - и β -интерферонами человека*, относящимися к I типу. Для терапии вирусных инфекций и онкопатологии обычно применяют препараты **α -интерферона**; β -интерфероны – для терапии аутоиммунных заболеваний. Рекомбинантный γ -интерферон для лечения вирусных инфекций пока не используется.

Интерфероны не блокируют проникновение вируса в клетку; их противовирусный эффект является опосредованным через изменение клеточного метаболизма.

Молекулярные механизмы действия α - и β -интерферонов заключаются в стимуляции экспрессии клеткой ряда белков с противовирусной активностью. Их синтез начинается после распознавания клеткой чужеродных вирусных компонентов (например, двухцепочечной РНК). Через специфические рецепторы интерфероны активируют соседние клетки в тканях и органах, препятствуя их заражению вирусом.

Под действием интерферона I типа в клетках образуется **протеинкиназа R**, которая фосфорилирует *фактор инициации трансляции $eIF2$* и тем самым блокирует его активность, останавливая синтез белков. Также усиливается синтез фермента **2'-5'-олигоаденилатсинтазы**. Образующийся олигоаденилат активирует латентную клеточную **РНКазу L**, которая разрушает вирусную РНК и в целом угнетает синтез белка в клетках.

Кроме того, интерфероны I и II типов резко усиливают экспрессию на клетках молекул HLA I и II классов, тем самым стимулируя презентацию вирусных АГ клеткам системы иммунитета.

Различные препараты **рекомбинантных α -интерферонов** человека назначаются для терапии вирусных гепатитов С и В, саркомы Капоши при ВИЧ-инфекции, генитальных кондилом, вызванных папилломавирусами человека, герпетической инфекции, включая офтальмогерпес.

Немодифицированные интерфероны обладают кратковременным действием и в ходе системной длительной терапии могут вызывать серьезные побочные эффекты (лихорадка, лейкопения и др.). Для снижения частоты их развития разработаны *препараты α -интерферона длительного действия*. Они представляют собой комплекс интерферона с высокомолекулярным носителем полиэтиленгликолем (пегилированные интерфероны, ПЭГ-

интерфероны). В комбинации с другими химиопрепаратами их активно применяют для лечения гепатитов С и В.

Противовирусные химиотерапевтические средства включают соединения с противовирусной активностью, полученные путем химического синтеза.

В настоящее время в клинике применяется широкий ряд химиотерапевтических средств, которые могут действовать на все основные стадии жизненного цикла ДНК- или РНК-содержащих вирусов.

Их разделяют на группы в зависимости от химической структуры и механизма действия.

I. Препараты, действующие на вирионы вне клетки (вирулицидные средства)

Высокой вирулицидной активностью обладают многие **антисептики**. Этанол, галогенопроизводные (гипохлорит), пероксид водорода, нитрат серебра, глютаровый альдегид эффективны в отношении большинства вирусов. Они разрушают липиды в суперкапсиде; кроме того, связываются с амино- и сульфгидрильными группами белков нуклеокапсида, вызывая их денатурацию. Эфиры, четвертичные аммониевые соединения, хлоргексидин действуют главным образом на *сложные вирусы*, содержащие липидный суперкапсид.

Оксолин (производное нафталина) входит в состав мазей, применяемых для лечения герпетических кератитов и конъюнктивитов, риновирусной инфекции, а также для профилактики гриппа.

II. Препараты, блокирующие адсорбцию и проникновение вирусов в клетку (ингибиторы входа/слияния)

Маравирок – ингибитор связывания рецептора ВИЧ *gp120* с корецептором *CCR5* на клетках системы иммунитета. Вследствие этого, маравирок препятствует прикреплению ВИЧ.

Энфувиртид – препарат полипептидной природы, блокирует рецептор ВИЧ *gp41*, предотвращая слияние липидной оболочки ВИЧ с клеточной мембраной и вход вируса.

III. Препараты, блокирующие депротеинизацию вирусов

Производные адамантана (**ремантадин, амантадин**) – связываются с **белком M2** вируса **гриппа типа А** и тем самым

предупреждают образование ионного канала в вирусном капсиде и закисление содержимого вириона; все это приводит к нарушению депротенизации вирусов гриппа типа А.

IV. Препараты, *блокирующие внутриклеточную репродукцию вирусов*

В данную группу входят химиотерапевтические средства с самым разным механизмом противовирусной активности. Принцип их действия заключается в связывании и подавлении функции вирусных белков, необходимых для эффективной репродукции вирусов на всех ее этапах. Мишенями для них являются **вирусные ферменты**, различные структурные и регуляторные белки.

А. Препараты, *подавляющие синтез вирусных нуклеиновых кислот* в клетке

А.1. Средства, *блокирующие синтез вирусной ДНК*

А.1.1. Ациклические гуанозинсодержащие нуклеотиды – **ацикловир, валацикловир** (эффективны в отношении вирусов **герпеса I-III типов**), **ганцикловир** (подавляет репродукцию **цитомегаловируса (ЦМВ)** – вируса герпеса V типа). Препараты являются аналогами гуанозина, содержащими ациклическую вставку вместо природной дезоксирибозы. Взаимодействуют только с ферментом **тимидинкиназой** вируса герпеса, чем обусловлена высокая избирательность их действия в клетке. После фосфорилирования данным ферментом они связываются с **вирусной ДНК-полимеразой**, включаются в репликацию вирусной ДНК и обрывают синтез ее цепи (**терминация ДНК-цепи**).

А.1.2 Фоскарнет – производное фосфоновой кислоты, аналог пиродифосфата при синтезе ДНК вируса; **связывается с ДНК-полимеразой** вируса герпеса и блокирует ее активность; применяется при лечении герпетических инфекций, включая ЦМВ, особенно в случаях устойчивости к ацикловиру.

А.1.3. Ингибиторы обратной транскриптазы (РНК-зависимой ДНК-полимеразы)

Данные препараты являются ведущими в терапии ВИЧ-инфекции.

А.1.3.1. Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы – **азидотимидин**, дидезоксицитидин, **ламивудин** (применяется также для лечения гепатита В), **абакавир** и ряд других;

Нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы – **тенофовир**.

Механизм действия – связывание с *каталитическим активным центром обратной транскриптазы* и терминация цепи при синтезе ДНК.

А.1.3.2. Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы – **ифавиренц**, **невирапин** и другие. Механизм действия – связывание с *аллостерическим регуляторным центром* обратной транскриптазы с ингибированием фермента.

А2. Средства, блокирующие синтез вирусной РНК

Рибавирин – нуклеозидный препарат-аналог *пуриновых нуклеозидов*. Механизм действия многообразен и до конца не выяснен. Способен *ингибировать РНК-полимеразу*, при встраивании в вирусную РНК нарушает ее функцию. Активен в отношении многих РНК-содержащих вирусов, применяется при лечении респираторно-синцитиальной инфекции, вирусного гепатита С (ВГС), инфекции ТОРС, некоторых геморрагических лихорадок (лихорадки Ласса, хантавирусной инфекции).

Софосбувир – высокоэффективный *ингибитор синтеза РНК вируса гепатита С*. Представляет собой фторированное производное дезоксиуридина. Действует как дефектный субстрат для *вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы*, останавливая синтез цепи РНК.

В. Ингибиторы вирусных протеаз

В.1. Ингибиторы протеазы ВИЧ

Наряду с ингибиторами обратной транскриптазы составляют основу в лечении ВИЧ-инфекции.

К ним относятся **саквинавир**, **индинавир**, **ритонавир**, **нельфинавир** и другие средства. Избирательно блокируют протеазу ВИЧ, препятствуя образованию зрелых структурных белков ВИЧ.

В.2. Ингибиторы протеазы вируса гепатита С (ВГС)

Телапревир и **симепревир** – ингибиторы неструктурного белка NS3 – специфической *протеазы вируса гепатита С*. Препятствуют созреванию вирусных частиц. Эффективны в лечении ВГС генотипа 1.

С. Ингибиторы интегразы ВИЧ

Ралтегравир и ***элвитегравир*** специфически ингибируют ***интегразу ВИЧ*** – фермент, который после обратной транскрипции производит встраивание цепи ДНК ВИЧ в ДНК человека. Препараты блокируют участок связывания ионов металла (Mg или Mn) в активном центре интегразы, делая фермент неактивным.

Д. Ингибиторы вирусных регуляторных белков

Ледипасвир, ***даклатасвир*** и ***велпатасвир*** – специфические ингибиторы ***регуляторного неструктурного белка вируса гепатита С NS5A***. Функция неструктурного белка NS5A весьма многообразна и пока еще не установлена полностью. Этот белок контролирует активность вирусной РНК-полимеразы, влияет на транскрипцию вирусной РНК и продукцию интерферона зараженными клетками.

Данные средства применяются в комбинации с софосбувиром при лечении вирусного гепатита С без одновременного назначения препаратов интерферона.

У. Препараты, ингибирующие сборку вирусных частиц

Помимо ингибиторов протеаз, блокирующих образование поздних вирусных белков, синтез поздних вирусных белков и сборку вирусных частиц нарушает ***метисазон*** – препарат, эффективный против ***вируса натуральной оспы***.

VI. Препараты, нарушающие выход вируса из зараженной клетки

Ингибиторы нейраминидазы вируса гриппа озельтамивир и ***занамивир*** препятствуют выходу вирусных частиц ***гриппа типа А и В*** из зараженных клеток. При завершении репродукции нейраминидаза вируса гриппа отщепляет остаток сиаловой кислоты от вирусного гемагглютинина, который далее должен связываться с мембраной клетки для последующего выхода вирионов. Блокируя нейраминидазу, озельтамивир и занамивир нарушают этот процесс.

VII. Препараты, стимулирующие противовирусный иммунитет

Перечень ***иммуномодуляторов***, активирующих противовирусный иммунный ответ, весьма обширен и включает десятки соединений различной природы. Среди них заметное место

занимают препараты группы *индукторов интерферона* (кагоцел, ларифан, амиксин, циклоферон, полудан и мн. др.). Однако до сих пор их клиническая эффективность не получила подтверждения в многоцентровых исследованиях, организованных по принципам доказательной медицины.

Тем не менее, для терапии вирусных инфекций широко применяется препарат *умифеновир* (*арбидол*, *арпетол* и др.). Имеются определенные указания, что помимо иммуномодулирующей активности, он способен препятствовать проникновению вируса гриппа в чувствительные клетки, а также подавлять репродукцию вируса гепатита С.

Имиквимод и *резиквимод* активируют клетки врожденного иммунитета через образ-распознающие рецепторы *TLR-7* и *TLR-8*. Это приводит к усилению продукции цитокинов – α -интерферона, α -ФНО, ИЛ-6, которые обладают противовирусной активностью.

Для местного применения используются мази, содержащие данные средства, в терапии генитальных кондилом, вызванных папилломавирусами человека, а также в лечении герпетической инфекции.

Следует отметить, что в связи с выраженной изменчивостью вирусы достаточно быстро развивают устойчивость к проводимой противовирусной терапии. Это особенно характерно для РНК-содержащих вирусов (ретровирусов, вируса гепатита С, гриппа и других). Для ее предупреждения противовирусные средства должны назначаться строго по показаниям; также должен быть обеспечен контроль за развитием устойчивости молекулярно-генетическими методами со своевременным выявлением устойчивых вирусных штаммов.

Вследствие этого, во многих случаях наиболее эффективной становится ***комбинированная терапия вирусных инфекций*** с применением нескольких препаратов с разным механизмом действия. В результате комбинированного лечения репродукция вируса может быть полностью остановлена. Данный подход успешно реализуется в клинической практике:

– *высокоактивная антиретровирусная терапия ВИЧ-инфекции (ВААРТ)* включает одновременное назначение ингибиторов обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ;

– при вирусном гепатите С комбинация ледипасвира или даклатасвира с софосбувиром позволяет добиться элиминации вируса

гепатита С более чем в 95% случаях без одновременного назначения препаратов интерферона.

Новые, еще более эффективные противовирусные лекарственные средства и их комбинации будут внедрены в медицинскую практику в ближайшем будущем.

2.2. Профилактика вирусных инфекций

Несмотря на очевидные успехи в лечении вирусных инфекционных заболеваний, наиболее действенным методом их контроля является **специфическая профилактика**, основанная на **вакцинации**. Применяемые противовирусные вакцины создают и поддерживают прочный **приобретенный активный иммунитет**.

Доказано, что по соотношению «стоимость-эффективность» вакцинация **превосходит** любое известное медицинское вмешательство. Согласно имеющимся оценкам, в мире ежегодно проводимая вакцинопрофилактика предотвращает не менее 6 млн смертельных исходов инфекционных болезней.

Основные **преимущества вакцинации**:

1) **эрадикация** (глобальная ликвидация) или **элиминация** (региональная ликвидация) возбудителей ряда инфекционных заболеваний;

2) снижение инфекционной заболеваемости и смертности (особенно в раннем детском возрасте и среди пожилых лиц); уменьшение тяжести течения инфекционных болезней, предупреждение развития осложнений;

3) формирование популяционного иммунитета (в том числе – снижение заболеваемости среди невакцинированных лиц);

4) предупреждение ассоциированной онкопатологии (первичной гепатомы, аденокарциномы шейки матки);

5) снижение индивидуальной и общественной уязвимости к актам биотерроризма;

6) как итог – увеличение ожидаемой продолжительности жизни в человеческой популяции;

7) положительные социально-экономические эффекты (прямые – снижение затрат на здравоохранение; непрямые – стимуляция экономического роста вследствие улучшения общественного здоровья).

Применение вакцинопрофилактики позволило резко снизить количество случаев вакциноуправляемых инфекций, включая широкий ряд вирусных заболеваний.

Впервые в истории удалось провести полную эрадикацию возбудителя тяжелейшей особо опасной инфекции – вируса натуральной оспы.

Для этого в 1958 году на основе опыта СССР по ликвидации оспы академик В.М. Жданов предложил на XI сессии Всемирной Ассамблеи здравоохранения программу ликвидации оспы во всем мире. Программа была выполнена в глобальном масштабе. В 1977 г. был зарегистрирован последний случай заражения вирусом; об эрадикации оспы было официально объявлено на Всемирной Ассамблее здравоохранения в 1980 г.

Вакцина против бешенства до сих пор является единственным средством предотвращения летального исхода при инфицировании данным вирусом.

Иммунизация против вирусного гепатита В не только резко снизила число новых случаев этой инфекции, но также явилась методом профилактики рака печени. Развитие рака шейки матки предупреждает вакцинация женщин против инфекции папилломавирусами человека.

Согласно текущей редакции Национального календаря профилактических прививок, независимо от эпидемиологической ситуации в Республике Беларусь проводится плановая вакцинация против следующих вирусных заболеваний: вирусного гепатита В, полиомиелита, кори, паротита и краснухи, гриппа.

По эпидемическим показаниям (контактным лицам; работникам отдельных профессий, а также в случаях, если инфицирование приводит к осложненному течению заболевания или летальному исходу) выполняют прививки против бешенства, ветряной оспы, вирусного гепатита А и В. Контактным лицам, у которых нет документальных подтверждений о прививках или отсутствуют данные о наличии иммунитета, также проводят дополнительную вакцинацию против кори, эпидемического паротита, краснухи и полиомиелита.

Пока не входят в календарь прививок, но зарегистрированы и разрешены к применению в Республике Беларусь вакцины против ротавирусной инфекции, вакцина против вирусов папилломы человека.

Для иммунизации используют противовирусные вакцины, относящиеся к различным группам:

- **живые аттенуированные** вакцины, содержащие ослабленные штаммы вирусов;
- **инактивированные** («убитые») вакцины;
- **«сплит»-вакцины** (от англ. *split* – расщеплять, раскалывать) – разновидность инактивированных вакцин, в которых липидная оболочка вируса удалена при помощи детергента; это улучшает доступность капсидных белков для клеток системы иммунитета;
- **субъединичные** вакцины, представляющие собой различные комбинации очищенных наиболее иммуногенных вирусных белков (вакцина против гриппа)
- **генно-инженерные** (рекомбинантные) вакцины.

Оптимальным является использование *поливалентных вакцин (поливакцин)*, содержащих комбинацию антигенов нескольких возбудителей и адъювант. Такие вакцины не менее эффективны, и при этом значительно упрощают схему иммунопрофилактики, сокращая число инъекций.

Как результат многолетней плановой вакцинации, в Республике Беларусь ликвидирован полиомиелит. В настоящее время отсутствуют или регистрируются лишь единичные, обычно завозные, случаи кори (для сравнения, в допрививочный период выявлялось 70 тыс. случаев болезни ежегодно), краснухи (еще в 1997 г. отмечалось свыше 40 тыс. случаев), эпидемического паротита; в 10 раз снизилась заболеваемость вирусным гепатитом В.

Расширились показания для вакцинации лиц с вторичным иммунодефицитом (в том числе пациентов, находящихся на химиотерапии онкологических заболеваний). Вследствие возобновления пероральной вакцинации диких животных против бешенства сократилась циркуляция этого вируса в животной популяции, снижая вероятность заражения людей.

Об эффективности прививочных мер свидетельствует также улучшение ситуации с заболеванием ветряной оспой. Массовая вакцинация контактных лиц приводит к резкому снижению заболеваемости (в частности, по г. Минску из 3300 контактных детей, привитых в течение двух дней после контакта, заболело только 20 человек).

С учетом выдающихся возможностей вакцинопрофилактики в борьбе с инфекционными заболеваниями Всемирная организация здравоохранения объявила 2011-2020 гг. десятилетием вакцин. В мае 2012 года Всемирная ассамблея здравоохранения одобрила *Глобальный план действий в отношении вакцин (ГПДВ)*. Целью плана стало «...предотвращение к 2020 году миллионов случаев смерти благодаря обеспечению более справедливого доступа к существующим вакцинам для населения всех стран и сообществ».

Задачами плана являются:

достижение целевых показателей по охвату вакцинацией;

наращивание темпов борьбы с болезнями, предотвратимыми с помощью вакцин, включая глобальную эрадикацию полиомиелита к 2018 г.;

внедрение новых и улучшенных вакцин; внедрение разработок для получения вакцин и технологий следующего поколения.

С решением этих задач будет связан дальнейший прогресс современной вакцинопрофилактики.

Пока еще не разработаны вакцины к таким тяжелым вирусным заболеваниям, как ВИЧ-инфекция, гепатит С, вирусные геморрагические лихорадки, включая лихорадку Эбола. С одной стороны, это обусловлено непрерывной изменчивостью самих вирусов, с другой – высокими затратами на разработку вакцин и проведение клинических испытаний.

Создание и внедрение *вакцин, действующих на новых принципах*, расширяет границы вакцинопрофилактики. К перспективным вакцинам относятся:

– **ДНК-вакцины**, основанные на введении и длительной экспрессии в клетках организма фрагментов чужеродной *ДНК, кодирующей антигены вирусов*. Чужеродную ДНК встраивают в *генетический вектор* (другой вирус или бактерию) для ее внедрения в макроорганизм, или вирусная ДНК может быть непосредственно доставлена в клетки при помощи микроинъекций или электропорации;

– вакцины с применением **дендритных клеток** и пептидных антигенов, стимулирующие Т-клеточный иммунитет;

– использование **новых адъювантов**, повышающих иммунный ответ (синтетические полиэлектролиты, *стимуляторы Toll-like рецепторов*).

В ближайшем будущем вакцины, основанные на новых принципах, могут стать средством профилактики не только вирусных

инфекций, но и ряда неинфекционных заболеваний, включая различные виды онкопатологии.

Неспецифическая профилактика вирусных инфекций традиционна и включает санитарно-гигиенические и противоэпидемические мероприятия, направленные на выявление и санацию источников инфекции, дезинфекцию очагов, уничтожение переносчиков вирусных инфекций, при необходимости – карантинные меры, стерилизацию материалов и инструментария, вирусологический мониторинг объектов окружающей среды, контроль и предупреждение формирования вирусных штаммов, устойчивых к химиотерапевтическим средствам.

III. БАКТЕРИОФАГИ

3.1. Общая характеристика бактериофагов

Бактериофаги – это вирусы, являющиеся специфическими паразитами бактериальных клеток. Они не способны размножаться в клетках эукариот.

В 1917 г. франко-канадский исследователь Феликс д'Эррель выявил лизис бактерий – возбудителей дизентерии, после внесения в культуру бесклеточного фильтрата испражнений пациентов с данным заболеванием. Ф. д'Эррель назвал обнаруженный им фактор лизиса бактериофагом. В дальнейшем он получил препарат бактериофага из микробной культуры и в 1919 г. впервые успешно применил его для лечения бактериальных инфекций.

Ранее сходные феномены были отмечены русским микробиологом Н.Ф. Гамалеей (1897 г.) на возбудителях сибирской язвы и английским ученым Ф. Туортом (1915 г.) на культурах стафилококка.

Бактериофаги распространены в природе повсеместно – там, где присутствуют бактерии (*убиквитарность* бактериофагов). Их выявляют в воде, почве, выделениях человека и животных, пищевых продуктах и т.д. Устойчивость фагов позволяет им длительное время сохраняться на объектах окружающей среды. В воде фаги являются неотъемлемой частью бактериопланктона (в 1 мл морской воды содержится до $2-3 \cdot 10^8$ фаговых частиц).

При инфекциях бактериофаги выделяются из организма с фекалиями, мочой, слюной и т.п. одновременно с бактериальными возбудителями заболеваний. Они являются важными **эпидемиологическими маркерами** инфекции.

Считается, что бактериофаги представляют собой наиболее многочисленную и филогенетически древнюю группу вирусов. Рассчитанное количество фаговых частиц на Земле ($10^{30}-10^{31}$) превышает общее число любых других организмов, включая бактерии.

Фаги играют одну из основных ролей в поддержании баланса в биосфере планеты, регулируя численность микробных клеток. Лизис бактерий фагами высвобождает большое количество нутриентов микробного происхождения (белков, углеводов, липидов). Трансдуцирующие фаги обеспечивают горизонтальный перенос генов

между бактериями, что приводит к ускоренной эволюции бактериальной популяции и селекции приспособленных микроорганизмов, включая штаммы, устойчивые к антибиотикам.

3.2. Классификация и структура бактериофагов

Бактериофаги – вирусы-паразиты прокариот – являются весьма многочисленными. Они относятся к 19 семействам. Представители 9 из них инфицируют бактерий, 9 – архебактерий, представители еще 1 семейства – и тех, и других.

Классификация фагов определяется типом их нуклеиновой кислоты и структурой фаговой частицы. Только два семейства представлены РНК-содержащими бактериофагами, остальные содержат ДНК. Фаги из 2-х семейств имеют в геноме однонитевую ДНК, прочие – двухнитевую. Геномная ДНК может быть как кольцевой, так и линейной.

По данным электронной микроскопии **по морфологии** большинство фаговых частиц напоминают по форме *сперматозоид* или *головастик*.

Основными элементами структуры фага являются **головка**, содержащая упакованную *нуклеиновую кислоту*, и **отросток** («хвост фага»), который заканчивается *базальной пластинкой с зубцами* (фибрами) для прикрепления к бактериальной клетке. У некоторых фагов головка может быть покрыта липидным суперкапсидом, отросток может быть окружен сократительной белковой оболочкой (*чехлом*).

Фаг такой структуры имеет **смешанный тип симметрии** (головка – *кубический*, хвост – *спиральный*).

Размеры фага в среднем колеблются от 20 до 200 нм (нитевидные фаги – до 800 нм).

Общее содержание белков в фаговой частице составляет 50-60%, нуклеиновой кислоты – до 40-50%, липидов – до 1,5-3%.

Хорошо изучены Т-фаги кишечной палочки (англ. *type* – типовые), включающие 7 представителей (Т1-Т7).

По морфологии различают пять основных типов бактериофагов.

- 1) ДНК-содержащие нитевидные фаги;
- 2) РНК-содержащие фаги с рудиментом (аналогом) отростка;
- 3) ДНК-содержащие фаги с коротким отростком;

4) ДНК-содержащие фаги отростка с длинным отростком и несокращающимся чехлом;

5) ДНК-содержащие фаги с сокращающимся чехлом отростка с базальной пластинкой.

Для проникновения в микробную клетку под чехлом у фагов содержится фермент *эндолизин* (*муреин-гидролаза*), аналогичный по функции ферменту лизоциму. Также здесь находятся *АТФаза* и ионы кальция, необходимые для сокращения чехла. В головке внутренние белки содержат *полиамины* (спермин, путресцин) для связывания с нуклеиновой кислотой. Это способствует суперспирализации нуклеиновой кислоты и ее плотной упаковке. В головке также содержится фермент *транскриптаза* для транскрипции фаговой ДНК.

Антигенные свойства бактериофагов определяются, в первую очередь, выраженной иммуногенностью фаговых белков. В организме фаги вызывают синтез АТ, которые не дают перекрестных реакций с АГ бактерий, зараженных этими фагами. По антигенам бактериофаги делятся на серотипы.

3.3. Резистентность к факторам окружающей среды

Фаги в целом устойчивы к влиянию физических и химических факторов (температуре, высушиванию, изменениям pH, концентрации солей, действию некоторых дезинфектантов – фенола, этилового спирта, эфира, хлороформа). Выдерживают давление до 6000 атм; активны при pH от 2,5 до 8. Сохраняются длительное время в лиофильно высушенном состоянии, выдерживают замораживание.

Бактериофаги теряют жизнеспособность под действием ультрафиолета, при повышении температуры выше 65-70°C и при кипячении; при обработке 1% раствором формальдегида.

3.4. Взаимодействие фагов с бактериальными клетками

Выделяют следующие **стадии взаимодействия** бактериофагов с чувствительными бактериальными клетками:

- адсорбция;
- проникновение нуклеиновой кислоты фага в бактерию;

- репродукция бактериофага;
- выход фаговых частиц (для *вирулентных* фагов) или *лизогения* (для *умеренных* фагов)

Адсорбция происходит за счет рецепторов фаговой частицы (фибры и зубцы базальной пластинки), которые взаимодействуют с рецепторами оболочки бактериальной клетки (липополисахарид, тейхоевые кислоты, белки). Отдельные фаги адсорбируются на пиллях бактерий.

Прочность связывания зависит от pH среды, температуры, ионной силы. Его усиливают двухвалентные катионы кальция или магния.

На одной клетке может адсорбироваться до 300 фагов.

Проникновение нуклеиновой кислоты фага в бактерию зависит от сократительных белков чехла фага. Эндолизин разрушает участок клеточной стенки бактерии, происходит активация АТФазы, сокращение белков чехла и вталкивание центрального стержня отростка через мембрану в клетку. Далее осуществляется впрыскивание нуклеиновой кислоты (*инъекция фага*). При этом белки головки и отростка остаются снаружи.

Репродукция фага протекает в несколько этапов.

В начальный период (скрытая или *эклипс-фаза*) происходит остановка клеточного метаболизма с прекращением синтеза бактериальных нуклеиновых кислот и белков.

Активируется транскриптаза бактериофага, которая выполняет транскрипцию его ДНК. При этом на ДНК-матрице синтезируются фаговые иРНК, которые затем транслируются на рибосомах клетки с образованием **ранних** (ДНК-полимеразы, нуклеазы) и **поздних фаговых белков** (структурные белки, эндолизин, АТФаза).

Репликацию ДНК бактериофага выполняют вновь синтезированные фаговые ДНК-полимеразы. Нуклеазы фага останавливают синтез клеточной ДНК.

У РНК-содержащих фагов репликацию их нуклеиновой кислоты выполняет ранний фермент РНК-полимераза.

Созревание фаговых частиц (или сборка бактериофагов) заключается в заполнении фаговой ДНК вновь сформированных пустотелых капсидов головки. Параллельно формируются базальная пластинка и отросток, которые далее соединяются с головкой фага.

Время репродукции составляет от 10-15 минут до нескольких часов.

Выход зрелых фагов наиболее часто происходит путем *лизиса* с разрушением бактериальной клетки. Лизис осуществляется фаговыми *эндолизинами*. В одной клетке может образоваться несколько сотен фаговых частиц. У некоторых нитевидных фагов выход фаговых частиц происходит путем просачивания через клеточную стенку, при этом бактерия сохраняет жизнеспособность.

Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой характеризуется высокой специфичностью. *Моновалентные фаги* реагируют только с бактериями определенного вида; *типовые фаги* – только с отдельными вариантами (типами) данного вида бактерий. Типоспецифические бактериофаги используют для выявления соответствующих бактерий – т.е. для их **фаготипирования**. *Поливалентные фаги* могут связываться с несколькими родственными видами бактерий.

В результате взаимодействия фагов с бактериальными клетками возможны 2 *исхода*:

- **продуктивная** (*литическая*) инфекция с лизисом бактерии и образованием новых фаговых частиц;
- **интегративная** инфекция (*лизогения*) со *встраиванием ДНК фага в бактериальный геном* и *лизогенной конверсией* бактериальной клетки.

Фаги, способные к продуктивной инфекции и лизису бактерий, являются **вирулентными**.

Фаги, которые способны встраивать свою ДНК в геном бактериальной клетки, являются **умеренными**.

При интегративной инфекции умеренный фаг находится в состоянии **профага** – ДНК фага встроена в геном бактериальной клетки.

Иногда ДНК умеренных фагов может находиться в цитоплазме бактерии в виде плазмиды.

Профаг, ставший частью нуклеоида, при размножении бактерии, реплицируется одновременно с ее геномом. Лизиса бактерии не происходит, однако ДНК фага передается по наследству от клетки к клетке неограниченному числу потомков.

Интеграция генома бактерии с умеренным фагом (образование профага) называется **лизогенией**, а бактерии, имеющие профаг – **лизогенными**.

Бактериальная клетка, несущая в себе профаг, становится резистентной к действию идентичного фага. В такой клетке

продуцируются *репрессоры* – фаговые белки, препятствующие его размножению и проникновению в клетку идентичных фагов.

Под влиянием внешних факторов – ультрафиолетового или радиоактивного излучения, действия химических соединений, возможна ***индукция профага*** с образованием зрелых фаговых частиц и лизисом бактерии.

Происходит вырезание (*эксцизия*) фаговой ДНК из бактериального генома, ее репликация, синтез фаговых белков и сборка фагов.

Эксцизия фага может быть неточной или неполной с потерей части фаговой ДНК. Образуются ***дефектные фаги***, лишенные некоторых собственных генов. Вместо них в геном дефектных фагов могут включаться гены бактерий.

Если умеренные фаги, имеющие в геноме бактериальные гены, сохранили способность заражать другие бактериальные клетки и встраиваться в их геном, возникает явление *трансдукции*.

Трансдукция – это горизонтальный перенос генетического материала от одной бактериальной клетки к другой при помощи бактериофага. Трансдукция является важнейшим видом *рекомбинаций* у бактерий. Она ускоряет эволюцию бактериальной популяции.

Бактерии, зараженные трансдуцирующим фагом, приобретают новые свойства за счет новых генов, перенесенных дефектным фагом.

Изменение свойств микроорганизма под влиянием встроенного профага обозначается как ***фаговая*** или ***лизогенная конверсия***.

Дополнительной причиной конверсии может быть активация молчащих бактериальных генов, если гены профага выступают в роли промоторов.

Лизогенная конверсия характерна для многих видов бактерий. Она сопровождается выраженным изменением их культуральных, биохимических, антигенных или других свойств.

В клинических ситуациях особую важность приобретает появление в результате трансдукции антибиотикоустойчивых или высоковирулентных штаммов бактерий. В частности, передача *tox-генов* бактериофагами определяет продукцию экзотоксинов у возбудителей дифтерии, ботулизма, холеры.

3.5. Получение и определение бактериофагов

Для получения вирулентного фага готовят исходный материал (вода, фильтрат почвы, фильтрованная суспензия фекалий пациента и др.), содержащий необходимые фаговые частицы. Материал пропускают через бактериальные фильтры с контролируемым диаметром пор (0,45 мкм или менее), который задерживает клетки бактерий.

Подготовленный фильтрат вместе с чувствительной бактериальной культурой засевают в жидкую питательную среду и инкубируют при 37°C в течение 18-24 часов. Фаги размножаются, накапливаются в большом количестве и разрушают бактерии. После лизиса культуры остаточные микробные клетки и их фрагменты удаляют фильтрацией через бактериальный фильтр или центрифугированием. В *фильтрате фаголизата* будет находиться культура бактериофага.

Индикация бактериофага может быть проведена методом *стекающей капли* или дорожки. В этом случае чувствительную культуру засевают на чашку Петри с питательной средой сплошным газоном. Далее на поверхность посева наносят каплю фильтрата, содержащую бактериофаг, которая при стекании образует дорожку. После инкубации при 37°C в течение 24 ч наблюдают стерильную дорожку (зону лизиса) в сплошном газоне бактерий.

Количественное определение (титрование) бактериофагов проводят в *жидкой* (метод *Аппельмана*) или *плотной* (метод *Грациа*) питательных средах.

При титровании в жидкой питательной среде в пробирках или лунках планшета со средой готовят десятикратные разведения бактериофага. В каждую пробирку вносят чувствительную к фагу бактериальную культуру в стандартном количестве. После суточной инкубации оценивают полученные результаты. **Титром фага** является наибольшее разведение бактериофага, при котором полностью отсутствует видимый рост бактерий.

При титровании в плотной питательной среде на чашки Петри с тонким слоем мясо-пептонного агара (МПА) наносят смесь фагов и бактерий. Для этого к расплавленному и остуженному до 50-55°C агару добавляют десятикратные разведения бактериофага и соответствующую тест-культуру. Смесь быстро выливают на поверхность МПА. После застывания второго слоя агара чашки инкубируют при 37°C.

В контроле незараженные фагом бактерии, размножаясь, образуют сплошной газон роста на поверхности агара.

Каждая инфицированная фагом бактерия лизируется и высвобождает новое потомство фага, состоящее из сотен фаговых частиц. Они внедряются в интактные клетки, и весь цикл повторяется. В результате лизиса клеток фагом на сплошном бактериальном газоне появляются **негативные колонии** (*зоны лизиса* или *бляшки*). Число этих пятен соответствуют количеству фаговых частиц в засеянной смеси.

Титр фага на плотной питательной среде – это максимальное разведение фага, при котором еще отмечаются стерильные пятна лизиса.

3.6. Практическое использование бактериофагов

Применение бактериофагов основано на их строгой специфичности в отношении чувствительных к ним бактериальных клеток.

В *медицине* и *санитарии* фаги используют для *диагностики*, *лечения* или *профилактики* бактериальных инфекций.

При проведении ***диагностики*** бактериофаги применяют для ***идентификации*** выделенных культур бактерий. Идентификацию выполняют при помощи фагов, специфичных к отдельным видам (бактериофаги шигелл Флекснера, Зонне) или вариантам бактерий (бактериофаги к биоварам холерного вибриона).

С помощью типоспецифических фагов проводят ***фаготипирование***, т.е. устанавливают принадлежность неизвестной выделенной культуры бактерии к определенному *фаготипу*. ***Фаготип*** является важным *эпидемиологическим маркером* выделенного штамма возбудителя, так как один и тот же вид бактерий может содержать десятки фаготипов. Определение фаготипов и последующее их сравнение у разных штаммов одного вида позволяет установить источник и пути распространения инфекций.

Кроме того, обнаружение специфических бактериофагов в объектах окружающей среды или клиническом материале может указывать на наличие в них соответствующих бактерий (например, определение коли-фагов в воде).

Фаги применяют для *лечения* и *профилактики* инфекционных болезней. В связи с широким распространением

антибиотикоустойчивых штаммов бактерий наблюдается повышенный интерес к бактериофагам как высокоспецифичным средствам для лечения бактериальных инфекций. При этом фаги способны проникать и размножаться в микробных биопленках.

Налажено производство брюшнотифозного, сальмонеллезного, дизентерийного, клебсиеллезного, протейного, синегнойного, стафилококкового фагов, коли-фагов и комбинированных фагов. Их выпускают в жидком виде, в таблетках с кислотоустойчивым покрытием, в форме мазей, аэрозолей.

В **биотехнологии** трансдуцирующие фаги используют в качестве **векторов** для *генной инженерии*. С их помощью в бактерии встраивают гены человека, синтезирующие гормоны, цитокины, антитела или другие субстанции.

Для изучения функции белковых молекул и создания библиотек генов и кодируемых ими белков применяется технология «*фагового дисплея*». Для этого необходимые гены встраивают в геном трансдуцирующего бактериофага в область гена, кодирующего капсидный структурный белок. После размножения в чувствительных бактериальных клетках образуется набор рекомбинантных фагов, в капсиде которых на поверхности фаговой частицы представлены изучаемые белки («*фаговый дисплей*»).

Для исследования свойств белков, внедренных в капсид бактериофага, проводят взаимодействие набора рекомбинантных фагов с известными белками или нуклеиновыми кислотами, адсорбированными на твердой фазе. Если в составе капсида фага имеются белки, способные к прочному специфическому взаимодействию, то такие фаговые частицы останутся на твердой фазе. Их выделяют и размножают в чувствительной бактериальной культуре. Тем самым удастся провести *отбор in vitro* белков с необходимой функцией и специфичностью взаимодействия.

РАЗДЕЛ 2.
ЧАСТНАЯ ВИРУСОЛОГИЯ
ВОЗБУДИТЕЛИ ВИРУСНЫХ
ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА

РАЗДЕЛ 2.1. РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ

I. СЕМЕЙСТВО ОРТОМИКСОВИРУСОВ (*Orthomyxoviridae*). ВИРУСЫ ГРИППА

Острые респираторные вирусные инфекции (**ОРВИ**) составляют до 90% от всех ежегодно регистрируемых инфекционных заболеваний. Их причиной могут стать свыше 200 различных видов вирусов, поражающих дыхательные пути. Ведущее место в этиологии ОРВИ принадлежит вирусам гриппа. Для гриппа характерна эпидемическая заболеваемость и во многих случаях – тяжелое течение. Наиболее тяжело болезнь протекает у детей до 1 года, а также у пожилых лиц. Считается, что свыше 85% общих экономических потерь от инфекций обусловлено ОРВИ и гриппом, при этом гриппозная инфекция определяет до 10% всех случаев временной нетрудоспособности.

Вирус гриппа типа А был впервые выделен В. Смитом, К. Эндрюсом и П. Лейдлоу в 1933 г. В 1940 г. Т. Френсис с соавт. обнаружили вирус гриппа типа В, а в 1949 г. Р. Тейлор – вирус типа С.

Вирусы гриппа типа А широко распространены в природе. Эти возбудители поражают птиц и многие виды млекопитающих, включая свиней и лошадей. Для человека вирусы гриппа типа А представляют максимальную эпидемиологическую опасность. Они вызывают как сезонные эпидемии, повторяющиеся через 2-3 года, так и глобальные пандемии, которые возникают регулярно с интервалом от 10 до 40 лет.

Вирусы гриппа типа В и С циркулируют главным образом в человеческой популяции. Вирус типа В вызывает отдельные сезонные эпидемические вспышки с интервалом от 3 до 6 лет. Помимо организма человека, он также был выделен от тюленей.

Вирус типа гриппа типа С вызывает ограниченные вспышки инфекции с легким течением. Кроме человека, возбудитель в отдельных случаях может заражать свиней.

1.1. Классификация

Вирусы гриппа относят к семейству *Orthomyxoviridae*. В данном семействе известно 6 родов. Каждый из трех типов вируса гриппа образует самостоятельный род (*Influenzavirus A*, *B* и *C*), в который входит единственный вид (вирус гриппа А, В или С, соответственно).

Деление вирусов на **типы** А, В, С определяется различиями в антигенной структуре нуклеокапсидного **белка NP** сердцевины вируса.

В свою очередь, вирус гриппа типа А разделяется на **подтипы** в зависимости от комбинации его поверхностных антигенов **гемагглютинина H** и **нейраминидазы N**. Полное обозначение изолята вируса включает также номер штамма, год и место его выделения, например, А/Москва/10/1999/(H3N2).

1.2. Свойства вирусов гриппа

1.2.1. Морфология и ультраструктура вириона

Вирус гриппа представляет собой частицу *сферической* или овальной формы диаметром 80-120 нм, которая окружена внешней липидной оболочкой-*суперкапсидом* (сложный вирус).

Геном представлен *линейной сегментированной* однонитевой (–) **РНК**. Тип симметрии нуклеокапсида – *спиральный*.

Вирусы гриппа типов А и В имеют 8 генных сегментов, вирус гриппа С – 7 сегментов.

Установлено, что у возбудителя гриппа типа А восемь сегментов РНК кодируют не менее 15 различных вирусных белков. Такое разнообразие обусловлено наличием нескольких рамок считывания при транскрипции отдельных генных сегментов, а также сплайсингом вирусной иРНК.

Наиболее сложно устроена вирусная **РНК-полимераза**, состоящая из 3-х отдельных белковых субъединиц.

Нуклеокапсидный белок **NP** определяет **антигенную типовую специфичность** вирусов гриппа. Он связан с вирусной РНК.

Имеется два **матриксных белка** М1 и М2. **Белки М1** находятся под липидной оболочкой и покрывают нуклеокапсид вируса.

Белки М2 образуют ионные каналы в вирусной оболочке. Они способствуют «раздеванию» вируса в эндосоме, закисляя содержимое вириона.

Ряд белков выступает в роли **факторов вирулентности вируса**. Один из них (*PB1-F2*) поражает митохондрии и вызывает апоптоз зараженных клеток.

Неструктурный белок *NS1* подавляет экспрессию генов интерферона и других противовирусных цитокинов.

Протеин *PA-X* обладает эндонуклеазной активностью, разрушая клеточные иРНК. Тем самым он «выключает» синтез белков в зараженных клетках.

Наибольшим разнообразием отличаются поверхностные белковые **антигены**-гликопротеины, образующие шипы в липидной оболочке вируса – **гемагглютинин** и **нейраминидаза**. К настоящему времени у вирусов гриппа типа А известно 18 антигенных вариантов гемагглютинина и 11 вариантов нейраминидазы.

Их комбинации определяют разделение вирусов гриппа типа А на разные **подтипы**. Эпидемическими возбудителями гриппа типа А у человека являются подтипы H1N1, H2N2, H3N2.

Гемагглютинин Н склеивает эритроциты кур, человека и др. видов. Для вируса он выполняет функцию специфического **рецептора**, связываясь с остатками **сиаловой (нейраминовой) кислоты** на клетках эпителия верхних дыхательных путей.

Нейраминидаза N вируса гидролизует сиаловые кислоты в слизистом слое, покрывающем дыхательный эпителий. Тем самым она облегчает доступ вируса к эпителиальным клеткам. Другой ее важной функцией является предотвращение агрегации новых вирионов при их выходе из зараженной клетки.

В отличие от других вирусов, вирус гриппа типа С не имеет нейраминидазы. Его гемагглютинин обладает собственной эстеразной активностью, необходимой для репродукции вируса.

1.2.2. Генетическая изменчивость вирусов гриппа

РНК-геном вируса гриппа типа А чрезвычайно нестабилен. В среднем на 1 цикл репликации вируса приходится 1 мутация. Развитие сезонных эпидемий гриппа связано с постоянными **мутациями** в генах, кодирующих поверхностные вирусные белки – гемагглютинин и нейраминидазу (**генный дрейф**). Изменение антигенных свойств этих белков приводит к постепенному ускользанию вируса гриппа из-под контроля иммунитета, сложившегося в популяции. Тем не менее, все эти изменения происходят в пределах одного вирусного подтипа. Вследствие его

постоянной изменчивости, длительный и устойчивый иммунитет к вирусу обычно не сохраняется.

Новый подтип вируса гриппа возникает в результате процесса *генного шифта*. **Генный шифт** представляет собой *рекомбинацию (реассортацию)* сегментов РНК от двух разных вирусных подтипов при одновременной инфекции данными вирусами. Образующиеся новые рекомбинантные вирионы имеют другое сочетание поверхностных антигенов (гемагглютинина и нейраминидазы).

Появление нового подтипа вируса приводит к развитию глобальных вирусных пандемий, сопровождающихся повышенной летальностью. Это связано с отсутствием иммунитета к данному вирусу в популяции.

Источником новых подтипов вируса гриппа А для человека чаще всего являются птицы, у которых эти вирусы циркулируют постоянно. В обычных условиях заражения людей не происходит из-за отличий в строении клеточных рецепторов к вирусам (в частности, присутствие разных остатков сиаловой кислоты на клетках дыхательного эпителия у человека и птиц). Считается, что рекомбинация возможна в организме свиньи при одновременном заражении вирусами гриппа птиц и человека, так как клетки ее эпителия чувствительны к обоим вариантам вирусов. После пассирования через организм свиньи новый рекомбинантный вирус может приобрести способность заражать человека.

Вирусы гриппа типа В и С генетически более стабильны. Вирус типа В мутирует в несколько раз реже вируса типа А. Данный вирус также способен к генетическим рекомбинациям (генный шифт). Изменчивость вируса гриппа С ограничена умеренным генным дрейфом.

1.2.3. Устойчивость вириона

В воздухе вирусы гриппа сохраняют инфекционные свойства при комнатной температуре несколько часов. На поверхности предметов могут выживать до 24-48 часов. Чем выше температура и влажность, тем быстрее инактивируется вирус. Возбудители теряют жизнеспособность при нагревании до 60-70°C в течение нескольких минут. Чувствительны к ультрафиолетовым лучам, инактивируются под влиянием многих дезинфектантов (гипохлорита, фенола, формальдегида, этанола). Длительное время сохраняются в замороженном состоянии и в глицерине.

1.3. Репродукция вирусов гриппа

Вирион гриппа посредством гемагглютинина присоединяется к остаткам сиаловой кислоты, специфичным для эпителия верхних дыхательных путей. Активация гемагглютинина происходит под действием специфических протеаз респираторного тракта. При этом молекула гемагглютинина распадается на два фрагмента, один из которых обеспечивает связывание вириона с клеткой, другой – слияние вирусного суперкапсида с клеточной мембраной.

В цитоплазму клеток вирус гриппа попадает посредством эндоцитоза с образованием эндосомы. Кислая среда в эндосоме стимулирует депротеинизацию вируса, действуя через ионные каналы вирусных М2-белков.

После выхода в цитоплазму рибонуклеопротеины вируса доставляются в клеточное ядро. Под действием вирусной РНК-полимеразы на сегментах геномной (–) РНК происходит транскрипция с образованием вирусной плюс-нитевой иРНК. Она транспортируется в цитоплазму для синтеза вирусных белков на рибосомах. При этом вирус с помощью протеина РА-Х «выключает» синтез собственных клеточных белков.

Часть белков вируса возвращается в ядро, где происходит синтез геномной РНК и сборка вирусных нуклеокапсидов. Нуклеокапсиды доставляются в цитоплазму и присоединяются к гемагглютинину и нейраминидазе, которые уже находятся на клеточной мембране. Выход вируса происходит путем почкования через цитоплазматическую мембрану с захватом липидного суперкапсида.

Благодаря короткому циклу репродукции (до 6-8 часов) при попадании в дыхательные пути из одной вирусной частицы уже через 8 часов образуется 10^3 , а к концу первых суток инфекции до 10^{27} вирионов.

1.4. Эпидемиология гриппозной инфекции

Грипп – это самая массовая и тяжелая респираторная инфекция. По оценкам ВОЗ сезонные эпидемии гриппа охватывают не менее 5-10% взрослого населения и до 20-30% детей. При этом в мире ежегодно возникает до 3-5 млн тяжелых случаев заболевания, которые становятся причиной гибели от 250 до 500 тысяч человек.

В период глобальных пандемий гриппа типа А заболеваемость возрастает многократно, вирус может поражать до 30-40% населения земного шара. Пандемии возникают из-за появления нового варианта (подтипа) вируса гриппа А, к которому у большинства людей отсутствует иммунитет.

Пандемии гриппа сопровождают человечество в течение всего периода его истории. Их описания встречаются в хрониках, начиная, по крайней мере, с 1510 г. В течение XX и начала XXI века зарегистрировано 4 пандемии и 1 глобальная эпидемия гриппа.

В 1918 г. вирус гриппа типа А подтипа H1N1 вызвал пандемию «испанки». Эта наиболее тяжелая пандемия поразила свыше трети населения Земли с гибелью до 40 млн человек. Пандемия 1957 г. («азиатский грипп») охватила 2 млрд людей, ее причиной был вирус А (H2N2). В 1968 г. пандемию вызвал вирус А подтип H3N2 («гонконгский грипп»). Глобальная эпидемия 1977/1978 г была вновь обусловлена вирусом гриппа типа А подтипа H1N1 («русский грипп»).

Последняя современная пандемия гриппа была объявлена ВОЗ в 2009 г. Ее причиной стал новый пандемический вариант вируса гриппа типа А подтипа H1N1 («свиной грипп»).

Потенциально весьма серьезную угрозу для человека представляют вирусы, циркулирующие среди птиц и животных. Некоторые из них (H5N1, H7N9) уже вызывают ограниченные вспышки среди населения ряда стран (Китай, Вьетнам), которые сопровождаются чрезвычайно высокой летальностью (от 25 до 60%).

1.5. Патогенез и характеристика заболевания

Источник инфекции – больной человек.

Механизм передачи – аэрогенный (аэрозольный), путь передачи – воздушно-капельный.

Инкубационный период заболевания обычно короткий – от 6-12 часов до суток. Иногда он удлиняется до 2-3 дней в зависимости от дозы вируса и состояния иммунитета. Человек, не имеющий иммунитета, полностью восприимчив к вирусу.

Вирус репродуцируется в клетках эпителия верхних дыхательных путей. От места его внедрения процесс быстро распространяется по всей слизистой оболочке, при этом эпителий разрушается. В процесс вовлекаются все отделы воздухоносных путей вплоть до альвеол.

Гибель клеток при гриппе обусловлена интенсивной репродукцией вируса, активацией апоптоза под действием белков вируса и факторов воспаления, генерацией активных форм кислорода (АФК) и азота, повреждающих клеточные мембраны.

Через эрозированную поверхность слизистой оболочки вирус может попадать в кровь и повреждать эндотелиальные клетки кровеносных сосудов (капилляров). В результате увеличивается сосудистая проницаемость, возникают кровоизлияния в органы.

Заболевание начинается остро с лихорадки до 39-40°C, головной боли, боли в глазных яблоках. К концу первых суток возникают катаральные явления – сухой кашель, ринит. У пациента наблюдается гиперемия и одутловатость лица, могут быть боли в мышцах и суставах.

В неосложненных случаях лихорадка продолжается до 4-5 суток с последующим быстрым снижением. Кашель может продолжаться до 2-3 недель. Окончательное восстановление дыхательного эпителия происходит в течение месяца.

Ведущим осложнением гриппозной инфекции являются *пневмонии*. При гриппе различают *первичную пневмонию*, обусловленную разрушением альвеолоцитов самим вирусом, и *вторичную* вирусно-бактериальную пневмонию. При вторичной пневмонии разрушение эпителия вирусом и подавление местного иммунитета приводят к активации бактериальной микрофлоры дыхательных путей. Наиболее часто такие пневмонии обусловлены стрептококками, золотистым стафилококком, инфекцией *Haemophilus influenza*.

При тяжелом течении гриппа может развиваться респираторный дистресс-синдром (дыхательная недостаточность с отеком легких), миокардит, в случае поражения ЦНС – вирусный энцефалит.

Наиболее тяжело заболевание протекает у детей первых лет жизни, пожилых людей и лиц со сниженным иммунитетом.

Иммунитет к вирусу специфичен к его подтипу и является длительным. Защитную роль играют антитела к гемагглютнину и нейраминидазе. Считается, что титр АТ сыворотки в РТГА 1/40 и выше является протективным и предохраняет от инфекции. АТ к гемагглютнину предупреждают инфицирование, АТ к нейраминидазе способствуют более легкому протеканию инфекции и снижают выделение вируса.

Тем не менее, антигенный дрейф приводит к постепенному уходу вируса от иммунного контроля.

Перекрестного иммунитета между тремя различными типами вируса не наблюдается.

Пассивный естественный иммунитет сохраняется у детей после рождения в течение 6-8 месяцев. Активный иммунитет создается вакцинацией.

1.6. Особенности пандемии гриппа 2009 года

По данным ВОЗ первая пандемия гриппа XXI века длилась с апреля 2009 по август 2010 г. Впервые заболевание было обнаружено в Мексике, затем инфекция появилась в США и в итоге была выявлена в 208 странах мира.

Возбудителем болезни стал новый вариант вируса гриппа типа А, подтипа H1N1. Он произошел вследствие рекомбинации (генного шифта) между американским и европейским вирусом гриппа свиней. При этом американский вирус также исходно появился как результат рекомбинации (реассортации) вируса гриппа свиней, птиц и человека. Тем самым пандемический вариант вируса A/2009/H1N1 (или pdm09) представляет собой «четверной реассортант», который оказался способным передаваться от человека к человеку воздушно-капельным путем.

Гриппозная инфекция, вызванная этим вирусом, имела свои особенности. В большинстве случаев выраженность симптомов заболевания была сходной с сезонным гриппом. Однако у ряда пациентов развивались серьезные осложнения, включая тяжелую пневмонию и респираторный дистресс-синдром с токсическим отеком легких. Повышенное сродство данного вируса к альвеолам может быть обусловлено особенностями его гемагглютиниона. В отличие от сезонных штаммов, он хорошо связывается с остатками сиаловой кислоты, соединенными α -2-3-гликозидной связью. Такой тип связи характерен для эпителия нижних дыхательных путей.

Заболеваемость была значительно более высокой у детей школьного возраста и молодых людей. В свою очередь, у пожилых лиц часто наблюдался перекрестный иммунитет к вирусу H1N1 вследствие предыдущих эпидемий. Риск осложнений был максимален у детей до 2 лет, высок у беременных, пациентов с сопутствующими заболеваниями, пожилых людей, лиц с ожирением.

Вирус H1N1 (pdm09) был исходно устойчив к ингибиторам M2-каналов (ремантадину).

По данным ретроспективного серологического анализа, пандемия охватила 10-20% населения в различных регионах мира. Летальность составила 0,01-0,03%, что не превышало показателей сезонного гриппа. Предполагается, что она могла быть на порядок выше из-за сложности лабораторного подтверждения данной инфекции.

К настоящему времени пандемический вариант вируса A/2009/H1N1 претерпевает антигенный дрейф, и он переходит в группу вирусов, вызывающих сезонную гриппозную инфекцию.

1.7. Характеристика инфекций, вызванных вирусами гриппа птиц

Вирусы гриппа типа А в природе циркулируют среди множества видов дикой и домашней птицы. У птиц они обуславливают самые разные варианты инфекционного процесса – от высоколетальных эпизоотий, до бессимптомного носительства. В случае перехода межвидового барьера с возможностью передачи возбудителей от птиц к человеку данные вирусы начинают представлять значительную эпидемическую опасность.

В 1997 г. в Гонконге среди населения возникла вспышка чрезвычайно тяжелой формы гриппозной инфекции. Ее возбудитель получил название «*высокопатогенный вирус гриппа птиц типа А подтипа H5N1*». Одновременно этот же вирус вызвал эпизоотию гриппа среди кур, которая привела к гибели более 75% поголовья. При этом до 20% птицы, находящейся на рынке, было инфицировано вирусом. В дальнейшем в странах Юго-Восточной Азии вспышки «птичьего гриппа» среди людей регистрировались неоднократно, отличаясь при этом крайне высокой летальностью.

По данным ВОЗ к июлю 2015 г. общее число подтвержденных случаев гриппа птиц у людей достигло 844, при этом 449 человек погибли. Летальность превысила 50%. Заболевание регистрируется во многих странах Африки, единичные случаи выявлены в Канаде, Азербайджане. При этом вспышки инфекции H5N1 среди птиц сейчас отмечаются более чем в 50 странах мира, включая большинство государств Европы, Азии, в СНГ – в Российской Федерации, Казахстане, Украине. В Республике Беларусь данная инфекция пока не обнаружена.

Резервуаром вируса в природе могут являться утки, у которых инфекция протекает малосимптомно.

Заболевание передается при контакте с зараженными птицами, их выделениями, при употреблении мяса, не прошедшего термическую обработку. Передача вируса от птиц человеку в целом затруднена и зависит от длительности контакта. Различные генетические варианты вируса отличаются по их вирулентности. Передача инфекции от человека к человеку возможна в исключительных случаях при длительном контакте. Далеко не все случаи заболевания у людей протекают в манифестной форме.

Входными воротами для инфекции являются дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), конъюнктива глаза. *Инкубационный период* составляет от 1 до 7 дней.

Биологические свойства вируса определяют течение гриппа птиц у людей. Гемагглютинин вируса H5N1 адаптирован к эпителию птиц и взаимодействует с остатками сиаловой кислоты, соединенными α -2-3-гликозидной связью. Такой тип связи характерен для птиц, у человека он присутствует лишь в эпителии нижних дыхательных путей. Тем самым передача инфекции человеку затрудняется, но в случае заболевания вирус непосредственно повреждает легкие.

Кроме того, в отличие от сезонных штаммов вируса гриппа, гемагглютинин H5 активируется протеазами, которые находятся в тканях организма повсеместно (например, белком фурином). Это определяет генерализованный характер поражения. Наконец, при гриппе H5N1 наблюдается гиперпродукция провоспалительных цитокинов (синдром системного воспалительного ответа). При этом наблюдается выраженная инфильтрация легочной ткани макрофагами.

Клинически заболевание протекает очень тяжело, возникает первичная вирусная пневмония с кровоизлияниями в легких и респираторным дистресс-синдромом. Распространение вируса по организму приводит к полиорганной недостаточности (легких, почек, печени), поражению ЦНС.

Вирус подтипа H5N1 представляет явную пандемическую угрозу в случае приобретения им способности к передаче от человека к человеку воздушно-капельным путем.

Однако данный возбудитель не является единственным птичьим вирусом, который может поражать человека. В Европе и Китае отмечены вспышки птичьего гриппа у людей, вызванных подтипом H7N7.

Наконец, новый вариант вируса гриппа птиц H7N9, высокопатогенный для человека, обнаружен в Китае в 2013 г.

Летальность при эпидемических вспышках данной инфекции превысила 25%.

1.8. Лабораторная диагностика гриппа

Материал для исследования – носоглоточный смыв или мазок. Для серологической диагностики используют сыворотку пациента. В случае летальных исходов изучают аутопсийный материал.

Экспресс-диагностика: для обнаружения антигенов вируса в материале применяют реакцию иммунной флюоресценции (РИФ) и иммуноферментный анализ (ИФА). Наилучшим методом быстрой диагностики является обнаружение вирусной РНК при помощи ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

Культивирование вируса (вирусологический метод): для выделения вируса заражают перевиваемую культуру клеток почек собак (MDCK), обезьян или 10-12-дневные куриные эмбрионы. Эмбрионы заражают в аллантоисную полость смывом с носоглотки, обработанным антибиотиком.

С целью *индикации* вируса проводят реакцию гемагглютинации (РГА), если она положительна, то для *идентификации* ставят реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) с антителами против соответствующих подтипов вируса (H1N1, H2N2 и др.) В культуре клеток для идентификации вируса используют реакцию нейтрализации (РН). Тип вируса определяют в ИФА или РН по вирусному типоспецифическому NP-антигену.

Для определения устойчивости вируса к противовирусным средствам применяют реакцию нейтрализации вируса химиопрепаратом на культуре клеток.

Серологический метод – ретроспективный, его используют для выявления антител к вирусу в реакции с парными сыворотками с помощью РТГА, ИФА, реакции нейтрализации в культуре клеток. Увеличение титра АТ во второй сыворотке в 4 и более раз расценивают как признак острой вирусной инфекции.

Серологические реакции также применяют для оценки коллективного иммунитета у населения. Титр специфических АТ 1/40 и выше считается защитным в отношении вируса.

1.9. Лечение и профилактика

Для **лечения** гриппозной инфекции применяется несколько групп противовирусных средств.

Производные адамантана (**ремантадин**) связываются с белком M2 вируса гриппа и тем самым блокируют депротенинизацию вируса. Они действуют только на вирусы гриппа типа А в инкубационном периоде или в течение 1-2 дня заболевания.

Ингибиторы нейраминидазы вируса гриппа **озельтамивир**, **занамивир**, перамивир препятствуют выходу вирусных частиц гриппа типа А и В из зараженных клеток. Озельтамивир уменьшает длительность заболевания при сезонном гриппе в среднем на 1 день.

Эти же препараты используют для экстренной профилактики инфекции после контакта с пациентом (*постконтактная профилактика*).

Следует отметить, что происходит повсеместное нарастание устойчивости вирусов к данным химиотерапевтическим средствам. В частности, к ремантадину был полностью устойчив пандемический вариант вируса А/2009/Н1N1. Нарастает резистентность вирусов к озельтамивиру.

Также для лечения и профилактики гриппа иногда применяют препарат **умифеновир** (*арбидол*, *арпетол*), оксолиновую мазь, возможно интраназальное применение α-интерферона.

В тяжелых случаях гриппа, в том числе для лечения гриппозной инфекции Н5N1, положительное действие может оказать введение сыворотки реконвалесцентов, содержащей специфические АТ к вирусу.

Разрабатываются новые средства, блокирующие активность вирусной полимеразы и гемагглютинаина.

Для **специфической профилактики** гриппа используют противогриппозные вакцины, создающие *противовирусный активный искусственный иммунитет*.

Своевременная вакцинация позволяет предупредить эпидемический подъем заболеваемости сезонным гриппом. Обычно ее проводят с октября по ноябрь для создания устойчивого иммунитета к началу эпидемического сезона. Состав вакцин должен соответствовать штаммам вируса – потенциальным возбудителям эпидемии.

Для этого ежегодно в феврале ВОЗ представляет данные о наиболее вероятных возбудителях следующей эпидемии.

Длительность поствакцинального иммунитета обычно не превышает 6-10 месяцев, поэтому вакцинацию оптимально проводить ежегодно.

В Республике Беларусь иммунизация против гриппа входит в Национальный календарь профилактических прививок. Ежегодно вакцинируются дети с 6 месяцев и взрослые.

Для иммунизации применяют различные виды вакцин. Три- или квадριвалентные вакцины (3 или 4 варианта вируса, соответственно) содержат антигены нескольких вирусов типов А и В.

Среди них:

- *живые аттенуированные* вакцины (например, «Ультравакс» с интраназальным введением);

- инаktivированные «сплит»-вакцины («Флюваксин», «Ваксигрип»);

- инаktivированные *субъединичные* вакцины («Гриппол», «Инфлювак»).

Эффективность вакцинации составляет от 60 до 90%. Вакцинация однозначно предохраняет от тяжелого течения заболевания. Также она предупреждает распространение инфекции в коллективе при иммунизации 70-80% лиц.

Наконец, массовая иммунизация против сезонных штаммов вируса резко снижает вероятность рекомбинации вируса гриппа человека с патогенными штаммами птиц и животных.

Неспецифическая профилактика гриппа включает санитарно-гигиенические и противоэпидемические мероприятия, блокирующие распространение респираторных инфекций. Проводится изоляция заболевших, дезинфекция очагов, при необходимости – карантинные мероприятия. В эпидемический период необходимо предупреждать большие скопления людей, повышать меры личной и общественной гигиены.

При подозрении на инфекцию высокопатогенным вирусом гриппа птиц А (H5N1) работа с ним проводится как с возбудителем особо опасной инфекции.

II. СЕМЕЙСТВО ПАРАМИКСОВИРУСОВ (*Paramyxoviridae*)

У человека представители семейства парамиксовирусов вызывают острые заболевания дыхательной системы (парагрипп, респираторно-синцитиальную инфекцию, метапневмовирусную инфекцию), а также широко распространенные детские инфекции (корь и эпидемический паротит).

Значительную угрозу для людей могут представлять отдельные возбудители парамиксовирусных инфекций, циркулирующие среди животных в Юго-Восточной Азии и Австралии. К ним относятся вирусы Нипах и Хендра. У человека они вызывают тяжелые энцефалиты и пневмонии, сопровождающиеся высокой летальностью.

Вирус парагриппа человека были впервые выделен в США (Р. Ченок, 1956 г.); вирус кори изолирован в 1954 г. в США Дж. Эндерсом и Т. Пиблзом, вирус эпидемического паротита – К. Джонсоном и Э. Гудпасчером в 1934 г.

Первые случаи инфекции вирусом Хендра зарегистрированы в 1994 г. в Австралии, вирусом Нипах – в Малайзии в 1998 г.

2.1. Классификация

Семейство *Paramyxoviridae* относится к вирусному порядку *Mononegavirales*.

Патогенные для человека представители относятся к родам *Respirovirus* (виды – вирус парагриппа типа 1 и вирус парагриппа типа 3), *Rubulavirus* (виды – вирус паротита, вирусы парагриппа 2, 4 и 5), *Morbillivirus* (вид – вирус кори), *Henipavirus* (виды – вирусы Хендра и Нипах).

2.2. Свойства парамиксовирусов

2.2.1. Морфология и ультраструктура вирионов

Вирионы парамиксовирусов представляют собой полиморфные частицы диаметром 150-300 нм. Чаще всего они имеют *сферическую* форму; окружены внешней липидной оболочкой-*суперкапсидом* (сложные вирусы). На поверхности вирусов имеются гликопротеиновые шипы.

Геном представлен *линейной несегментированной* однонитевой *отрицательной (-) РНК*. Тип симметрии нуклеокапсида – *спиральный*.

У разных представителей парамиксовирусов геномная РНК кодирует от 6 до 10 вирусных белков, обладающих *антигенными* свойствами.

Различают следующие вирусные белки:

- *нуклеокапсидные* белки *N* и *P* связаны с геномной РНК;
- вирусный фермент *РНК-полимераза L* также локализована в нуклеокапсиде;
- *поверхностный рецепторный гликопротеин* парамиксовирусов *HN* обладает функцией *гемагглютинина* и *нейраминидазы* (белок *H* вируса кори не имеет нейраминидазной активности). Данные белки образуют шипы в липидной оболочке вируса. Они проявляют выраженные гемагглютинирующие и гемадсорбирующие свойства.
- *матриксный белок M* находится под липидной оболочкой и покрывает нуклеокапсид вируса;
- *белок слияния F* находится в липидной оболочке вируса; он обеспечивает слияние вируса с клеточной мембраной, проявляет гемолитическую и цитотоксическую активность.

2.2.2. Устойчивость вирионов

Парамиксовирусы малоустойчивы в окружающей среде. Обычно они сохраняют инфекционные свойства при комнатной температуре в течение лишь нескольких часов (на различных поверхностях – до суток). Чем выше температура, тем быстрее инактивируются вирусы. Возбудители теряют жизнеспособность при нагревании до 50-55°C в течение 5-10 минут. Легко инактивируются под влиянием всех основных дезинфектантов (гипохлорита, формальдегида, этанола, детергентов и других).

2.3. Репродукция парамиксовирусов

Парамиксовирусы посредством белка HN присоединяются к остаткам *сиаловой кислоты* на клетках эпителия верхних дыхательных путей. Клеточным рецептором для вируса кори является кофактор комплемента CD46.

Под действием белка F происходит слияние вирусов с клеточной мембраной, высвобождение нуклеокапсида и его переход в

цитоплазму через пору в мембране. Репликация парамиксовирусов происходит непосредственно в *цитоплазме клеток*.

Далее выполняется транскрипция вирусных генов с РНК нуклеокапсида при помощи вирусной РНК-полимеразы. Образуются иРНК вируса положительной полярности, которые на рибосомах транслируются в вирусные белки. После этого начинается репликация геномных (–) РНК. Их синтез происходит через стадию промежуточной цепи РНК (+). Геномные РНК в цитоплазме связываются с белками и образуют нуклеокапсиды.

Вирусные белки транспортируются на мембрану клеток, туда же доставляются нуклеокапсиды, где происходит окончательная сборка вирусов. Выход вирусного потомства из клеток происходит путем почкования. Для парамиксовирусной инфекции, особенно для вируса кори, характерно слияние инфицированных клеток между собой с образованием *симпластов* под влиянием F-белка.

2.4. Особенности инфекций, вызванных вирусами парагриппа

На основании различий антигенной структуры выделяют 5 типов вирусов парагриппа человека (ВПГЧ). Типы 1-4 вызывают у людей *парагрипп*, 5 тип способен к инфекции человека, однако не вызывает развития заболеваний.

ВПГЧ типов 1-3 обуславливают не менее 1/3 от всех случаев ОРВИ у детей в возрасте до 5 лет. Для ВПГЧ 1-2 типа характерны эпидемические вспышки с интервалом в 2 года.

Источник инфекции – больной человек.

Основной путь передачи ВПГЧ – воздушно-капельный.

Инкубационный период – от 2 до 7 дней.

Возбудитель репродуцируется в клетках цилиндрического эпителия дыхательных путей и вызывает их деструкцию.

Наиболее частыми симптомами являются ринит и фарингит. В клинической картине наблюдаются упорный сухой кашель, заложенность носа. Лихорадка менее выражена, но более длительна, чем при гриппе. Интоксикация проявляется умеренно.

Типичным является поражение гортани с отеком и набуханием слизистой. Может возникать стенозирующий ларинготрахеит с затруднением дыхания (синдром *круп*а).

В отсутствие осложнений парагрипп обычно продолжается в течение 5-10 дней и заканчивается выздоровлением.

Инфекцию верхних дыхательных путей чаще вызывают вирусы 1 и 2 типов; инфекция нижних отделов (*бронхиолит* и *пневмония*) характерна для вируса 3 типа. В целом ВПГЧ-3 является одним из ведущих возбудителей вирусных бронхиолитов и пневмоний у детей в возрасте до 1 года. Течение пневмонии может быть тяжелым, болезнь сопровождается выраженной интоксикацией.

Иммунитет типоспецифический, поддерживается за счет секреторных IgA, направленных к вирусам. Несмотря на наличие нейтрализующих антител, возможна реинфекция одним и тем же типом вируса.

2.5. Характеристика детских инфекций, вызванных вирусами кори и эпидемического паротита

2.5.1. Корь

Корь как болезнь человека известна с глубокой древности. Еще в IX веке н.э. классическое описание кори дал в своем труде персидский врач и ученый Абу Бакр Мухаммад ар-Рази.

Вирус кори не содержит фермента нейраминидазы; гемагглютинин расположен гнездно в отдельных шипах суперкапсида. При размножении в культуре клеток вирус образует многоядерные симпласты, иногда – синцитий, вызывает бляшкообразование и гемадсорбцию. В цитоплазме и ядре инфицированных клеток наблюдаются вирусные включения.

Установлен *единственный антигенный вариант* (серотип) вируса кори.

Корь – это *антропонозное заболевание*. Инфекция возникает в виде эпидемических вспышек, чаще в детских невакцинированных коллективах. Также заболевают и невакцинированные взрослые люди.

Восприимчивость к кори у невакцинированных – 95-100%.

Источник инфекции – больной человек. Пациент заразен в конце инкубационного периода и в первые дни высыпаний.

Путь передачи – воздушно-капельный.

Инкубационный период – от 9 до 18 дней.

Корь – это острое инфекционное заболевание, для которого характерна лихорадка, интоксикация, поражение дыхательных путей, эндотелия, появление пятнисто-папулезной сыпи.

Первоначально вирус размножается в эпителии верхних дыхательных путей и регионарных лимфатических узлах. Далее он проникает в кровоток. *Первичная вирусемия* носит кратковременный характер и развивается на 3-5 сутки инкубационного периода. Возбудитель гематогенно разносится по всему организму, инфицирует эпителий, клетки эндотелия, макрофаги, лимфоциты.

Разрушение инфицированных клеток приводит к высвобождению вируса и развитию *второй волны вирусемии*. Тропность возбудителя к эпителиальным клеткам приводит к вторичному инфицированию конъюнктивы, слизистых оболочек дыхательных путей и полости рта. Циркуляция вируса в крови и иммунные реакции обуславливают повреждение стенок сосудов, отек тканей, некротические изменения в органах.

Для заболевания характерно острое начало, лихорадка 38-40°C или даже выше, интоксикация, выраженный конъюнктивит со светобоязнью (катаральный период). За 1-2 дня до возникновения сыпи во рту появляются пятна *Филатова-Коплика* (мелкие белесые очажки некроза на слизистой оболочке щек). Затем возникает пятнисто-папулезная сыпь на лице, туловище, конечностях. Сыпь – это результат воспалительных изменений в стенке сосудов (*васкулит*). После завершения периода высыпания наступает пигментация сыпи с последующим выздоровлением.

Осложнения коревой инфекции: *пневмония*, отит, синусит. Наиболее тяжелым осложнением (частота встречаемости – 1/1000 случаев) является коревой *энцефалит*. Еще более редким и потенциально фатальным осложнением коревой инфекции является подострый склерозирующий панэнцефалит. Он возникает из-за длительной персистенции вируса кори в организме после острого заболевания.

Иммунитет после болезни *стойкий, пожизненный*. Пассивный иммунитет сохраняется до 6 месяцев (обеспечивается противокоревыми антителами класса IgG, полученными от матери).

Разработка эффективной противокоревой вакцины радикально изменила эпидемическую ситуацию с корью. В большинстве стран (5 из 6 регионов ВОЗ) поставлена и успешно выполняется задача элиминации местных (эндемичных) случаев кори. Тем не менее, до 20 млн человек ежегодно в мире заболевают корью. В настоящее время от вспышек болезни страдают страны, где население не полностью охвачено вакцинацией (Юго-Восточная Азия, Африка). По данным

ВОЗ в 2013 г. от кори погибло более 145 тыс. человек (большинство – дети до 5 лет).

В Республике Беларусь отмечаются лишь единичные случаи кори. В 2013 г. зарегистрировано 16 заболевших, в 2014 г. – 64, при этом 59 из них связаны с завозной инфекцией из-за пределов страны.

2.5.2. Эпидемический паротит

Эпидемический паротит (или «свинка») – это острая вирусная инфекция, которая характеризуется преимущественным поражением железистых органов, в первую очередь – слюнных желез.

Вирус эпидемического паротита проявляет гемагглютинирующую, нейраминидазную, гемолитическую и симпластообразующую активность. Известен *единственный серотип* вируса.

Болеют только люди (*антропонозное заболевание*). Восприимчивость у невакцинированных – 50-70%. Болезнь протекает в форме эпидемических или локальных вспышек как у детей, так и взрослых.

Источник инфекции – больной человек. Он заразен в конце инкубационного периода и в первые 7-8 дней болезни.

Путь передачи – воздушно-капельный.

Инкубационный период – от 14 до 21 дня.

Возбудитель репродуцируется в эпителии носоглотки, затем попадает в кровь. В период вирусемии заносится в различные органы – околоушные слюнные железы, яички или яичники, поджелудочную, щитовидную железы, головной мозг.

Типичная форма болезни проявляется как одно- и двухсторонний ***паротит*** – воспаление и увеличение околоушных слюнных желез. Болезнь сопровождается лихорадкой, интоксикацией. Вирусемия приводит к диссеминации вируса по организму. У мальчиков в период полового созревания и у молодых мужчин в 30% случаев развивается орхит, у девочек может быть воспаление яичников (оофорит). При поражении внутренних органов возникает панкреатит, в случае инфекции ЦНС – менингит или менингоэнцефалит.

При обычном течении эпидемический паротит завершается выздоровлением. ***Иммунитет*** после болезни *стойкий, пожизненный*.

Дети до 6 месяцев не болеют, что обусловлено антителами, полученными от матери (естественный пассивный иммунитет).

Как и в ситуации с корью, эпидемический паротит полностью контролируется специфической вакцинопрофилактикой. В 2014 г. в

Республике Беларусь зарегистрировано только 4 случая данного заболевания.

2.6. Особенности инфекции вирусами Хендра и Нипах

В 1994 г. в Австралии в пригороде Брисбена (Хендра) среди лошадей была впервые зарегистрирована вспышка гриппоподобного заболевания, смертельного для лошадей. При уходе за больными животными заразились 2 человека, один из которых погиб. Возбудитель заболевания был идентифицирован как новый парамиксовирус (вирус Хендра) и выделен в самостоятельный род. Впоследствии вспышки данной инфекции в Австралии повторялись неоднократно.

В 1999 г. в Малайзии была зарегистрирована вспышка тяжелой зоонозной инфекции, поразившей поголовье свиней. От животных заразились 257 человек, 105 из которых погибли. Новый вид парамиксовируса, вызывающий данное заболевание, был назван вирусом Нипах (по месту первого выделения). В дальнейшем вспышки инфекции Нипах неоднократно отмечались в Бангладеш (большинство случаев), в Индии, Сингапуре.

Вирусы Хендра и Нипах являются *высокопатогенными для человека*. Они вызывают особо опасные зоонозные системные вирусные инфекции с поражением дыхательных путей и ЦНС (пневмонии с острой дыхательной недостаточностью, энцефалиты). Летальность среди людей при вспышках достигает 40-60% и более.

Источником и резервуаром инфекции в природе являются плоядные летучие мыши. Они распространяют возбудителей другим животным (лошадям, свиньям и др.). Человек заражается при контакте с выделениями больных животных и пациентов, не исключаются аэрозольный и фекально-оральный механизмы передачи. Для инфекции Нипах установлена ее передача от человека к человеку.

Методы лечения и специфической профилактики данных инфекций у людей пока не разработаны. Для иммунизации лошадей в Австралии используется вакцина против вируса Хендра; вакцина против вируса Нипах находится в стадии испытаний.

2.7. Лабораторная диагностика инфекций, вызванных парамиксовирусами

Лабораторные методы являются ведущими при диагностике различных форм парамиксовирусных ОРВИ.

Диагноз эпидемического паротита обычно выставляется на основании клинических данных. Однако в неясных случаях необходимо его подтверждение лабораторными методами.

Окончательное установление диагноза кори также требует лабораторного подтверждения (ПЦР, ИФА) для исключения гипердиагностики данного заболевания.

Материал для исследования – *носоглоточный смыв* или мазок. При диагностике кори дополнительно исследуют соскобы из высыпных элементов, при эпидемическом паротите – слюну, ликвор, реже кровь или мочу. Для серодиагностики используют сыворотку пациентов, где определяют наличие специфических АТ.

В клинко-лабораторной диагностике парамиксовирусных инфекций наиболее широкое внедрение получили **экспресс-методы**.

Для определения вирусных антигенов применяют реакцию иммунной флюоресценции (*РИФ*) и иммуноферментный анализ (*ИФА*) с моноклональными АТ. Для обнаружения вирусной РНК в материале используют *ПЦР с обратной транскрипцией* (ОТ-ПЦР). Метод ОТ-ПЦР отличается максимальной чувствительностью и специфичностью.

Культивирование вируса (*вирусологический метод*): для выделения вирусов заражают культуры клеток Нер-2, HeLa, амниона человека и др. Изоляцию вируса эпидемического паротита можно проводить на куриных эмбрионах.

Индикацию выполняют по ЦПД (симпласты при кори, гигантские многоядерные клетки и цитоплазматические включения при паротите), а также в реакциях гемадсорбции и гемагглютинации.

Соответственно, для *идентификации* используют РТГА, реакцию нейтрализации ЦПД. Для подтверждения наличия вируса в культуре клеток применяют ОТ-ПЦР, иммунофлюоресценцию с моноклональными АТ.

Для **серодиагностики** обычно применяют реакции с *парными сыворотками* (ИФА, РТГА). Увеличение титра АТ во второй сыворотке в 4 и более раз расценивают как признак текущей или перенесенной вирусной инфекции. Диагноз острой вирусной

инфекции можно также подтвердить при обнаружении в сыворотке АТ класса IgM иммуноферментным анализом.

2.8. Лечение и профилактика

Лечение парамиксовирусных ОРВИ преимущественно поддерживающее и симптоматическое.

Для лечения тяжелых случаев кори у детей, а также с целью постконтактной профилактики кори назначают противокоревой иммуноглобулин, который получают из плацентарной и абортной крови или из крови иммунизированных доноров.

Специфическая профилактика кори и эпидемического паротита проводится **живой комбинированной вакциной** (КПК) против *кори, эпидемического паротита и краснухи*. Для создания стойкого иммунитета необходима двукратная вакцинация. Прививки проводят детям в возрасте 12 месяцев и 6 лет.

Эффективных вакцин для специфической профилактики парагриппа пока не разработано.

III. СЕМЕЙСТВО ПНЕВМОВИРУСОВ (*Pneumoviridae*)

Основной представитель семейства, вызывающий патологию человека – респираторно-синцитиальный или **РС-вирус** – был обнаружен в США в 1956 г. Дж. Моррисом и Р. Ченоком.

Первая вспышка метапневмовирусной инфекции была зарегистрирована в Голландии в 2001 г.; ее этиологический агент метапневмовирус человека был выделен А. Остерхаусом с соавт.

В течение длительного времени пневмовирусы входили в семейство *Paramyxoviridae*. Лишь в 2015 г. произошло окончательное выделение пневмовирусов в отдельное вирусное семейство.

3.1. Классификация

Семейство *Pneumoviridae* включает роды *Pneumovirus* (вид – **респираторно-синцитиальный (РС) вирус человека**) и *Metapneumovirus* (вид – метапневмовирус человека).

3.2. Структура и репродукция пневмовирусов

Структура пневмовирусов достаточно сходна с парамиксовирусами, хотя они имеют ряд отличий.

Вирионы пневмовирусов представляют собой частицы, имеющие **сферическую** форму; они окружены внешней липидной оболочкой-**суперкапсидом** (сложные вирусы). На поверхности вирусов имеются гликопротеиновые шипы.

Геном представлен **линейной не сегментированной** однонитевой **отрицательной (–) РНК**. Тип симметрии нуклеокапсида – **спиральный**.

Вирусы имеют фермент **РНК-полимеразу**.

В отличие от парамиксовирусов, в суперкапсиде пневмовирусы имеют рецепторный **гликопротеин G**, не обладающий гемагглютинирующей активностью; **белок слияния F** пневмовирусов не обладает функцией гемолизина.

Репродукция пневмовирусов происходит похожим образом с парамиксовирусами. При этом РС-вирусы взаимодействуют с рецепторными гликозамингликанами мембран эпителия **нижних**

дыхательных путей. В зараженных клетках наблюдается характерное цитопатическое действие – образование *синцития*. В слиянии клеток с образованием синцития решающую роль играет *F-белок* пневмовирусов.

3.3. Особенности инфекций, вызванных пневмовирусами

Респираторно-синцитиальный (РС) вирус является наиболее частой причиной инфекции нижних дыхательных путей у детей в возрасте до 2 лет. Поражение РС-вирусом приводит к развитию *бронхиолита* и *пневмонии*. Кроме того, РС-инфекция является доказанным фактором риска возникновения у детей бронхиальной астмы.

У взрослых респираторно-синцитиальные инфекции наиболее часто отмечаются в возрасте 50 лет и старше, особенно у лиц с хроническими заболеваниями дыхательной системы и вторичным иммунодефицитом.

Источник инфекции – ***больной человек***, реже – вирусоноситель.

Основной путь передачи – ***воздушно-капельный***, возможен воздушно-пылевой.

Инкубационный период – от 2 до 7-8 дней.

РС-вирус размножается в эпителии дыхательных путей, вызывая гибель зараженных клеток. Первоначально возникают симптомы ринита и бронхита, затем преобладает поражение нижних дыхательных путей с развитием бронхиолита.

Вирус подавляет образование интерферона клетками, но при этом активирует синтез провоспалительных цитокинов. Наблюдается инфильтрация легочной ткани макрофагами, что усугубляет повреждение легких. В тяжелых случаях у больных детей развивается острая дыхательная недостаточность.

У детей старшего возраста заболевание обычно протекает без выраженных симптомов, у взрослых – как обострение хронического бронхита.

После выздоровления формируется *нестойкий иммунитет*, сывороточные и секреторные антитела не защищают от реинфекции.

Респираторная инфекция, вызванная *метапневмовирусом*, была впервые выявлена в 2001 г. в Голландии. Впоследствии оказалось, что она распространена повсеместно. Патология встречается во всех возрастных группах, но в наибольшей степени страдают дети.

Клинические проявления метапневмовирусной инфекции сходны с инфекцией РС-вирусом. Могут поражаться все отделы дыхательных путей. В тяжелых случаях у детей наблюдаются бронхиолит или пневмония с развитием дыхательной недостаточности.

3.4. Лабораторная диагностика инфекций, вызванных пневмовирусами

Лабораторные методы являются ведущими при диагностике пневмовирусных ОРВИ: респираторно-синцитиальной и метапневмовирусной инфекции.

Материал для исследования – носоглоточный смыв или мазок.

Для обнаружения вирусной ***РНК*** в материале используют ***ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР)***. Метод ОТ-ПЦР отличается максимальной чувствительностью и специфичностью. Он является основным в диагностике РС-вирусной и метапневмовирусной инфекции.

Культивирование вируса (вирусологический метод): для выделения вирусов заражают культуры клеток Нер-2 или HeLa.

РС-вирус культивируется медленно, на 10 день развиваются характерные изменения – образование гигантских клеток, ***ЦПД*** в виде ***синцития***. Положительный тест индикации вируса подтверждает диагноз пневмовирусной инфекции, так как от здоровых лиц РС-вирус не выделяется.

Серологическая диагностика используется для проведения эпидемиологических исследований; исследуют сыворотку пациентов, где определяют наличие специфических АТ.

3.5. Лечение и профилактика пневмовирусных инфекций

Лечение пневмовирусных ОРВИ в основном поддерживающее и симптоматическое. При тяжелой респираторно-синцитиальной инфекции применяют аэрозоль рибавирина. Для экстренной иммунопрофилактики данной инфекции у контактных детей за рубежом применяют препарат моноклональных АТ паливизумаб (эффективность – 50-55%).

Специфическая профилактика не разработана – эффективных вакцин для предупреждения респираторно-синцитиальной и метапневмовирусной инфекции в клинике пока не имеется.

IV. СЕМЕЙСТВО КОРОНАВИРУСОВ (*Coronaviridae*)

Коронавирусы получили свое название из-за характерного вида вирусной частицы при электронной микроскопии – белковые шипы обрамляют вирусный суперкапсид наподобие зубцов в короне.

Впервые коронавирусы человека были выделены Д. Тиреллом и М. Бино в 1965 г. от пациента с острым ринитом.

До начала XXI века считалось, что у людей представители семейства *Coronaviridae* вызывают легкие по течению болезни, длящиеся несколько дней и завершающиеся полным выздоровлением. Однако в 2002 г. в Юго-Восточной Азии (главным образом, в Китае), возникла эпидемия тяжелого острого респираторного синдрома (**ТОРС**) с летальностью до 9-10%. Итальянский врач Карло Урбани, который впервые установил эпидемическую опасность данной инфекции, заразился при лечении пациента с ТОРС и погиб. В 2003 г. было показано, что возбудителем болезни является неизвестный ранее вариант коронавируса – *ТОРС-вирус*.

В 2012 г. в Саудовской Аравии были впервые зарегистрированы случаи новой тяжелой коронавирусной инфекции, получившей название «Ближневосточный респираторный синдром» (**БВРС**). Соответственно, выделенный от пациентов новый возбудитель был определен как *БВРС-коронавирус*.

4.1. Классификация

Коронавирусы объединяют в семейство *Coronaviridae*, относящееся к порядку *Nidovirales*. Семейство делится на 2 подсемейства – *Coronavirinae* и *Torovirinae*.

В подсемейство *Coronavirinae* входит 4 рода, каждый из которых состоит из нескольких видов. К настоящему времени известно 6 видов коронавирусов, патогенных для человека. Коронавирусы ТОРС и БВРС относятся к роду *Betacoronavirus*.

По антигенным и генетическим свойствам различают 3 основных группы коронавирусов. В 1 и 2 группу входят вирусы, патогенные для млекопитающих, в 3 группу – патогенные для птиц.

Вирусы, патогенные для человека, представлены как в первой, так и во второй группе. Коронавирусы ТОРС и БВРС относятся ко 2 группе.

4.2. Свойства коронавирусов

4.2.1. Морфология и ультраструктура

Вирионы коронавирусов представляют собой *сферической* формы частицы диаметром 80-220 нм. Они окружены внешней липидной оболочкой-*суперкапсидом* (сложные вирусы). На поверхности суперкапсида имеются белковые шипы.

Геном представлен *линейной несегментированной* однонитевой *положительной (+) РНК*. Размер генома коронавирусов – наибольший среди всех РНК-содержащих вирусов (~30 тыс.п.о.).

Тип симметрии нуклеокапсида – *спиральный*.

Детально изучен геном ТОРС-вируса, который включает 14 открытых рамок чтения, кодирующих вирусные белки.

ТОРС-вирус и другие представители коронавирусов имеют 4 основных структурных белка, обладающих *антигенными* свойствами.

Среди них:

- *нуклеокапсидный* белок *N* связан с геномной РНК;
- *поверхностный рецепторный белок S* (англ. *spike* – шип) образует шипы в липидной оболочке вируса. Функция данного белка – специфическое связывание с рецепторами на клеточных мембранах.

У некоторых коронавирусов имеется дополнительный суперкапсидный белок *HE* с гемагглютинирующей и эстеразной активностью;

- *мембранные* белки *M* и *E* находятся под липидной оболочкой и покрывают нуклеокапсид вируса.

Помимо структурных белков, геном ТОРС-вируса кодирует ферменты *РНК-зависимую РНК-полимеразу (репликазу)*, хеликазу, протеазы и целый ряд *добавочных* неструктурных белков.

Многие из добавочных белков являются *факторами вирулентности* ТОРС-вируса. Они *подавляют синтез интерферонов I типа* в зараженных клетках, стимулируют их *апоптоз*, активируют синтез *провоспалительных цитокинов* и *хемокинов*, вызывают нарушения в *системе свертывания* и *фибринолиза* в легких.

4.2.2. Культивирование коронавирусов

Респираторные коронавирусы недостаточно эффективно размножаются в стандартных клеточных культурах. Некоторые их варианты адаптированы к культурам клеток почек зеленых мартышек Vero и др.

В наиболее оснащенных вирусологических лабораториях, имеющих разрешение на работу с патогенными биологическими агентами (ПБА) III группы риска, проводится выделение ТОРС и БВРС-коронавирусов на разных клеточных культурах (например, культуре клеток Vero).

4.2.3. Устойчивость вирионов

Резистентность коронавирусов в окружающей среде в целом невелика. После выделения из организма они сохраняют жизнеспособность от нескольких часов, до 1-2 суток. Коронавирусы чувствительны к эфиру и детергентам, ультрафиолетовому облучению, температуре свыше 56°C.

В сравнении с другими коронавирусами ТОРС-вирус является более устойчивым. При комнатной температуре он сохраняется в фекалиях и моче в течение 2-4 дней, в мокроте – свыше 7 дней. При низких температурах жизнеспособен не менее 3 недель. Прогревание при 56°C полностью инактивирует вирус за 30 минут. Вирус чувствителен ко всем основным дезинфектантам.

4.3. Характеристика коронавирусных ОРВИ

Коронавирусы представляют собой гетерогенную группу возбудителей, которые вызывают заболевания у человека, животных и птиц. Обычно для отдельного варианта коронавирусов характерен свой узкий круг природных хозяев.

У человека 4 вида коронавирусов наиболее часто поражают верхние дыхательные пути (до 30% от всех случаев ОРВИ), а также желудочно-кишечный тракт с развитием гастроэнтерита. Дети болеют в 5-7 раз чаще, чем взрослые. Заболевания у взрослых обычно протекают в легкой форме длительностью до 5-7 дней (острый ринит); инфекция в этих случаях завершается полным выздоровлением. Осложнения (пневмонии) могут возникать у 3-8% пациентов (дети раннего возраста).

Коронавирусные гастроэнтериты приводят к диарее; в желудочно-кишечный тракт вирус попадает вторично вследствие вирусемии. Поражение обусловлено цитопатическим действием вируса на зараженные клетки.

Иммунитет при заболеваниях гуморальный, типоспецифический. Образуются вируснейтрализующие АТ, которые

обеспечивают невосприимчивость к повторному заражению данным сероваром.

4.4. Характеристика коронавирусного тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС)

В конце 2002 г. в южно-китайской провинции Гуаньдун появились первые случаи необычно тяжелой «атипичной» вирусной пневмонии. Количество заболевших быстро достигло нескольких сотен, заболевание распространилось в Гонконг, вышло за пределы КНР в Сингапур, Вьетнам, другие страны Юго-Восточной Азии. Далее в эпидемию были вовлечены страны Северной Америки (Канада, США), Европы (Германия, Италия) и другие. Болезнь получила название *тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС, англ. аббревиатура SARS – severe acute respiratory syndrome)*. Учитывая темпы развития эпидемии, высокую для респираторных вирусных инфекций летальность ВОЗ объявила глобальную угрозу по данному заболеванию.

Через несколько месяцев от начала эпидемии удалось установить природу инфекционного агента, вызывающего ТОРС. Им оказался новый, ранее неизвестный представитель семейства *Coronaviridae*. Он получил название «ТОРС-ассоциированный коронавирус» (***ТОРС-вирус***).

Справиться с эпидемией удалось в течение 2003 г. Всего заболело более 8 тысяч человек, 774 из них умерли (летальность составила 9,5%). ТОРС-инфекция считается первой значительной эпидемией, возникшей в XXI веке. Впоследствии единичные случаи ТОРС отмечались в 2004 г.

Установлено, что резервуаром инфекции в природе являются плодоядные летучие мыши. Они распространяют возбудителей другим животным. Предполагается, что первоначальным источником инфекции для человека в Юго-Восточной Азии стали представители семейства виверровых (циветы) и енотовидные собаки, у которых был выделен схожий вирус.

Источник инфекции – больной человек.

Основной *путь передачи – воздушно-капельный*. Возможна передача по *фекально-оральному и контактному механизмам*.

Болезнь передается от человека к человеку. Наиболее велика вероятность инфицирования у лиц, находящихся в близком контакте с

пациентом. К группам риска относится работающий с больными медперсонал, члены семьи заболевших или другие лица, имевшие прямой контакт с выделениями пациентов.

Инкубационный период– от 1 до 7-10 дней.

Вирус поступает в клетки эпителия дыхательных путей в результате взаимодействия *S-белка* с рецепторами на клеточных мембранах. S-белок определяет адгезию и слияние вирусной частицы с пораженными клетками.

Специфическим рецептором для ТОРС-вируса является *ангиотензин-превращающий фермент 2 (АПФ 2)*, который присутствует на мембране эпителия дыхательных путей, кишечника, эндотелии сосудов, клетках внутренних органов.

Репродукция вируса осуществляется в цитоплазме клеток. После «раздевания вируса» происходит трансляция вирусной РНК. В результате трансляции образуется вирусный *полипротеин*, который гидролизуется вирусными протеазами до конечных белков.

Появляются ранние вирусные белки, основной из них – вирусная РНК-полимераза (*репликаза*). Репликаза через образование промежуточной минус-цепи РНК проводит синтез новых геномных (+) РНК. Молекулы (+) РНК используются для дальнейшего синтеза неструктурных и структурных белков на рибосомах клетки.

После сборки вирусных частиц происходит множественный выход вирионов из клеток путем почкования с участием белков М, Е и S.

Факторы вирулентности вируса (добавочные белки) подавляют синтез клеточного интерферона, активируют синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов, запускают апоптоз зараженных клеток.

Инфекция начинается остро, у пациента появляется лихорадка, миалгии. Вирус поражает всю дыхательную систему, включая легкие. Из-за повреждения гемато-альвеолярного барьера у 20% больных возникает респираторный дистресс-синдром с развитием отека легкого и острой дыхательной недостаточности.

Вследствие гематогенной диссеминации вируса в процесс вовлекается желудочно-кишечный тракт, возникает диарея.

Через несколько дней температура может снизиться. Однако на второй неделе у части больных лихорадка появляется вновь, возникают новые очаги поражений в легких, прогрессирует дыхательная недостаточность, усиливается диарея. Предполагается, что ухудшение определяется иммунопатологическими процессами,

обусловленными вирусом. Могут возникать вторичные бактериальные пневмонии. Участки легочного некроза замещаются соединительной тканью с развитием пневмосклероза.

По мере развития заболевания у больных появляется выраженный *противовирусный иммунитет*, преимущественно *гуморальный*. Вируснейтрализующие АТ направлены к белкам S, N, М.

Прогноз тяжелого острого респираторного синдрома весьма серьезный, однако адекватная интенсивная терапии позволяет значительно снизить число летальных исходов.

4.5. Характеристика ближневосточного респираторного синдрома (БВРС)

В июне 2012 г. в г. Джидда (Саудовская Аравия) врач-вирусолог Али Мохамед Заки впервые выделил новый коронавирус из мокроты пациента, погибшего от тяжелой вирусной пневмонии, осложненной острой почечной недостаточностью.

По многим признакам выявленный возбудитель был сходен с ТОРС-коронавирусом. Соответственно, новая инфекция получила название «***ближневосточный респираторный синдром***» (***БВРС***, англ. аббревиатура *MERS – Middle East respiratory syndrome*), а ее возбудитель был назван ***БВРС-коронавирусом (MERS-virus)***.

С момента возникновения болезнь распространилась по всему Ближнему Востоку и вышла за его пределы. БВРС-инфекция уже зарегистрирована во многих государствах Юго-Восточной Азии, Европы и в США (всего 26 стран).

По данным ВОЗ к августу 2015 г. подтверждено 1432 случая инфекции БВРС-коронавирусом, 507 пациентов погибли (летальность – 35%).

Последняя эпидемическая вспышка возникла в Южной Корее и продолжалась с мая по июль 2015 г.; пострадало 186 человек, 36 из них умерли. Случаи БВРС-инфекции в Саудовской Аравии продолжают регистрироваться по настоящее время.

Совместно с вирусом ТОРС, возбудитель БВРС принадлежит к роду *Betacoronavirus*. Его структура аналогична другим коронавирусам человека.

Как и для ТОРС-вируса, резервуаром инфекции БВРС в природе являются плодоядные летучие мыши. Предполагается, что от них возбудитель инфицировал верблюдов, которые стали источником

инфекции для человека (*зоонозный* вирус). Возможность передачи инфекции от других видов животных человеку сейчас изучается.

Первоначально человек заражается в случае прямого или непрямого *контакта* с животными и их выделениями. Возможна алиментарная передача через верблюжье молоко. Передача инфекции от человека к человеку предполагается только в случаях тесного контакта, обычно при госпитальных вспышках.

В группах риска находятся работающий с больными медперсонал, члены семьи заболевших, лица, ухаживающие за пациентами и т.д.

Инкубационный период при БВРС в среднем составляет 5-7 дней (максимально – 2 недели).

Мишенью для вируса является кубический нереснитчатый эпителий, находящийся в нижних дыхательных путях (бронхиолы). Установлен специфический клеточный рецептор для БВРС-вируса – протеолитический фермент *дипептидил-пептидаза 4*. Он локализован не только в легких, но и почках. Вирус подавляет образование интерферона клетками. Отмечается инфильтрация легочной ткани нейтрофилами, что усугубляет повреждение легких.

Наиболее тяжело инфекция проявляется у лиц с *сопутствующей патологией* (сахарный диабет, иммунодефициты, болезни легких, почек). В некоторых случаях может наблюдаться малосимптомное течение инфекции.

Возбудитель размножается в дыхательных путях, вызывая гибель зараженных клеток. Основные клинические симптомы болезни – лихорадка, кашель, миалгии. Развивается вирусная пневмония, у многих пациентов возникает респираторный дистресс-синдром и острая дыхательная недостаточность. Большинству пациентов при лечении требуется искусственная вентиляция легких (ИВЛ).

В ходе заболевания в процесс вовлекается желудочно-кишечный тракт, возникает диарея. Могут поражаться почки с развитием острой почечной недостаточности. В крови снижается уровень лимфоцитов (лимфопения).

Иммунитет при БВРС клеточный и гуморальный. Определяющую роль в течении заболевания играет состояние системы интерферона. В ходе инфекции у пациента накапливаются вирус-нейтрализующие АТ.

Исход болезни, как и в случаях с ТОРС, зависит от начального состояния пациентов и адекватности проводимых лечебных мероприятий.

При эпидемических вспышках каждые последующие случаи БВРС протекают более легко из-за постепенной утраты вирулентности вирусом.

Развитие глобальной эпидемии БВРС не прогнозируется вследствие незначительной вероятности передачи инфекции от человека к человеку.

4.6. Лабораторная диагностика коронавирусных инфекций

В лабораторной диагностике **коронавирусных ОРВИ** вирусологический метод используют редко. В качестве *экспресс-метода* применяют РИФ, *материалом* для которого служит отделяемое носоглотки или мазки-отпечатки слизистой носа. Для выявления вирусной РНК в материале применяют *ПЦР с обратной транскрипцией*.

В *серологической диагностике* в сыворотке больного обнаруживают специфические АТ к вирусу методом ИФА. Используют метод парных сывороток.

Для *лабораторной диагностики ТОРС* используются следующие основные методы диагностики – **полимеразная цепная реакция** и *серологический метод*.

Для ПЦР *материалом для исследования* является носоглоточное отделяемое, фекалии, реже моча. Диагноз ТОРС считается установленным при двукратных положительных результатах ПЦР у обследуемого.

При серологическом методе исследования *методом ИФА* материалом является сыворотка пациента. У здоровых лиц АТ к вирусу не обнаруживаются. При обследовании пациентов реакцию необходимо ставить с парными сыворотками (наблюдается появление противовирусных АТ и увеличение их титра в 4 раза и более).

В наиболее оснащенных вирусологических лабораториях проводится культивирование вируса в чувствительных культурах клеток с подтверждением выделения вируса при помощи ПЦР.

При *лабораторной диагностике БВРС* предпочтение отдается *материалу из нижних дыхательных путей* (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж). Также исследуются смывы и мазки из носоглотки; другие материалы исследуют реже из-за низкой концентрации вируса.

Ведущими являются *методы молекулярной генетической диагностики (ОТ-ПЦР)*. Случай заболевания считается подтвержденным при положительных результатах ПЦР по двум разным участкам вирусного генома.

В заключение исследования проводят *генетическое секвенирование* всех образцов, положительных на БВРС-коронавирус.

Серодиагностика БВРС имеет ретроспективное значение. В качестве метода скрининга для определения АТ используют ИФА, для подтверждения диагноза – метод иммунной флюоресценции с определением АТ или реакцию микронеutralизации в клеточных культурах.

4.7. Лечение и профилактика

Коронавирусные ОРВИ в обычных случаях разрешаются самостоятельно и направленного лечения не требуют.

Средств для специфической терапии ТОРС и БВРС пока не разработано. Проводится интенсивная патогенетическая терапия с поддержанием нормальной деятельности сердечно-сосудистой и дыхательной систем, при необходимости – искусственная вентиляция легких.

В качестве противовирусного средства для лечения ТОРС используют рибавирин, для лечения БВРС – препараты интерферона.

При возникновении респираторного дистресс-синдрома применяют препараты сурфактанта. В случаях риска присоединения вторичных бактериальных пневмоний назначают антибиотики широкого спектра действия.

Меры профилактики ТОРС и БВРС остаются *неспецифическими*. Выполняются основные противоэпидемические мероприятия: изоляция заболевших, обнаружение и карантин контактных лиц, дезинфекция очагов, используются средства индивидуальной защиты медперсонала для предупреждения заражения и госпитальной передачи возбудителей.

В настоящее время осуществляется разработка различных видов вакцин для специфической профилактики данных инфекций.

V. СЕМЕЙСТВО ПИКОРНАВИРУСОВ (*Picornaviridae*)

5.1. Классификация

Название семейства *Picornaviridae* происходит от двух слов: испанск. *pico* – маленький, *RNA* – РНК (содержат РНК). Многочисленные представители семейства вызывают разнообразную патологию человека с поражением желудочно-кишечного тракта, ЦНС, дыхательной и сердечно-сосудистой систем.

Семейство *Picornaviridae* относится к одноименному порядку *Picornavirales*. К настоящему времени в состав семейства входит 35 родов.

Основными возбудителями болезней человека являются вирусы из родов *Enterovirus*, *Parechovirus* и *Hepatovirus*.

Большинство патогенных для человека возбудителей относится к роду *Enterovirus*. В его состав входит 12 видов – 9 энтеровирусов *Enterovirus A-J* (отсутствует вид *I*) и три риновируса *Rhinovirus A, B, C*.

Дополнительно по антигенным свойствам энтеровирусы делятся на серогруппы и многочисленные *серотины* (свыше 100 вариантов).

К виду *Enterovirus A* относятся вирусы серотипов *Коксаки группы A*;

к виду *Enterovirus B* – вирусы *Коксаки группы B*, *ЕСНО-вирусы* (более 30 серотипов);

к виду *Enterovirus C* относятся *полиовирусы* (вирусы полиомиелита) серотипов 1, 2, 3 и остальные серотипы вирусов *Коксаки группы A*.

Также к этим 3 видам относятся многие отдельные серотипы энтеровирусов, не входящие в указанные группы.

Виды риновирусов *A, B* и *C* объединяют более 150 серотипов.

К роду *Parechovirus* (виды – пареховирусы *A* и *B*) относится 14 серотипов, ряд из которых может поражать человека.

Род *Hepatovirus* представлен 1 серотипом (*серотип 72*).

Помимо вышеназванных родов, в некоторых случаях патологию человека вызывают и другие пикорнавирусы (отдельные представители родов *Cardiovirus* и *Kobuvirus*).

Возбудители рода *Aphthovirus* вызывают **ящур** – тяжелую эпизоотическую инфекцию животных (коров, овец, коз, свиней и др.), от которой может также страдать человек.

5.2. Свойства пикорнавирусов

5.2.1. Морфология и ультраструктура

Вирусы из семейства *Picornaviridae* имеют малые размеры с диаметром вириона 27-30 нм.

Обладают *кубическим* типом симметрии, состоят из 60 капсомеров. Не имеют липидного суперкапсида (*простые* вирусы).

Геном представлен *линейной несегментированной* однонитевой (+) **РНК**, обладающей инфекционностью.

Имеют небольшой внутренний белок *Vpg*, связанный с вирусной РНК. Капсид составляют 4 структурных белка – **VP1-VP4**.

Наружные белки *VP1-VP3* определяют *антигенные* свойства вируса, белок *VP4* связан с вирусной РНК. Геном вируса плотно упакован в белки капсида.

5.2.2. Устойчивость вирионов

Энтеровирусы весьма устойчивы во внешней среде – в выделениях пациентов, канализационных стоках, в воде, пищевых продуктах сохраняют активность в течение нескольких недель, при 0°C могут быть жизнеспособны до года.

Малоустойчивы к высушиванию и температуре – при 56°C теряют жизнеспособность в течение 30 минут. Инактивируются УФ-лучами.

Резистентны к спирту, эфиру и детергентам. Чувствительны к ряду дезинфектантов – вирусы быстро погибают при действии гипохлорита, хлорамина, формальдегида, 3% перекиси водорода.

5.3. Репродукция пикорнавирусов

Пикорнавирусы посредством наружных белков связываются с рецепторами на мембранах клеток. Клеточный рецептор для полиовирусов – молекула CD155, для многих энтеровирусов и всех риновирусов – *молекула межклеточной адгезии ICAM-1* (CD54).

Вирусы попадают в клетку путем эндоцитоза. Закисление среды в эндосоме способствует депротенизации вируса, после чего вирусная РНК проникает в цитоплазму через мембрану эндосомы.

Репликация вирусов происходит в цитоплазме зараженных клеток. Геномная вирусная (+) РНК выступает в роли иРНК.

Геном пикорнавирусов содержит единственный ген. Поэтому исходно синтезируется единый вирусный *полипротеин*, который подвергается неоднократному протеолизу с образованием вирусной РНК-полимеразы (*репликазы*), а также структурных белков вируса.

РНК-полимераза синтезирует новые копии геномной вирусной РНК через промежуточную (–) цепь РНК. Затем происходит упаковка геномной (+) РНК в капсиды вируса. Выход вирионов из пораженных клеток обычно завершается клеточным *лизисом*.

Цикл репродукции пикорнавирусов короткий и составляет от 5 до 10 часов.

5.4. Характеристика полиомиелитной инфекции

Вирусная природа полиомиелита была доказана К. Ландштейнером и Г. Поппером в 1908 г.

В сравнении с другими энтеровирусами, возбудители полиомиелита (***полиовирусы***) имеют ряд особенностей. Они не содержат гемагглютинина, не культивируются в курином эмбрионе и в организме экспериментальных животных. Их выделяют при заражении культур клеток.

Известно 3 серотипа полиовирусов.

Полиомиелит – *антропонозное* заболевание. Наиболее часто страдают дети; взрослые заболевают реже.

Источник инфекции – ***человек*** (больной или вирусоноситель).

Механизм заражения – ***фекально-оральный***, пути заражения – алиментарный или водный.

Инкубационный период – 7-14 дней.

Исходно вирусы попадают в носоглотку (лимфоглоточное кольцо Пирогова), а затем в лимфатический аппарат тонкого кишечника (мезентериальные лимфоузлы). Специфическим рецептором для полиовирусов на клеточных мембранах является молекула ***CD155***.

Далее возбудители проникают в кровь (*первичная виремия*). Если вирус-нейтрализующие антитела не вырабатываются в достаточном количестве, то полиовирусы могут поступать в ЦНС.

В ЦНС вирусы распространяются вдоль нервных волокон. В процессе внутриклеточного размножения они разрушают нейроны. Изменения в нервных клетках развиваются быстро. Обычно поражаются клетки передних рогов спинного мозга (мотонейроны),

результатом чего может быть вялый паралич. В тяжелых случаях вирус проникает в головной мозг с развитием менингоэнцефалита.

Различают несколько клинических форм полиомиелитной инфекции.

Наиболее часто развивается *бессимптомная инфекция*; могут быть *легкие* клинические формы без параличей, *асептический серозный менингит*.

Паралитический полиомиелит отмечается в 1% случаев полиовирусной инфекции.

Легкие формы заболевания могут протекать с лихорадкой, головными болями, ангиной, тошнотой или рвотой. В течение нескольких дней пациент выздоравливает.

Асептический менингит длится 2-10 дней и заканчивается выздоровлением.

При паралитическом полиомиелите возникает вялый паралич конечностей, обусловленный поражением мотонейронов. Восстановление двигательных функций происходит медленно, этот период может занимать от 6 месяцев, до 2-3 лет. Остаточные параличи сохраняют постоянный характер.

После заболевания остается ***стойкий пожизненный иммунитет*** к соответствующему серотипу вируса, преимущественно гуморальный. Вирус-нейтрализующие АТ могут появляться в ранние сроки инфекции как результат размножения вируса в кишечном тракте и мезентериальных лимфоузлах. Они могут предотвратить переход вируса в ЦНС.

Пассивный иммунитет (после рождения) сохраняется в течение 4-5 недель жизни ребенка.

В ***лабораторной диагностике*** полиомиелита в качестве клинического *материала* исследуются фекалии, реже носоглоточный смыв, кровь, ликвор.

Основным является ***вирусологический метод*** – выделение вируса и его идентификация.

Материал фильтруют, обрабатывают антибиотиком и вносят в культуру клеток. Выделение вируса выполняют согласно рекомендациям ВОЗ в генно-инженерной культуре клеток мышей, экспрессирующих CD155 человека (рецептор к полиовирусам), а также в клеточной культуре RD (из рабдомиосаркомы человека). Через 5-7 дней возникает ЦПД в виде мелкозернистой деструкции клеток.

Идентификация вируса проводится в *реакции нейтрализации* с типовыми сыворотками против 1, 2 и 3 типа вирусов полиомиелита.

Для подтверждения случаев *вакциноассоциированного полиомиелита* применяют *генетические методы* исследования (ОТ-ПЦР, секвенирование), которые позволяют дифференцировать разные варианты вирусов внутри одного серотипа.

Серодиагностику используют для определения нарастания титра АТ в крови переболевших людей. С этой целью проводят реакцию нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками или ИФА. При положительном результате обнаруживают четырехкратное нарастание титра антител во второй сыворотке по сравнению с первой.

Лечение полиомиелита симптоматическое. В начальных стадиях заболевания может быть эффективным назначение препарата человеческого иммуноглобулина против полиомиелита, который получают из сывороток крови доноров.

Выдающийся прогресс в борьбе с полиомиелитом был достигнут благодаря **специфической иммунопрофилактике** заболевания, которая проводится живой или убитой вакциной.

Благодаря наличию эффективных вакцин в 1988 г. на 41 Всемирной ассамблее здравоохранения была поставлена **задача глобальной ликвидации (эрадикации)** полиомиелита после 2000 г.

Убитая вакцина была получена американским ученым *Дж. Солком* в 1952 г. Она содержит инаktivированные вирусы полиомиелита 1, 2, 3 типов. Вакцина вводится парентерально и стимулирует гуморальный иммунитет – образование АТ классов IgG и IgM к полиовирусам. Однако она не препятствует репродукции вирусов в клетках слизистой оболочки кишечника.

Пероральная живая вакцина типов 1, 2, 3, получена в 1957 г. *А. Сэбиным* из аттенуированных штаммов вируса полиомиелита. Впоследствии она была адаптирована для широкого применения *М.П. Чумаковым* и *А.А. Смородинцевым*. Данная вакцина обеспечила возможности для массовой иммунизации всего населения.

Помимо специфических IgG и IgM, она индуцирует образование *секреторных IgA-антител* в слизистой оболочке кишечника и тем самым препятствует циркуляции диких штаммов вируса полиомиелита.

К концу 2002 г. 3 региона ВОЗ, включая американский и европейский, были объявлены свободными от полиомиелита. В

состав европейского региона входит Республика Беларусь, при этом страна свободна от полиомиелита еще с 1964 г.

Благодаря кампании глобальной вакцинации с 1988 г. количество случаев полиомиелита в мире снизилось на 99% (с 350 тыс. до 416 случаев в 2013 г.). В настоящее время лишь 3 страны в мире являются эндемичными в отношении заболевания (Афганистан, Пакистан и Нигерия).

Однако задача глобальной эрадикации полиомиелита перенесена на 2018 г. С одной стороны, это связано с резко ухудшившейся социальной и эпидемической обстановкой в ряде стран мира, что препятствует плановой вакцинации населения. С другой стороны, в организме лиц, иммунизированных живой вакциной, вакцинные штаммы вирусов полиомиелита претерпевают генетические изменения с появлением новых «*вакцинородственных полиовирусов*». После выделения данных вирусов в окружающую среду среди непривитых лиц могут возникать вспышки *вакциноассоциированного полиомиелита* (ВАП).

Последняя такая вспышка (2 случая) возникла на Украине в августе-сентябре 2015 г. из-за недостаточного (до 50%) охвата детей иммунизацией.

Для предупреждения ВАП в настоящее время в Республике Беларусь применяется вакцинация ***только инактивированной вакциной*** против полиомиелита.

На первом этапе иммунизацию проводят вакциной типов 1, 2, 3 трехкратно на 3, 4 и 5-м месяце жизни ребенка, далее выполняют ревакцинацию в возрасте 7 лет.

5.5. Инфекции, вызванные вирусами Коксаки

Вирусы Коксаки были выделены в 1947 г. Дж. Долддорфом и Г. Сиклс в местечке Коксаки в США от больного ребенка с симптомами полиомиелита.

Исторически энтеровирусы Коксаки разделяют по их антигенным свойствам на *группу А* и *группу В*. В группу А включены серотипы 1-24 (без типов 15, 18 и 23), в группу В – серотипы 1-6.

Вирусы Коксаки содержат гемагглютинин. В отличие от других энтеровирусов, при моделировании инфекции на животных они высокопатогенны для новорожденных мышей-сосунков.

Заболевания, вызванные вирусами Коксаки, объединяют большую группу инфекций с разнообразными клиническими проявлениями.

При инфекции человека многие серотипы вирусов способны поражать определенные ткани, органы и системы (*тропизм* вирусов). Первичное размножение вирусов Коксаки происходит в лимфоидной ткани носоглотки и кишечника.

Тем не менее, большинство случаев заражения протекает бессимптомно и заканчивается формированием иммунитета.

Источниками инфекции являются **больной человек** или **вирусоноситель**. В большинстве случаев страдают дети (свыше 50% инфицирования).

Механизм заражения – **фекально-оральный**, пути заражения – алиментарный, водный, контактно-бытовой. Для Коксаки-инфекции возможен **воздушно-капельный** путь передачи.

Инкубационный период при разных инфекциях составляет от 2 до 10 дней.

Большинство вирусов Коксаки, входящих в серогруппы А и В, поражают **ЦНС** с развитием *асептического серозного менингита* или *энцефалита*, которые могут сопровождаться *параличами*. В отличие от полиомиелита, параличи обычно имеют обратимый характер.

Также Коксаки-вирусы групп А и В могут вызывать **патологию дыхательных путей** (риниты, бронхит, *пневмонию*) и **желудочно-кишечного тракта** (*гастроэнтериты* с диареей, *гепатит*).

Для вирусов **Коксаки группы А** характерна *герпангина* – острая лихорадка с болями в горле и пузырьковыми высыпаниями на слизистой ротовой полости.

Вирусы Коксаки группы А серотипов 5, 10, 16 и энтеровирус серотипа 71 вызывают *синдром «руки-ноги-рот»* или везикулярный стоматит с экзантемой. Обычно от него страдают дети в возрасте от 6 месяцев до 4-5 лет. Болезнь сопровождается поражением слизистых оболочек и кожи с образованием мелких пузырьков и изъязвлений в ротовой полости, на ладонях, ступнях.

Вирус Коксаки А серотипа 24 вызывает *острый геморрагический конъюнктивит*.

Вирусы **Коксаки группы В** обладают выраженным тропизмом к внутренним органам.

Они вызывают *плевродинию* (эпидемическую миалгию, болезнь Борнхольма), которая сопровождается лихорадкой, болями

приступами в области груди с поражением грудных и межреберных мышц.

Часто возбудители данной группы поражают сердце с развитием *миокардита* и *перикардита*. Предполагается также, что инфекция вирусами Коксаки группы В связана с возникновением *дилатационной миокардиопатии*.

У новорожденных и детей раннего возраста вирусы Коксаки группы В могут вызывать *энцефаломиокардит* с поражением сердца и ЦНС, а также тяжелую *генерализованную вирусную инфекцию*.

Инфекция вирусами серотипов В3 и В4 может быть причиной вирусного *панкреатита*, а также способствует развитию *сахарного диабета*.

5.6. Инфекции, вызванные ЕСНО-вирусами, пареховирусами, другими энтеровирусами

В 1953-1956 гг. М. Рамос-Альварес и А. Сэбин (США) провели выделение и исследовали первых энтеровирусных представителей из *группы ЕСНО-вирусов*.

Их название представляет собой аббревиатуру из начальных букв английских слов «*enteric cytopathogenic human orphans*» – кишечные цитопатогенные человеческие «сиротские» вирусы. Такое название было связано с тем, что они не вызывали болезней у животных, а их роль в патологии человека долго оставалась неизвестной.

Первоначально сообщество ЕСНО-вирусов включало 34 серотипа; впоследствии некоторые из них были отнесены к другим вирусным группам. В своей структуре эти вирусы имеют гемагглютинин.

ЕСНО-вирусы вызывают различные по своим проявлениям заболевания, возникающие преимущественно в детском возрасте. Для этих инфекций характерно глобальное распространение, летне-осенняя сезонность, эпидемический характер заболеваемости.

Сродство к лимфоидной ткани – одна из особенностей этих вирусов. После размножения они проникают в лимфу, а затем в кровь; наступает вирусемия и генерализация инфекции. Дальнейшее развитие болезни зависит от свойств вируса, его тканевого тропизма и иммунного статуса организма.

Вирусы ЕСНО являются основными возбудителями вирусного *асептического серозного менингита* у детей. Также они могут

вызывать полиомиелитоподобные заболевания с параличами, энтеровирусный увеит (воспаление слизистой оболочки глаза), респираторные инфекции, желудочно-кишечные заболевания с синдромом диареи, патологию паренхиматозных органов, миокардиты и перикардиты, генерализованную вирусную инфекцию новорожденных.

Некоторые *другие энтеровирусы*, не входящие в группы Коксаки и ЕСНО также вызывают различную патологию у человека.

Энтеровирус *серотипа 68* является причиной *вирусной пневмонии*.

Энтеровирус *серотипа 70* вызывает эпидемические вспышки *острого геморрагического конъюнктивита*. При этом у части пациентов возникает поражение ЦНС (менингит и энцефалит с парезами или параличами).

Энтеровирус *серотипа 71* также поражает ЦНС (*менингит и менингоэнцефалит с параличами*). Кроме того, он способен вызывать синдром «руки-ноги-рот», герпангину. Инфекция нижних дыхательных путей вирусом серотипа 71 может приводить к летальному отеку легких.

Представители *рода пареховирусов* содержат 14 серотипов. Ведущим возбудителем болезней у человека является серотип 1.

Инфекции, обусловленные пареховирусами, сходны по клинике с энтеровирусными поражениями. Наиболее часто они возникают в детском возрасте. Пареховирусы могут вызывать заболевания желудочно-кишечного тракта с диареей, респираторные инфекции, поражение ЦНС (менингит), генерализованную вирусную инфекцию новорожденных.

5.7. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика энтеровирусных инфекций

Диагноз энтеровирусной инфекции устанавливается только на основании результатов лабораторных методов исследования.

Исследуемый *материал* зависит от клинической формы заболевания. Энтеровирусы обнаруживают в смыве из носоглотки, ликворе, фекалиях, мокроте, соскобах из высыпных элементов и т.д.

Ведущим методом идентификации энтеровирусов непосредственно в материале является ***ПЦР с обратной транскрипцией*** (ОТ-ПЦР). При необходимости ОТ-ПЦР дополняют

секвенированием фрагментов вирусного генома с определением генотипа вируса.

Выделение вирусов проводят на культуре клеток (RD, Нер-2 и других). Для их идентификации выполняют *реакцию нейтрализации* с типоспецифическими сыворотками. Также для идентификации выделенных вирусов применяют РТГА, РИФ с моноклональными противовирусными АТ и молекулярно-генетические методы (ОТ-ПЦР).

Вирусы Коксаки можно выделять, заражая новорожденных мышей. В настоящее время этот способ применяется редко из-за трудоемкости методики.

Для **серодиагностики** обычно используют реакции с *парными сыворотками* (ИФА, РТГА). Увеличение титра АТ во второй сыворотке в 4 и более раз расценивают как признак текущей или перенесенной вирусной инфекции. Диагноз острой вирусной инфекции можно также подтвердить при обнаружении в сыворотке пациентов АТ класса IgM иммуноферментным анализом.

Лечение энтеровирусных инфекций патогенетическое и симптоматическое.

Специфическая профилактика не разработана.

5.8. Риновирусы и риновирусные инфекции

Риновирусы относятся к роду *Enterovirus*; три известных вида риновирусов А, В и С объединяют более 150 серотипов.

Первые представители данной вирусной группы были выделены Д. Тирреллом в 1960 г. от пациентов с острым ринитом.

Структура вириона и антигенный состав риновирусов (белки VP1-VP4) соответствуют другим энтеровирусам.

Основным клеточным рецептором для всех риновирусов является *молекула межклеточной адгезии ICAM-1* (или CD54). Некоторые из них могут связываться с мембранными *рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛНП)*.

Считается, что риновирусы обуславливают свыше половины всех случаев «простудных» вирусных заболеваний (ОРВИ).

Источник инфекции – **человек** (больной или вирусоноситель).

Основной *путь заражения* – **воздушно-капельный**, возможна *контактно-бытовая* передача.

Инкубационный период – в среднем 1-3 дня.

Подъем заболеваемости риновирусной инфекцией отмечается ранней осенью и поздней весной. Чаще болеют дети.

В большинстве случаев у пациентов возникают умеренно выраженные симптомы острого ринита. Температура обычно субфебрильная. Продолжительность заболевания не превышает 7 дней; при активации вторичной бактериальной инфекции выздоровление затягивается на 2 недели и более.

Помимо острого ринита, риновирусы вызывают *острый отит, синусит*.

Тяжелые случаи инфекции с поражением нижних дыхательных путей (*бронхиолит*) отмечаются у детей раннего возраста. У недоношенных детей частота развития риновирусного бронхиолита выше, чем при инфекции респираторно-синцитиальным вирусом.

Кроме того, риновирусная инфекция провоцирует у пациентов обострения *бронхиальной астмы* и *хронической обструктивной болезни легких* (ХОБЛ), в основе которой лежит хронический бронхит с повышенной реактивностью бронхов и признаками бронхиальной обструкции.

Иммунитет при риновирусных заболеваниях связан с образованием вирус-нейтрализующих АТ. Их защитное действие в отношении гомологичного штамма вируса сохраняется в течение нескольких лет. Возможны многочисленные повторные риновирусные инфекции.

В *лабораторной диагностике* риновирусной инфекции в качестве *материала для исследования* используют носоглоточный смыв, реже – трахеобронхиальный аспират, промывные воды бронхов.

Основным методом идентификации риновирусов непосредственно в материале является **ПЦР с обратной транскрипцией** (ОТ-ПЦР).

Выделение вирусов проводят на культурах клеток (эмбриональных клетках почек человека, клеточных линиях HeLa, Vero и других). С целью идентификации типа риновирусов применяют *реакцию нейтрализации ЦПД* с типоспецифическими сыворотками и молекулярно-генетические методы (ОТ-ПЦР).

Диагноз острой риновирусной инфекции можно подтвердить при помощи методов *серодиагностики* (ИФА) с обнаружением в сыворотке пациентов специфических противовирусных АТ класса IgM.

Лечение риновирусных инфекций симптоматическое, *специфическая профилактика* не разработана.

5.9. Афтовирусы – вирус ящура

Род *Aphthovirus* включает 4 вида; наибольшую опасность представляет **вирус ящура**, который вызывает тяжелые эпизоотии среди парнокопытных животных. В редких случаях инфекция может поражать человека.

Вирус ящура был впервые выделен Ф. Леффлером в 1897 г.

Не менее 70 видов животных чувствительны к вирусу. Среди них – коровы, овцы, козы, свиньи и мн. др. У животных заболевание сопровождается лихорадкой, а также везикулезными высыпаниями в полости рта и на конечностях; в осложненных случаях развивается миокардит. В большинстве случаев наступает выздоровление, однако при отдельных вспышках гибель животных может достигать 70%.

Инфекция человека возникает после *контакта* с больным животным или *при употреблении в пищу* инфицированного молока или мяса. В некоторых продуктах (масло, жиры) вирусы сохраняются до двух месяцев.

Инкубационный период составляет 2-12 суток. На слизистой носоглотки, пальцах рук и ног, ладонях и подошвах появляется везикулярная сыпь; повышается температура. Заболевание протекает сравнительно легко и заканчивается выздоровлением.

Лабораторная диагностика включает определение РНК возбудителя в отделяемом везикул методом ПЦР, выделение возбудителя в культуре клеток, обнаружение специфических АТ в парных сыворотках в РН и ИФА.

Специфическую профилактику среди животных проводят вакциной, инаktivированной формалином. Основные меры *неспецифической профилактики* включают установление карантина, изоляцию и забой зараженных животных с уничтожением их туш. Карантин снимается через 30 суток при отсутствии инфекции в очаге.

5.10. Род *Hepatovirus*. Возбудитель вирусного гепатита А

Вирусный гепатит А (ВГА) представляет собой острое инфекционное воспалительное поражение печени с фекально-

оральным механизмом передачи. Во многих случаях ВГА протекает в форме эпидемических вспышек (*эпидемический гепатит*).

Возбудители заболевания принадлежат к виду *Hepatovirus A*. Это единственный вид, входящий в род *Hepatovirus* семейства *Picornaviridae*. Для данных вирусов установлен один серотип и не менее 7 вирусных генотипов.

Вирус гепатита А был впервые обнаружен в 1973 г. С. Фейнстоном с соавт. в фекалиях пациентов с ВГА с помощью иммуноэлектронной микроскопии. Тем не менее, очевидные указания на вирусную природу ВГА были получены еще в 30-х годах XX века (Дж. Финдлей с соавт, 1931 г.).

Гепатовирус А имеет ряд отличий в сравнении с другими пикорнавирусами. Для него характерны следующие *особенности*:

- тропизм (сродство) к паренхиматозным клеткам печени;
 - более длительный цикл репродукции;
 - зрелые вирионы не содержат белок VP4;
 - размножение в культурах клеток не сопровождается ЦПД;
 - высокая резистентность к физическим и химическим факторам
- при 60°C сохраняет инфекционную активность в течение 10-12 часов, при 20°C – свыше 1 месяца; вирус стабилен в кислой среде при рН, равном 1.

Возбудитель чувствителен к формалину, хлорамину, УФ-лучам; при 100°C инактивируется в течение 5 минут.

До 40% всех острых вирусных гепатитов обусловлено вирусами гепатита А; в ряде стран этот показатель превышает 60-80%. В мире ежегодно регистрируется до 1,2-1,5 млн пациентов с ВГА, количество неустановленных случаев может быть в несколько раз выше. В 2010 г. от вирусного гепатита А умерло 102 тыс. человек.

В Республике Беларусь заболеваемость вирусным гепатитом А остается на стабильно низком уровне (1,71 на 100 тыс. населения в 2015 г.), при этом большинство случаев заражения ВГА исходно возникает за пределами страны.

От инфекции ВГА главным образом страдают дети, подростки, а также молодые лица в возрасте до 30 лет. У детей инфекция часто протекает скрыто и бессимптомно.

Источник инфекции – больной человек. Заболевание антропонозное.

Механизм передачи – фекально-оральный, ведущие пути передачи – *водный, алиментарный*, возможна *контактно-бытовая* передача.

Инкубационный период – в среднем 30 дней (от 15 до 50).

Вирус с пищей или водой попадает в желудочно-кишечный тракт, где репродуцируется в эпителиальных клетках слизистой оболочки тонкой кишки и регионарных лимфатических узлах.

Молекулярные механизмы взаимодействия вирусов гепатита А с клетками окончательно не выяснены. Установлены клеточные рецепторы 1, 2 и 3 типа для гепатовирусов А (*HAVcr-1-3*), которые экспрессированы на гепатоцитах и клетках системы иммунитета.

Возбудитель проникает в кровь, где он обнаруживается в конце инкубационного периода и в первые дни заболевания. Вирионы поступают в печень с кровью по воротной вене или непосредственно из системного кровотока.

Основной мишенью для вирусов являются гепатоциты, в цитоплазме которых происходит репродукция. Новые вирионы через апикальную мембрану попадают в желчные капилляры и протоки, а затем повторно выделяются в кишечник. Из кишечника вирусы вновь доставляются в печень (кишечно-печеночная циркуляция гепатовирусов). С развитием иммунных реакций циркуляция гепатовирусов прерывается.

Возбудители не оказывают прямого повреждающего действия на гепатоциты. Поражение клеток печени обусловлено *аутоиммунными клеточными реакциями* – действием АГ-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров.

Повреждение гепатоцитов ведет к нарушению белкового, пигментного и углеводного обмена и сопровождается желтухой, увеличением прямого и непрямого билирубина, повышением уровней печеночных ферментов в сыворотке (аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, альдолазы и др.)

У большинства пациентов заболевание протекает в *легкой форме*. Инфекция обычно длится 2-4 недели (у 10% заболевших – до 6 месяцев) и завершается выздоровлением без перехода в хроническую форму. Тяжелые (*фульминантные*) формы ВГА, приводящие к печеночной недостаточности, составляют не более 0,05-0,1% случаев заболевания и обычно наблюдаются у лиц пожилого возраста.

После болезни формируется *пожизненный иммунитет*, который обусловлен вируснейтрализующими антителами классов IgM и IgG, цитотоксическими лимфоцитами и клетками иммунной памяти.

Антитела класса IgM исчезают из сыворотки в течение 3-4 месяцев после начала заболевания, а IgG сохраняется годами. До 80% населения в возрасте свыше 40 лет имеют сывороточные АТ класса IgG к вирусу.

При проведении *лабораторной диагностики* в качестве клинического *материала* исследуют испражнения пациента, в отдельных случаях – кровь, биоптаты печени. Вирусные частицы в фекалиях выявляют методом иммуноэлектронной микроскопии, вирусные антигены – при помощи ИФА, вирусную РНК – методом ОТ-ПЦР. Вирусы в фекалиях обнаруживают на ранних стадиях инфекции (до появления желтухи и в течение начальных 2-х недель желтушного периода).

Наиболее часто используется *серодиагностика* ВГА. С этой целью в течение первых 3-6 недель заболевания в сыворотке пациента определяют противовирусные АТ класса IgM методом ИФА.

Для эпидемиологического анализа проводят *генотипирование* вирусных штаммов при помощи различных методов секвенирования вирусного генома.

Специфическое лечение ВГА отсутствует. Для пассивной профилактики инфекции у контактных лиц возможно назначение иммуноглобулина.

С целью *специфической профилактики* ВГА наиболее часто применяют различные виды *инактивированных вакцин*. Вакцинные штаммы вирусов культивируют в диплоидных или перевиваемых культурах клеток. После очистки их инактивируют формальдегидом и адсорбируют на гидроксиде алюминия.

Вакцинацию проводят двукратно с интервалом 6-12 месяцев. Детей иммунизируют в возрасте 18 и 24 месяцев. Поствакцинальный иммунитет сохраняется в течение 10-20 лет. При эпидемических вспышках проводят вакцинацию контактных лиц.

VI. СЕМЕЙСТВО *Hepeviridae*. ВОЗБУДИТЕЛЬ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА Е

12 августа 1981 г. советский вирусолог акад. М.С.Балаян выполнил опыт перорального самозаражения инфекционным материалом, полученным от 9 военнослужащих с неустановленной формой гепатита. На 37 день от момента заражения у него развились симптомы, типичные для острого вирусного поражения печени. Проведенное обследование исключило возможность инфекции вирусами гепатита А или В, при этом в пробах стула методом иммуноэлектронной микроскопии был обнаружен неизвестный вирус – возбудитель гепатита с фекально-оральным механизмом передачи. Таким образом состоялось открытие вируса гепатита Е.

Проведенный ретроспективный анализ антител к вирусу гепатита Е выявил, что более одной трети контингента советских войск в Афганистане (1979-1989 гг.) было инфицировано данным вирусом. Также удалось установить, что массовые водные и алиментарные вспышки гепатита, особенно характерные для развивающихся стран Юго-Восточной Азии, Латинской Америки и Африки, обусловлены вирусом гепатита Е.

Дальнейшие исследования показали, что вирусный гепатит Е (ВГЕ) встречается в большинстве стран мира. Наряду с возбудителем гепатита А, вирус гепатита Е считается наиболее частой причиной острого вирусного гепатита у человека.

6.1. Классификация

Возбудители ВГЕ принадлежат к семейству *Hepeviridae*, роду *Orthohepevirus*, виду *Orthohepevirus A*.

Различают 4 основных генотипа вируса гепатита Е. Генотипы 1 и 2 вызывают патологию только у человека, генотипы 3 и 4 выделяют от человека и некоторых видов животных (свиней, диких кабанов, кроликов, оленей и др.)

Остальные представители рода (виды *Orthohepevirus B*, *C* и *D*) относятся к зоонозным вирусам и поражают многие виды птиц и млекопитающих.

6.2. Свойства вирусов гепатита E

6.2.1. Морфология и ультраструктура

Возбудители ВГЕ – это вирусы сферической формы и малого размера с диаметром вириона 27-34 нм.

Обладают *кубическим* типом симметрии, не имеют суперкапсида (*простые* вирусы).

Геном представлен *линейной несегментированной* однонитевой (+) **РНК**. В геноме обнаружены 3 открытые рамки считывания (ОРС), определяющих синтез вирусных белков. ОРС1 кодирует неструктурные белки (ферменты *РНК-полимеразу*, хеликазу, протеазу и др.), ОРС2 – *капсидный* белок-антиген, ОРС3 – *фосфопротеин*, участвующий в репликации вируса и патогенезе вирусной инфекции.

Установлен *единственный* серотип вируса.

6.2.2. Устойчивость вирионов

Вирус гепатита E обладает меньшей резистентностью в сравнении с возбудителем гепатита A. Он инактивируется при температуре 60°C в течение 15-30 мин. Чувствителен к хлорсодержащим дезинфектантам, формальдегиду.

Стабильность вируса во внешней среде является достаточной для распространения инфекции по фекально-оральному механизму передачи.

6.2.3. Культивирование вируса гепатита E

Вирусы ВГЕ способны эффективно размножаться лишь в единичных клеточных культурах. Для их выращивания в лабораторных условиях применяют клеточные линии из опухолей человека (гепатокарцинома, аденокарцинома легкого). Экспериментальную вирусную инфекцию проводят на обезьянах (шимпанзе, макаки-резусы).

6.3. Репродукция вируса гепатита E

При помощи капсидного белка вирусы связываются с мембранными рецепторами клеток печени (гепарансульфатом, белками теплового шока).

Возбудители попадают в гепатоциты путем эндоцитоза. Репликация вирусов происходит в цитоплазме зараженных клеток. Геномная вирусная (+) РНК выполняет роль иРНК.

Первоначально на рибосомах транслируется участок генома вируса ОРС1. Образуются неструктурные вирусные белки, включая вирусную РНК-полимеразу (*репликазу*).

РНК-полимераза синтезирует новые копии геномной вирусной РНК через промежуточную (–) цепь РНК.

Далее выполняется трансляция других участков вирусной РНК (ОРС2 и ОРС3) с образованием структурных белков.

Капсидный белок ОРС2 определяет сборку вируса и формирование новых вирионов, белок ОРС3 – их перемещение в цитоплазме и выход из клеток.

Вирусы ВГЕ покидают клетку путем почкования.

6.4. Характеристика различных форм вирусного гепатита Е

Особенности течения гепатита Е зависят от генотипа вируса. Вирусы генотипов 1 и 2 вызывают массовые *эпидемические вспышки заболевания в развивающихся странах* Азии, Латинской Америки, Африки. Высокая плотность населения в этих странах сопровождается дефицитом водных ресурсов и недостаточным контролем качества питьевой воды. Это создает условия для водного пути передачи инфекции. Вспышки меньшей интенсивности и завозные случаи заболевания могут регистрироваться во многих странах мира.

Вирусы генотипов 3 и 4 вызывают *спорадические* случаи ВГЕ. В последние 15 лет отмечается неуклонный рост заболеваемости ВГЕ 3 и 4 генотипов в развитых странах мира (в Северной Америке, Европе, России, Японии, Новой Зеландии и др.). Считается, что данный вариант болезни представляет собой *зоонозную инфекцию*, которая наиболее часто передается через мясо зараженных животных алиментарным путем.

Таким образом, *источниками инфекции* при ВГЕ 1 и 2 генотипа являются ***больные люди***. Наибольшее выделение вируса из организма человека происходит в ранние стадии заболевания до появления желтухи.

Источниками инфекции при ВГЕ 3 и 4 генотипа являются ***больные животные*** (наиболее часто – домашние или дикие свиньи).

Механизм передачи – фекально-оральный.

Основные пути передачи – **водный** при ВГЕ 1 и 2 генотипов через воду, контаминированную фекалиями; **алиментарный** при ВГЕ 3 и 4 генотипов.

Вероятность *контактно-бытовой* передачи инфекции незначительная. Установлены случаи передачи гепатита Е посредством гемотрансфузий инфицированной крови.

Инкубационный период – в среднем 30-40 дней (от 2 до 6 недель).

Особенности взаимодействия вирусов гепатита Е с клетками эпителия желудочно-кишечного тракта и гепатоцитами пока точно не установлены. Предполагается, что вирус с водой или пищей попадает в тонкий кишечник, далее по воротной вене проникает в гепатоциты, где происходит первичная репликация. После размножения в гепатоцитах вирионы выходят из клеток и поступают в желчные пути и системный кровоток. Вирусы выделяются из организма пациента с фекалиями.

Поражение клеток печени при ВГЕ во многом определяется *аутоиммунными реакциями* – действием АГ-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов, естественных киллеров, комплемент-фиксирующих АТ.

Клиническая картина ВГЕ в целом сходна с клиникой гепатита А. Повреждение гепатоцитов может сопровождаться желтухой, увеличением прямого и непрямого билирубина, повышением уровней аминотрансфераз и других печеночных ферментов в сыворотке.

У большинства пациентов наблюдается *легкая форма заболевания*, которая завершается выздоровлением в течение нескольких недель. Часто наблюдается бессимптомное течение инфекции. Тем не менее, возможны тяжелые острые (фульминантные) формы заболевания с развитием печеночной недостаточности.

Летальность при эпидемических вспышках обычно не превышает 1%. Весьма тяжело болезнь протекает у лиц с сопутствующей патологией печени (хронический гепатит, цирроз), где смертность пациентов через год с момента заражения ВГЕ может составить до 70%.

Установлены заметные *отличия в течении ВГЕ* в зависимости от генотипа вируса. При эпидемических формах ВГЕ, вызванных генотипами 1 и 2, обычно заражаются лица молодого возраста, желтушные формы встречаются не более чем в 40% случаев, инфекция не переходит в хроническую форму. Исключительной

особенностью данного варианта болезни является высокая (20-30%) *летальность среди беременных*, характерная для 3 триместра беременности. Механизмы этого явления пока не выяснены, смерть пациенток наступает от прогрессирующей печеночной недостаточности, эклампсии, геморрагического синдрома и других осложнений.

При инфекции ВГЕ, вызванной генотипами 3 и 4, страдают лица среднего и старшего возраста, чаще заражаются мужчины (в соотношении >3/1). Желтушные формы заболевания составляют до 75%. У пациентов с выраженной иммуносупрессией (после трансплантации органов; у пациентов с онкопатологией после химиотерапии; лиц с ВИЧ-инфекцией) возможно развитие хронической формы ВГЕ.

Иммунитет, возникающий в ходе заболевания, обусловлен вируснейтрализующими антителами и цитотоксическими лимфоцитами (ЕК-клетками, Т-лимфоцитами). Высокий уровень АТ сохраняется в течение нескольких месяцев или лет после окончания заболевания. В дальнейшем он постепенно снижается, что увеличивает вероятность реинфекции.

6.5. Лабораторная диагностика, лечение и профилактика ВГЕ

При проведении **лабораторной диагностики** ВГЕ используются *серологические и молекулярно-генетические методы* анализа.

Для **серодиагностики** ВГЕ в сыворотке пациента определяют противовирусные антитела методом ИФА. Наличие специфических АТ класса IgM подтверждает диагноз вирусного гепатита Е, АТ класса IgG указывают на анамnestическую инфекцию.

Вирусную РНК в фекалиях и крови определяют при помощи **ОТ-ПЦР**. Данный метод позволяет проводить раннюю диагностику ВГЕ уже в инкубационном периоде заболевания. Выявление у пациента вирусной РНК в течение 3 и более месяцев указывает на переход инфекции в хроническую форму.

С целью эпидемиологического анализа проводят **генотипирование** вирусных штаммов

Специфическое лечение при острых неосложненных формах ВГЕ не проводится. Для пассивной профилактики и лечения ВГЕ у беременных назначают иммуноглобулин из сывороток доноров или реконвалесцентов.

Для лечения хронической инфекции ВГЕ у лиц с иммуносупрессией применяют рибавирин и препараты интерферона.

Для *специфической профилактики* ВГЕ разработаны генно-инженерные вакцины на основе капсидных белков вируса, одна из них уже разрешена к массовому применению (КНР).

В предупреждении эпидемических вспышек ВГЕ в развивающихся странах наибольшую роль по-прежнему играют меры *неспецифической профилактики*, связанные с улучшением санитарной инфраструктуры и расширением доступа населения к чистой питьевой воде.

VII. СЕМЕЙСТВО КАЛИЦИВИРУСОВ (*Caliciviridae*) – НОРОВИРУСЫ и САПОВИРУСЫ. АСТРОВИРУСЫ и АСТРОВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Калицивирусы были определены в самостоятельное вирусное семейство в 1981 г. До этого их представителей относили к пикорнавирусам. В течение длительного времени считалось, что они вызывают вирусные инфекции животных. В 1968 г. в начальной школе г. Норфолк (Огайо, США) произошла массовая вспышка гастроэнтерита неустановленной этиологии. При этом заболели как дети (учащиеся), так и взрослые лица (учительский персонал); всего 116 из 232 человек. Методом иммуноэлектронной микроскопии А. Капикян с соавт. в 1972 г. установили, что причиной заболевания является неизвестный кишечный вирус, получивший название «вирус Норфолк».

Другой сходный калицивирус – возбудитель гастроэнтерита человека – был обнаружен в Японии в Саппоро Сундзо Чибэ с соавт. (1977-1979 гг.)

Впоследствии эти вирусы были выделены в самостоятельные роды *Norovirus* и *Sapovirus* в составе семейства *Caliciviridae*. К настоящему времени установлено, что они являются ведущими возбудителями острого гастроэнтерита небактериальной этиологии у человека. В частности, показано, что за последние 20 лет норовирусы стали причиной по крайней мере 6 пандемий вирусного гастроэнтерита, которые охватили сотни миллионов человек во всех странах мира.

7.1. Классификация

Название семейства *Caliciviridae* происходит от лат. «*calix*» – «чаша». Это связано с тем, что по данным электронной микроскопии в капсиде калицивирусов обнаруживается 32 углубления, напоминающие чашу.

Семейство *Caliciviridae* включает 5 вирусных родов. Представители 2-х из них вызывают патологию человека (острый гастроэнтерит). К ним относятся роды *Norovirus* (содержит единственный вид – *вирус Норфолк*) и *Sapovirus* (также представлен единственным видом – *вирус Саппоро*).

Калицивирусы из других родов поражают животных, амфибий, моллюсков и т.д.

Вследствие выраженной генетической изменчивости, норовирусы и саповирусы разделяются на *геногруппы* с многочисленными *генотипами*. Норовирусы образуют не менее 6 геногрупп (I-VI), саповирусы – 5 геногрупп (I-V). В связи с активным внедрением методов молекулярно-генетического типирования в практику, количество вирусных геногрупп постоянно увеличивается.

Заболевания человека вызывают норовирусы геногрупп I, II и IV; при этом *норовирус GII.4* (геногруппа II, генотип 4) является причиной более чем 75% всех вспышек инфекции. Новые штаммы данного вируса появляются регулярно через каждые 3-5 лет.

Норовирусы других геногрупп выявляются у животных.

Патогенные для человека саповирусы принадлежат к геногруппам I, II, IV и V. Вирусы группы III патогенны для свиней.

7.2. Свойства норовирусов и саповирусов

7.2.1. Морфология и ультраструктура

Норовирусы и саповирусы имеют сферическую форму и малый размер с диаметром вирионов 23-40 нм. Обладают *кубическим* типом симметрии, не имеют суперкапсида (*простые* вирусы).

Их геном представлен *линейной несегментированной* *однонитевой (+) РНК*.

В геноме норовирусов обнаружены 3 открытые рамки считывания (*ОРС*), определяющих синтез вирусных белков. ОРС1 кодирует неструктурные белки, включая ферменты *РНК-полимеразу* и *протеазу* и связанный с геномной РНК белок *Vpg*; ОРС2 – *главный капсидный* белок – антиген *VP1*, ОРС3 – *малый капсидный* белок *VP2*.

Аналогичным образом устроен геном саповирусов.

Считается, что различные геногруппы соответствуют разным серотипам вирусов.

Белок *VP1* отвечает за связывание вирусов с клеточными рецепторами (полисахаридными АГ групп крови человека). В составе белка имеется гипервариабельный участок, определяющий антигенное разнообразие вируса.

Белок *VP2* стабилизирует вирусную частицу и участвует в сборке вирионов.

7.2.2. Устойчивость вирионов

Вирусные частицы обладают сравнительно высокой устойчивостью в окружающей среде. На контаминированной поверхности при комнатной температуре норовирусы сохраняют жизнеспособность в течение 2-4 недель. Сроки их выживания в почве и воде открытых водоемов точно не установлены.

Вирионы проявляют стабильность в отношении действия химических факторов. В частности, они способны выживать не менее 3 часов при pH 2.7. Резистентны ко многим дезинфектантам. При необходимости дезинфекции используют хлорсодержащие средства и окислители (гипохлорит, надуксусную кислоту и др.), глютаровый альдегид.

Возбудители теряют жизнеспособность при температуре 60-70°C. Кратковременное кипячение (1 мин) необратимо инактивирует вирусы.

7.2.3. Культивирование норо- и саповирусов

Сложность изучения норо- и саповирусных инфекций заключается в том, что они не размножаются в культурах клеток или организме лабораторных животных. Предложена пока единственная модель культивирования норовирусов на культуре В лимфоцитов человека.

7.3. Репродукция вирусов

Вирусы попадают в желудочно-кишечный тракт и проникают в кишечник.

При помощи капсидного белка норовирусы связываются с полисахаридными АГ групп крови человека, имеющими остаток фукозы (антиген Н, антигены системы Льюис). Помимо эритроцитов, эти АГ присутствуют на клетках эпителия слизистых оболочек, включая тонкий кишечник.

Мутации в генах фермента фукозилтрансферазы (встречаются у 20% людей) нарушают образование полисахаридных АГ – рецепторов к вирусу. Вследствие этого, значительная часть населения обладает повышенной устойчивостью к норовирусной инфекции.

Возбудители попадают в эпителиоциты кишечника путем эндоцитоза. Репликация вирусов происходит в цитоплазме

зараженных клеток. Геномная вирусная (+) РНК выполняет роль иРНК.

Первоначально на рибосомах транслируется участок генома вируса ORC1. Формируется единый полипротеин, который затем гидролизруется вирусной протеазой с образованием неструктурных вирусных белков и ферментов.

РНК-полимераза (*репликаза*) синтезирует новые копии геномной вирусной РНК через промежуточную (–) цепь РНК.

Далее выполняется трансляция остальных участков вирусной РНК и синтез структурных белков. Белок VP1 составляет основу вирусного капсида, белок VP2 участвует в сборке вирусных частиц.

Массовый выход вирионов сопровождается *лизисом* зараженных клеток.

7.4. Характеристика норовирусных и саповирусных инфекций

Патогенные калицивирусы (норовирусы, саповирусы) являются ведущей причиной ***диарейных инфекций***, которые имеют *глобальное распространение* среди всех возрастных групп населения.

Данное положение в первую очередь относится к ***норовирусам***.

По данным ВОЗ в мире ежегодно регистрируется от 2 до 4 млрд случаев диарейных заболеваний бактериального и вирусного происхождения. Норовирусы являются причиной не менее 17-20% от всех диарейных инфекций.

В развитых странах они занимают лидирующее место в этиологии острых вирусных диарейных болезней. В развивающихся странах они находятся на втором месте по частоте обнаружения, уступая только ротавирусной инфекции.

Суммарно от норовирусных инфекций погибает до 200 тыс. человек в год, при этом 70-100 тыс. из них – дети развивающихся стран Африки, Азии, Латинской Америки.

Для индустриально развитых стран характерны вспышки норовирусного гастроэнтерита в учреждениях и организованных коллективах. Наряду с *C. difficile* и ротавирусами, норовирусы являются также ведущей причиной *нозокомиальной* (внутрибольничной) острой кишечной инфекции.

Наибольшее количество пациентов с норовирусной инфекцией регистрируется в осенне-зимнем периоде (сезонность заболевания).

*Источником инфекции при остром норовирусном гастроэнтерите является **больной человек**.*

*Механизм передачи – **фекально-оральный**.*

*Пути передачи: основной путь – **контактно-бытовой** (от человека к человеку при контакте с инфицированными лицами); **алиментарный** (до 15% от всех случаев), **водный**. Контактный путь передачи способствует быстрому распространению инфекции.*

Инфицирующая доза вируса весьма невелика (от 10-20 до 1000 вирусных частиц).

Инкубационный период заболевания короткий и составляет от 12 ч до 2 дней.

Вирусы поступают в кишечник и проникают в эпителиоциты; в их цитоплазме происходит репликация вирусов. Обычно страдают проксимальные отделы тонкого кишечника. Разрушение эпителиальных клеток ведет к угнетению ферментативной функции кишечника и усилению секреции с одновременным снижением реабсорбции воды и электролитов.

У 30% зараженных лиц течение инфекции может быть бессимптомным.

Для остальных пациентов характерно острое начало заболевания; инфекция сопровождается лихорадкой, рвотой, слизистой диареей, болями в животе. Более чем в 90% случаев болезнь длится не более 2-3 дней и завершается выздоровлением. Тяжелое течение может наблюдаться у пожилых лиц с сопутствующей патологией и у детей раннего возраста. Без адекватной медицинской помощи возникающие электролитные нарушения и обезвоживание могут приводить к летальным исходам у таких пациентов.

В ходе инфекции вирусы выделяются из организма пациента с фекалиями. Выделение вирусов может продолжаться более 2-3 недель после окончания болезни.

Носительство норовирусов у клинически здоровых лиц является предметом изучения. При помощи высокочувствительных методов исследования (ОТ-ПЦР) установлено, что у ~15% лиц без признаков инфекции норовирусы в малых концентрациях выделяются с фекалиями.

***Иммунитет** после заболевания *нестойкий*, его длительность не превышает 1-2 лет. Перекрестного иммунитета между разными геногруппами и серотипами вирусов обычно не наблюдается. С этим связаны многочисленные повторные случаи норовирусной инфекции у пациентов. Считается, что в течение жизни у человека возникает от*

3 до 8 эпизодов норовирусной инфекции, причем 1-й эпизод развивается в возрасте до 5 лет.

Саповирусная инфекция в целом сходна с инфекцией, вызванной норовирусами. Для нее характерно более мягкое течение; наибольшую чувствительность к саповирусам проявляют дети в возрасте до 5 лет.

7.5. Лабораторная диагностика норовирусных и саповирусных инфекций

Материалом для исследования являются фекалии, рвотные массы, смывы с предметов обихода, пищевые остатки и т.д.

При проведении **лабораторной диагностики** норовирусной инфекции применяют *иммунологические* (определение АГ вирусов) и *молекулярно-генетические* методы анализа.

Для *определения АГ вирусов в фекалиях (иммунодиагностика)* используют иммунохроматографический и иммуноферментный анализ (ИФА).

Молекулярно-генетические методы превосходят по чувствительности методы иммунодиагностики. *Вирусную РНК* в фекалиях и др. материалах определяют при помощи **ОТ-ПЦР**.

С целью эпидемиологического анализа проводят *генотипирование* вирусных штаммов.

7.6. Лечение и профилактика норовирусных и саповирусных инфекций

Лечение норовирусных и саповирусных инфекций *неспецифическое*. Проводится регидратация с восстановлением электролитного баланса организма, назначается диетотерапия, пробиотики.

Наибольшую роль в предупреждении распространения инфекций играют меры *неспецифической профилактики*. Необходима быстрая диагностика случаев инфекции с изоляцией заболевших, усиление мер личной гигиены, включая работу персонала в перчатках с обработкой рук после контакта с пациентом; выполняется дезинфекция в очагах.

Для специфической профилактики норовирусных инфекций разработаны различные виды рекомбинантных вакцин, которые в настоящее время находятся на стадии клинических испытаний.

7.7. Особенности астровирусных кишечных инфекций

Астровирусы вызывают от 2 до 8% всех случаев острого вирусного гастроэнтерита.

Название возбудителя происходит от греч. "*astron*" – «звезда» из-за характерной формы вирионов, наблюдаемой при электронной микроскопии.

Семейство *Astroviridae* включает 2 рода – *Mamastrovirus* (вирусы млекопитающих) и *Avastrovirus* (вирусы птиц). Вирусы, патогенные для человека, относятся к роду *Mamastrovirus* и содержат 8 основных серотипов.

По структуре и свойствам астровирусы схожи с калицивирусами. Их вирионы малого размера (28-30 нм), сферической формы с кубическим типом симметрии, не имеют суперкапсида. Геном представлен линейной несегментированной однонитевой (+) РНК.

Вирусы размножаются в клетках эпителия ворсинок тонкого кишечника, вызывая острый гастроэнтерит. Механизм передачи инфекции – фекально-оральный (пути передачи – алиментарный, контактный, водный).

Заболевание наблюдается во всех возрастных группах; среди заболевших преобладают дети до 2-5 лет, лица старческого возраста, пациенты с иммуносупрессией.

Течение патологии обычно благоприятное и более легкое, чем при норовирусном гастроэнтерите. Болезнь длится 3-4 дня и завершается выздоровлением. Многие случаи инфекции протекают бессимптомно.

Методы лабораторной диагностики астровирусной инфекции (ОТ-ПЦР, ИФА), способы ее лечения и профилактики такие же, как и при других острых вирусных гастроэнтеритах.

VIII. СЕМЕЙСТВО РЕОВИРУСОВ (*Reoviridae*). РОТАВИРУСЫ И РОТАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

Возбудители, относящиеся к этой вирусной группе, были впервые выделены в Австралии из фекалий ребенка с лихорадкой, пневмонией и симптомами поражения желудочно-кишечного тракта (У. Стенли, 1951 г.). Позднее (в 1959 г.) А. Сэбин присвоил им наименование «**реовирусы**» от англ. аббревиатуры "*respiratory enteric orphan*", что означало «респираторно-кишечные *сиротские* вирусы». Подобное название было обусловлено тем, что эти вирусы находились в дыхательных путях и желудочно-кишечном тракте без видимой связи с каким-либо известным на тот момент времени заболеванием.

Впоследствии оказалось, что данное семейство вирусов является весьма многочисленным, и его представители вызывают тяжелые инфекции человека и животных.

Для людей наибольшую эпидемическую опасность представляют **ротавирусы** – ведущие возбудители острого гастроэнтерита у детей в возрасте до 5 лет.

Представители родов *Coltivirus* и *Orbivirus* являются частой причиной трансмиссивных зоонозных инфекций; в ряде случаев они способны также поражать человека.

Многие реовирусы вызывают тяжелые инфекции у животных с возникновением эпизоотий. В частности, к ним относится орбивирус блютанг – этиологический агент катаральной лихорадки овец (болезнь «синего языка» или блютанг). Заболевание сопровождается некротическим поражением пищеварительного тракта и дистрофией скелетных мышц. Вирус может приводить к массовой эпизоотии среди овец с гибелью от 30% до 70% зараженных животных.

8.1. Классификация реовирусов и ротавирусов

Семейство *Reoviridae* включает 2 подсемейства (*Sedoreovirinae* и *Spinareovirinae*) и 15 вирусных родов.

Род *Rotavirus* относится к подсемейству *Sedoreovirinae*. В состав рода входит 8 видов вирусов (*Rotavirus A-H*).

Название *Rotavirus* произошло от лат. «*rota*» – «колесо» из-за своеобразных очертаний вирионов, имеющих по данным электронной микроскопии форму колеса.

Инфекция у человека вызывается видами *Rotavirus A*, *B* и *C*; при этом более 90% всех случаев связаны с видом *Rotavirus A*.

Исходя из отличий в структуре наружных капсидных белков *VP7* (G-белок) и *VP4* (P-белок) и их генов, ротавирусы делятся на многочисленные *генотипы* и *серотипы*.

8.2. Свойства ротавирусов

8.2.1. Морфология и ультраструктура

Вирион ротавирусов имеет вид колеса диаметром 70-100 нм. Тип симметрии – *кубический* (икосаэдр). Вирион не обладает суперкапсидом (*простой вирус*).

Геном всех реовирусов состоит из *двунитевой сегментированной РНК* (у разных представителей – от 10 до 12 сегментов).

У *ротавирусов* геном включает *11 сегментов двунитевой РНК*; каждый из них имеет (+) и (–) цепи молекул РНК.

Вирусный капсид состоит из белков и имеет *3-слойное строение*.

Зрелый вирион содержит 6 структурных белков *VP1-VP7* (отсутствует *VP5*) и 6 неструктурных белков *NSP1-NSP6*.

Внутренний слой капсида образован белком *VP2*, средний – белком *VP6*, наружный – белками *VP4* (G-белок) и *VP7* (P-белок).

Белки *VP4* и белки *VP7* являются *вирусными рецепторами*: взаимодействуют с остатками сиаловых кислот и полисахаридными АГ на поверхности энтероцитов.

Белок *VP1* является ферментом РНК-зависимой *РНК-полимеразой*.

Отдельные белки ротавирусов играют роль *факторов вирулентности*.

Ведущий из них – вирусный *энтеротоксин NSP4*.

Данный токсин обладает множественным механизмом действия. Он стимулирует патологическую активность нейронов кишечника, снижает синтез пищеварительных ферментов и усиливает секрецию хлоридов энтероцитами, что приводит к диарее. Также он увеличивает концентрацию ионов Са в кишечных клетках, что ведет к повреждению цитоскелета микроворсинок, нарушению плотных соединений между энтероцитами, усилению синтеза провоспалительных цитокинов макрофагами.

Белок *VP3* подавляет синтез интерферона зараженными клетками.

Белок *NSP1* ускоряет разрушение клеточного проапоптотического белка p53, что способствует выживанию клеток, зараженных вирусом.

8.2.2. Генетическая изменчивость ротавирусов

У ротавирусов группы А, поражающих человека, наблюдается выраженная генетическая нестабильность. Она обусловлена механизмами *генного шифта* и *генного дрейфа*.

Новые генотипы и серотипы ротавирусов возникают в результате *генного шифта*. **Генный шифт** – это *рекомбинация (реассортация)* сегментов РНК от двух разных генотипов вирусов при одновременной инфекции клетки. Образуются рекомбинантные вирионы с новым набором сегментов РНК и другим сочетанием поверхностных антигенных белков **VP4** (G-белок) и **VP7** (Р-белок).

Возможны рекомбинации между ротавирусами животных и человека.

Генный дрейф представляет собой постепенное накопление *мутаций* в генах, кодирующих наружные вирусные белки VP4 и VP7. Изменение антигенных свойств этих белков приводит к ускользанию вирусов от иммунологического контроля.

Несмотря на множество известных вариантов, инфекцию у человека вызывают лишь несколько основных генотипов ротавирусов.

8.2.3. Устойчивость вирионов

Вирусные частицы обладают высокой устойчивостью: на объектах внешней среды они сохраняются в течение нескольких месяцев.

Так как вирионы не имеют липидного суперкапсида, то они не разрушаются эфиром и хлороформом.

Вирусы устойчивы к действию соляной кислоты желудка, протеолитических ферментов, ультразвука.

Сохраняют чувствительность к температуре – при 50°C инактивируются в течение 30 минут.

Ротавирусы погибают под действием хлоросодержащих дезинфектантов, 95% этанола, фенола, глютарового альдегида

8.2.4. Культивирование ротавирусов

Ротавирусы человека не культивируются в курином эмбрионе и в организме экспериментальных животных.

При выращивании в культурах клеток наблюдается незавершенная репродукция вирусных частиц. Ротавирусы группы А могут быть адаптированы к отдельным клеточным культурам после их обработки трипсином.

8.3. Репродукция ротавирусов

Ротавирусы попадают в желудочно-кишечный тракт и проникают в *эпителий* 12-перстной кишки и тонкого кишечника.

При помощи белков *VP4* и *VP7* вирионы взаимодействуют с остатками *сиаловых кислот* и полисахаридными АГ на поверхности энтероцитов. Мембранные интегрины клеток эпителия выступают в роли ко-рецепторов, усиливая связывание.

Вирусы проникают в энтероциты посредством эндоцитоза или путем прямого прохождения через мембрану. При этом вирионы теряют внешний белковый слой.

Процесс репродукции происходит в *цитоплазме* зараженных клеток.

Вирусная РНК-полимераза на матрице (–) цепи геномной РНК синтезирует комплементарные цепи (+) РНК, которые выходят из вирусной частицы в цитоплазму.

Позитивная (+) цепь РНК поступает на рибосомы для синтеза структурных и неструктурных вирусных белков. Кроме того, она становится матрицей для дальнейшей репликации (–) цепи геномной РНК.

Неструктурные белки вируса стимулируют образование *вироплазм* – особых цитоплазматических включений, окруженных клеточными липидами. В них содержится геномная РНК и вирусные белки. В вироплазмах происходит первичная сборка вирусов с образованием двуслойных вирусных частиц с капсидами из белков *VP2* и *VP6*.

При помощи белка *NSP4* вирусные частицы из вироплазмы проникают в эндоплазматическую сеть, где происходит окончательная сборка вирионов. Ротавирусы заключаются в наружный капсид, состоящий из белков *VP4* и *VP7*.

Выход вирионов через цитоплазматическую мембрану сопровождается *лизисом* зараженных клеток.

8.4. Характеристика ротавирусных инфекций

Патогенные ротавирусы в течение многих лет остаются ведущей причиной **диарейных заболеваний**. Данная инфекция имеет *глобальное распространение* и в первую очередь поражает *детей раннего возраста* (от 3 месяцев до 5 лет).

Установлено, что у всех детей к возрасту 3-5 лет отмечаются эпизоды ротавирусной инфекции.

По оценкам ВОЗ и ЮНИСЕФ в мире ежегодно регистрируется до 500 тыс. случаев летальной ротавирусной инфекции среди детей. Это составляет 10% от общей детской смертности в возрастной группе до 5 лет.

Наиболее тяжелое течение ротавирусных заболеваний характерно для развивающихся стран Африки и Азии. Более половины всех смертельных исходов регистрируется в 5 странах мира (Индия, Пакистан, Нигерия, Конго, Эфиопия).

Иногда ротавирусная инфекция может наблюдаться у взрослых, особенно среди лиц со сниженным иммунитетом.

Для заболевания характерна осенне-зимняя сезонность.

Источником инфекции при остром ротавирусном гастроэнтерите является **больной человек**. Возбудитель в очень высоких концентрациях выделяется с фекалиями (10^{10-11} вирусных частиц в 1 мл).

Механизм передачи – **фекально-оральный**.

Пути передачи: основной путь – **контактно-бытовой** (от человека к человеку при контакте с инфицированными лицами, а также через предметы обихода); иногда алиментарный и водный. Контактный путь передачи способствует быстрому распространению инфекции.

Инфицирующая доза вируса весьма невелика (до 100 вирусных частиц).

Инкубационный период заболевания короткий и обычно составляет 1-2 дня.

После прохождения через желудок ротавирусы поступают в тонкий кишечник и проникают в клетки реснитчатого эпителия. Их репликация происходит в цитоплазме энтероцитов. Под действием вирусного энтеротоксина *NSP4* повреждается цитоскелет микроворсинок, нарушается синтез пищеварительных ферментов, усиливается секреция хлоридов, развивается локальное воспаление стенки кишечника.

Активное размножение ротавирусов приводит к разрушению эпителиальных клеток. Нарушается всасывание воды и электролитов, усиливается перистальтика, развивается диарея.

Клинические проявления инфекции могут быть самыми различными – от бессимптомных и легких вариантов, до тяжелых форм болезни с лихорадкой выше 39°C, интоксикацией, болями в животе, массивной диареей, рвотой и электролитными нарушениями.

Тяжелее всего протекают первые случаи ротавирусной инфекции у детей до 1 года, повторные эпизоды отличаются более легким течением.

При отсутствии осложнений заболевание длится 3-7 дней и завершается выздоровлением.

Наиболее тяжелое течение наблюдается у детей раннего возраста с иммунодефицитами и сопутствующей патологией. Обезвоживание, глубокие электролитные расстройства и коллапс могут приводить к полиорганной недостаточности и летальному исходу у таких пациентов.

Иммунитет, возникающий в ходе заболевания, обусловлен гуморальными и клеточными факторами. Ведущую роль в защите играют вируснейтрализующие АГ, направленные к антигенам VP4 и VP7. После первого эпизода протективный иммунитет развивается только у 35-40% детей, поэтому широко распространены повторные случаи ротавирусной инфекции с более легким течением.

8.5. Лабораторная диагностика ротавирусных инфекций

Поскольку все острые вирусные гастроэнтериты имеют сходные клинические проявления, решающая роль в диагностике данных инфекций принадлежит лабораторным методам.

Как и в других подобных случаях, **материалом для исследования** являются фекалии, рвотные массы, смывы с предметов обихода, пищевые остатки и т.д.

В **лабораторной диагностике** ротавирусной инфекции применяют иммунологические (определение АГ вирусов) и молекулярно-генетические методы анализа.

Для **определения АГ вирусов в фекалиях (иммунодиагностика)** используют иммуноферментный анализ (ИФА). С целью прямого обнаружения вирусов в фекалиях возможно применение иммуноэлектронной микроскопии.

Основным **молекулярно-генетическим методом** для идентификации ротавирусов является **ОТ-ПЦР**. С ее помощью определяют наличие *вирусной РНК* в фекалиях и других материалах.

Для дифференциальной диагностики различных вирусных кишечных инфекций между собой используют *мультиплексную ПЦР* с праймерами для наиболее часто встречающихся вирусных возбудителей (рота-, норо-, сапо-, астро- или аденовирусов).

С целью эпидемиологического анализа проводят *генотипирование* вирусных штаммов.

Для *серодиагностики* может быть использован ИФА с целью выявления АТ в реакции с парными сыворотками.

8.6. Лечение и профилактика ротавирусной инфекции

Лечение ротавирусной диареи направлено на устранение дегидратации и электролитного дисбаланса и включает массивную инфузионную терапию, восстановление и поддержание нормального водно-солевого обмена.

Для **специфической профилактики** ротавирусной инфекции применяются два варианта *живых вакцин* (RV1 и RV5), содержащих *аттенуированные* ротавирусы. В настоящее время они используются для массовой иммунизации детей более чем в 80 странах. Внедрение данных вакцин в практику существенно улучшило эпидемическую ситуацию с ротавирусной инфекцией в различных регионах мира.

В Республике Беларусь для профилактики ротавирусной инфекции зарегистрирована живая вакцина RV1 (“Rotarix”), содержащая аттенуированный ротавирус человека единственного генотипа G1P1A. Данная вакцина пока не входит в Национальный календарь профилактических прививок; иммунизация проводится на добровольной основе.

Вакцинация детей проводится двукратно, перорально, начиная с возраста 6 недель. Второй прием вакцины должен быть выполнен до возраста 24 недель.

Ротавирусные вакцины отличаются высокой эффективностью. Иммунизация предупреждает развитие острого ротавирусного гастроэнтерита в 75%-87% случаев, тяжелой формы заболевания – более чем в 95% случаев. Меры *неспецифической профилактики* при ротавирусной инфекции в целом такие же, как и при других острых вирусных гастроэнтеритах.

IX. СЕМЕЙСТВО РЕТРОВИРУСОВ (*Retroviridae*). ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ

К ретровирусам относится уникальная группа РНК-содержащих вирусов, обладающих ферментом **обратной транскриптазой**. Центральной стадией жизненного цикла всех ретровирусов является синтез на матрице вирусной геномной РНК комплементарной ей ДНК (**кДНК**) с последующим *встраиванием кДНК в геном клетки-хозяина*.

В природе ретровирусы распространены повсеместно. Круг их хозяев весьма широк и включает многие виды беспозвоночных и большинство видов позвоночных животных.

Первые возбудители, в дальнейшем определенные как ретровирусы, были открыты еще на начальном этапе развития вирусологии. В 1904 г. А. Валле и А. Карре обнаружили вирус – возбудитель инфекционной анемии лошадей, в 1908 г. В. Эллерман и О. Банг доказали вирусную природу лейкоза птиц, а в 1911 г. П. Раус и Дж. Берд открыли возбудителя саркомы птиц, впоследствии названного вирусом саркомы Рауса.

Далее было установлено, что схожие онкогенные вирусы способны вызывать опухоли у млекопитающих (вирус рака молочной железы мышей; Дж. Биттнер, 1936 г.). Обнаружение многочисленной группы РНК-содержащих онкогенных вирусов стало основой для изучения клеточных и молекулярных механизмов вирусного канцерогенеза.

В 1970 г. был открыт ведущий фермент жизненного цикла данных вирусов – *РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза, ревертаза)*. Данное открытие явилось результатом двух одновременно проведенных исследований: Г. Темин обнаружил обратную транскриптазу у вирусов саркомы Рауса, Д. Балтимор выявил ее наличие у вирусов лейкоза мышей. С этого момента все РНК-содержащие вирусы, обладающие обратной транскриптазой, получили общее наименование «*ретровирусы*».

В 1980 г. группа исследователей под руководством Р. Галло открыла первый ретровирус, вызывающий опухоли у человека – вирус Т-клеточного лейкоза. В дальнейшем был установлен целый ряд сходных лимфотропных ретровирусов, способных вызывать патологию у приматов и человека (Р. Галло и Д. Голд с соавт., 1982 г.; Р. Махье и А. Жессен, 2005 г.)

Однако наибольшую эпидемиологическую опасность для человеческой популяции представляет другой лимфотропный ретровирус – **вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)**, вызывающий **ВИЧ-инфекцию** с развитием **синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД)**.

Официальная история возникновения и развития глобальной пандемии ВИЧ-инфекции начинается с 5 июня 1981 г. после сообщения Центра по контролю и профилактике заболеваний США о выявлении в Лос-Анжелесе у 5 гомосексуалистов пневмоцистной пневмонии – тяжелой оппортунистической инфекции, возникающей у лиц с иммунодефицитом. Спустя некоторое время среди гомосексуалистов была зарегистрирована высокая частота саркомы Капоши – редкой сосудистой опухоли кожи, также развивающейся у лиц с клеточным иммунодефицитом. Впоследствии было установлено, что эти заболевания и сопровождающий их иммунодефицит с повышенной частотой возникают среди потребителей внутривенных наркотиков и у лиц с частыми гемотрансфузиями (пациентов с гемофилией).

В 1982 г. данное состояние было обозначено как СПИД – синдром приобретенного иммунного дефицита.

В мае 1983 г. группа французских ученых под руководством Ф. Барре-Синусси и Л. Монтанье сообщила о выделении от пациента с лимфоаденопатией и иммунодефицитом ретровируса LAV (lymphadenopathy-associated virus) – наиболее вероятного возбудителя СПИД.

Обнаруженный вирус был передан в США в лабораторию Р. Галло для дополнительного изучения. В конце 1983 г. научная группа Ф. Вонг-Стаал, руководимая Р. Галло, объявила о выделении собственного варианта ретровируса – возбудителя СПИД. В дальнейших исследованиях было установлено, что геномы обоих вариантов вирусов идентичны.

В 1986 г. возбудитель СПИД получил свое окончательное наименование – «вирус иммунодефицита человека или ВИЧ».

В этом же году в Западной Африке Ф. Клавель с соавт. выделили новый вид вируса иммунодефицита человека – ВИЧ-2.

В 2008 г. за открытие ВИЧ Франсуазе Барре-Синусси и Люку Монтанье была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине.

9.1. Классификация ретровирусов

Семейство *Retroviridae* состоит из 2-х подсемейств (*Orthoretrovirinae* и *Spumaretrovirinae*), включающих 7 вирусных родов и более 50 видов вирусов.

В подсемействе *Spumaretrovirinae* находится единственный род *Spumavirus*. Патогенные представители здесь не зарегистрированы. Род объединяет так называемых «пенящих вирусов», дающих характерное «вспенивание» клеточных культур из-за слияния зараженных клеток.

В подсемейство *Orthoretrovirinae* входят роды *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus*, *Lentivirus*.

К роду *Deltaretrovirus* относятся 3 вида Т-лимфотропных вирусов приматов и человека (PTLV 1-3).

Т-лимфотропный вирус 1 типа является эндемичным для ряда стран и регионов (Япония, Карибский бассейн, страны Африки и др.) После заражения у 1-4% инфицированных лиц он вызывает Т-клеточный лейкоз – редкий вариант онкопатологии крови. Кроме того, вирус 1 типа способен вызвать тропический спастический парапарез – эндемичное воспалительно-дегенеративное заболевание нервной системы.

Т-лимфотропный вирус 2 типа распространен в Южной Америке. В отдельных случаях он может оказаться причиной неврологических расстройств и патологии дыхательных путей.

Вирус иммунодефицита человека относится к роду *Lentivirus*. Установлено 2 вида вирусов – **ВИЧ-1** и **ВИЧ-2**.

Внутри вида данные вирусы образуют различные *генетические группы*. Это связано с нестабильностью генома ВИЧ.

ВИЧ-1 подразделяется на *группы М, О, N, Р*. Более 90% всех случаев инфекции вызывается вирусами группы М (от англ. *main* – главная, основная).

Генетические группы делятся на многочисленные *подтипы*. В группе М установлено свыше 10 вирусных подтипов (А-К). Подтипы способны рекомбинировать друг с другом с образованием *циркулирующих рекомбинантных форм* ВИЧ.

ВИЧ-2 разделяется на 9 генетических групп (А-І).

Вследствие активных мутаций в ходе ВИЧ-инфекции из первичного вируса постоянно образуются его новые генетические

варианты (*квазивиды*). Этот процесс отражает индивидуальную эволюцию вирусов.

Геномы ВИЧ-1 и ВИЧ-2 обладают лишь частичной гомологией между собой (около 40-60%). Однако для каждого из них установлен близкородственный вирус иммунодефицита обезьян (для ВИЧ-1 – вирус иммунодефицита шимпанзе, для ВИЧ-2 – вирус обезьян-мангабеев). Поэтому считается, что ВИЧ-1 и ВИЧ-2 эволюционировали из соответствующих видов вирусов иммунодефицита обезьян.

9.2. Свойства ВИЧ

9.2.1. Морфология и ультраструктура вирионов

Вирион ВИЧ имеет *сферическую* форму диаметром 100-280 нм. Он окружен внешней липидной двухслойной оболочкой-*суперкапсидом* (сложный вирус). На поверхности вирионов имеются гликопротеиновые шипы, выполняющие рецепторную функцию. Каждый из них представлен *гликопротеином gp160*, который нарезается клеточной протеазой с образованием 2-х белков – *gp41* и *gp120*. Белок *gp41* погружен в липидную оболочку; находящийся снаружи белок *gp120* является внешней частью рецептора.

Под липидной оболочкой расположен сферический слой матриксного белка *p17*.

Внутри его находится сердцевина вируса (*капсид*), образованная белком *p24* и белком *p6*. Нуклеокапсид имеет форму усеченного конуса. Он содержит вирусный геном и ферменты репликации ВИЧ.

Капсидные и суперкапсидные структурные белки ВИЧ являются вирусными *антигенами*.

Геном ВИЧ (как и всех ретровирусов) представлен **2-мя копиями** *однонитевой несегментированной положительной (+) РНК*. Молекулы РНК образуют димер, соединенный водородными связями на одном из концов. С молекулами РНК тесно связан нуклеокапсидный белок *p6*.

Вирусный геном содержит 9 генов, из них 3 кодируют структурные белки и 6 – регуляторные.

Структурный ген *gag* (англ. *group specific antigen*) кодирует внутренние белки капсида вируса.

Структурный ген *env* (англ. *envelope* – оболочка) отвечает за синтез наружных гликопротеинов *gp41* и *gp120*.

Ген *pol* (*polymerase*) кодирует ферменты ВИЧ – **обратную транскриптазу (p66), протеазу (p32) и интегразу (p11)**.

У ВИЧ также имеются регуляторные гены, кодирующие синтез одноименных *регуляторных белков*:

- ген *tat* (белок *Tat* активирует обратную транскрипцию вирусной РНК);

- ген *rev* (белок *Rev* регулирует экспрессию вирусных структурных белков);

- ген *nef* (белок *Nef* подавляет экспрессию CD-молекул и молекул HLA на мембранах зараженных клеток);

- ген *vif* (белок *Vif* угнетает синтез противовирусных клеточных белков);

- ген *vpr* (белок *Vpr* стимулирует репликацию вирусной РНК и транскрипцию вирусных белков);

- ген *vpu* у ВИЧ-1 (белок *Vpu* усиливает высвобождение вирусных частиц из клетки);

- ген *vpx* у ВИЧ-2 (белок *Vpx* обеспечивает эффективную обратную транскрипцию генома ВИЧ-2).

Для ВИЧ характерна **высокая частота спонтанных мутаций** (1-10 на геном вируса при его однократной репликации). Это обусловлено скоростью процесса репликации и многочисленными ошибками в работе обратной транскриптазы. В результате образуется набор новых вариантов вируса («генетическое облако», квазивиды). При этом преимущество получают варианты, устойчивые к факторам иммунитета и противовирусным химиотерапевтическим средствам.

9.2.2. Устойчивость вирионов

Несмотря на невысокую резистентность ретровирусов в окружающей среде, в отдельных ситуациях и при высоких концентрациях ВИЧ может длительно поддерживать свою жизнеспособность (например, в остатках крови в шприце при комнатной температуре сохраняется свыше 10 дней или при 4°C в течение 2-4 недель).

Во время высыхания образцов крови ВИЧ может выживать в течение нескольких дней. На поверхностях в бесклеточной и бессывороточной среде вирус быстро погибает.

Под действием УФ-лучей количество активного вируса прогрессивно снижается; при этом белки крови препятствуют инаktivации ВИЧ.

При повышении температуры гибель ВИЧ наступает через 30 мин при 60°C и через 1 мин при 100°C.

Длительно (в течение месяцев и лет) сохраняет жизнеспособность при низких температурах (–20°C и менее).

Вирус чувствителен ко всем основным дезинфектантам (пероксиду водорода, гипохлориту, раствору йода, фенолу, эфиру, этанолу, детергентам, глютаровому альдегиду, формальдегиду и др.); теряет жизнеспособность при высоких и низких значениях pH.

9.2.3. Культивирование ВИЧ

ВИЧ культивируется в культуре лимфоцитов и макрофагов человека, включая перевиваемые клеточные линии (клетки Jurkat и др.), а также в генно-модифицированных опухолевых клеточных линиях с высоким уровнем экспрессии мембранных рецепторов к ВИЧ (CD4, CCR5, CXCR4).

9.3. Репродукция ВИЧ

На стадии *адсорбции и проникновения* ВИЧ в клетки происходит специфическое взаимодействие вирусных суперкапсидных гликопротеинов *gp120* и *gp41* с мембранными клеточными рецепторами.

На первом этапе *gp120* связываются с молекулами *CD4* на мембранах клеток системы иммунитета.

Популяции клеток с высокой плотностью *CD4*-рецепторов, связывающие ВИЧ:

- «наивные» и активированные (*CD4+*) *T-хелперы*;
- *T-лимфоциты памяти*.

Кроме того, в количестве, достаточном для фиксации вируса, *CD4*-рецепторы представлены на мембранах *дендритных клеток*, *моноцитах* и *макрофагах*, клетках *макрофагальных линий ЦНС* (астроциты и глиальные макрофаги), нейронах, эпителии кишечника, шейки матки и ряде других.

Данные типы клеток являются основными мишенями ВИЧ. В отдельных случаях ВИЧ может связываться с другими видами рецепторов (интегрины, лектины).

Взаимодействие «*gp120-CD4*» – необходимое, но недостаточное условие для проникновения вириона ВИЧ в клетку. Для этого требуется наличие специфических *коррецепторов к вирусу* на

мембранах. Основными корецепторами к ВИЧ являются молекулы клеточных хемокиновых рецепторов **CXCR4** и **CCR5**.

Молекула **CXCR4** экспрессирована на мембранах **Т-лимфоцитов**; молекула **CCR5** – на мембранах **макрофагов/моноцитов, дендритных клеток**, Т-лимфоцитов.

Связывание *gp120* с молекулой **CD4** приводит к конформационной перестройке *gp120* и последующему связыванию *gp120* с молекулой корецептора на мембране.

На втором этапе взаимодействия происходит проникновение **gp41** в мембрану клетки-мишени, что обеспечивает **слияние** суперкапсида вируса с клеточной мембраной.

Кроме того, вирионы ВИЧ могут проникать в клетки посредством **эндоцитоза**.

Нуклеокапсид вируса, содержащий РНК и вирусные ферменты, поступает в цитоплазму. Здесь происходит **депротеинизация** ВИЧ с выходом геномной РНК и ферментов.

Далее выполняется **обратная транскрипция** – синтез комплементарной ДНК (**кДНК**) на матрице вирусной геномной РНК ферментом обратной транскриптазой. Вирусная РНК при этом разрушается обратной транскриптазой.

Вновь образованная двухцепочечная кДНК транспортируется в ядро. Под действием фермента **интегразы** происходит встраивание кольцевой формы вирусной ДНК в ДНК клеточных хромосом (**интеграция** генома, образование **провируса**). В интегрированном состоянии ВИЧ остается в геноме хозяина пожизненно.

Репликация вируса стимулируется клеточными факторами транскрипции (например, под влиянием фактора транскрипции провоспалительных цитокинов **NF-κB**). Их функция повышается при активации Т-лимфоцитов. Поэтому наиболее интенсивное размножение ВИЧ происходит в активированных Т-лимфоцитах.

Под действием клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы в ядре выполняется **транскрипция** вирусных иРНК. Часть из них подвергается сплайсингу, перемещается в цитоплазму и транслируется на рибосомах с образованием вирусных регуляторных белков (**Tat, Rev**). Эти белки возвращаются в ядро, где стимулируют дальнейшую репликацию вируса, синтез геномных РНК, вирусных иРНК и их последующий транспорт в цитоплазму.

На рибосомах происходит трансляция вирусных белков с образованием промежуточных полипротеинов. Фермент **протеаза**

гидролизует их, формируя структурные вирусные белки. Этот процесс продолжается во время сборки и созревания вирионов.

Окончательная **сборка ВИЧ** происходит в области цитоплазматической мембраны. Вирусы покидают клетку через мембрану путем **почкования**, приобретая внешнюю липидную оболочку-суперкапсид.

Заражение соседних клеток происходит как после их взаимодействия с отделившимися свободными вирионами ВИЧ, так и вследствие прямого перемещения вирусов из клетки в клетку в местах высокой клеточной концентрации (например, в лимфоузлах).

Каждый цикл репликации ВИЧ сопровождается множественными **мутациями и рекомбинациями** вирусных геномов.

9.4. Патогенез и клиническая характеристика ВИЧ-инфекции и СПИД

Источником заражения являются **ВИЧ-инфицированные** лица.

Механизмы передачи:

- **контактный (половой)** гетеро- или гомосексуальный контакт);
- **артифициальный (парентеральный):**
внутривенное введение наркотиков;
посредством медицинских манипуляций – переливание крови, профессиональные заражения (укол иглой и т.д.), инвазивные диагностические манипуляции, пересадка органов и тканей;
- **вертикальный** (от матери к ребенку) – внутриутробное заражение, передача вируса в родах или с молоком матери при грудном вскармливании.

Группы риска по заражению ВИЧ: внутривенные наркоманы, гомо- и бисексуалы, пациенты с гемофилией, дети ВИЧ-инфицированных родителей, медработники.

В 2015 г. в Республике Беларусь основная передача ВИЧ-инфекции происходила **половым путем** (62,6% случаев) и при **внутривенном введении наркотиков** (36% случаев).

Инфицированные биологические жидкости, при контакте с которыми возможно заражение ВИЧ – это **кровь** и ее компоненты, любые другие жидкости с видимой примесью крови, **сперма** и **влагалищные выделения, грудное молоко** при вскармливании детей.

Вероятность заражения при гетеросексуальном контакте составляет 0,01-0,3%; при гомосексуальном – 0,05-3,0%; при перкутанном заражении (укол инфицированной иглой) – 0,3%; переливании инфицированной крови – 90%.

Без антиретровирусного лечения матери вероятность заражения ребенка при беременности и в родах составляет 15-25%. В случае адекватной терапии беременных передача ВИЧ падает до 1-2% и менее. При грудном вскармливании (в отсутствие лечения) частота передачи ВИЧ – до 15-20%.

Частота передачи ВИЧ-2 в 10-20 раз ниже, чем ВИЧ-1 при тех же способах заражения.

Мутации в гене корцептора CCR5 (короткое плечо хромосомы 3) значительно снижают вероятность заражения ВИЧ.

Гомозиготная делеция 32-ой пары нуклеотидов обоих аллельных генов CCR5 (del32/del32) приводит к выраженной резистентности к ВИЧ-инфекции (1% европеоидов). У гетерозигот (del32/+) на клеточной мембране представлено менее 50% молекул CCR5, что обуславливает медленную прогрессию заболевания (10-15% европеоидов).

В ходе развития ВИЧ-инфекции наблюдаются следующие **стадии**:

1) **инкубационный период** (через 4-11 дней вирус обнаруживается в крови, через 3-4 недели возникают первые клинические признаки вирусной инфекции);

2) **острая лихорадочная фаза** (первичная инфекция с диссеминацией вируса по лимфоидным органам) – *моноклеозоподобный синдром* через 3-6 недель от момента заражения;

3) **латентный период** (средняя продолжительность – 8-10 лет);

4) **персистирующая генерализованная лимфаденопатия**;

5) **клиническая стадия** с развитием *оппортунистических инфекций* (пре-СПИД и СПИД);

6) **смерть** пациента от СПИД-ассоциированных заболеваний (оппортунистические инфекции, опухоли, поражение ЦНС).

Посредством связывания с рецептором **CD4** и корцепторами **CXCR4** или **CCR5** вирус проникает в чувствительные клетки. Он поражает (**CD4+**) **T-лимфоциты** (*T-хелперы, T-клетки памяти*), клетки **макрофагальных линий** (*моноциты, тканевые макрофаги*),

дендритные клетки, ряд эпителиальных клеток, нейроны ЦНС, сперматозоиды.

В течение 24 часов после контакта с вирусом инфицируются дендритные клетки в месте его проникновения; спустя 24-48 часов происходит миграция этих клеток в лимфатические узлы; после 5-6 дня вирус обнаруживается в крови (*виремия*); на 4-й неделе у пациента развиваются первые признаки заболевания.

Острый моноклеозоподобный синдром наблюдается у 50-75% пациентов. Он сопровождается снижением общего количества (CD4+) Т-лимфоцитов. Вследствие ответных иммунных реакций начальная *виремия* подавляется, уровень Т-лимфоцитов постепенно восстанавливается.

В ходе обратной транскрипции кДНК ВИЧ встраивается в клеточный геном (образование *провируса*). Система иммунитета не в состоянии удалить все зараженные клетки, и ВИЧ-инфекция персистирует в организме пожизненно.

В *латентном периоде* отмечается сравнительно низкий уровень репликации ВИЧ. Активная репродукция вируса запускается при стимуляции Т-хелперов антигенами, а также при действии на клетку *провоспалительных цитокинов*, в первую очередь – *α-ФНО*. Этот цитокин стимулирует клеточный фактор транскрипции *NF-κB* с последующей транскрипцией вирусной РНК.

Размножение вирусов ведет к прогрессирующему *уменьшению популяции (CD4+) Т-хелперных клеток*.

Механизмы гибели Т-хелперов весьма разнообразны. Они включают:

- прямое повреждающее (цитопатическое) действие вирусов на Т-лимфоциты;
- образование *синцития*;
- *апоптоз* Т-лимфоцитов и окружающих их клеток под влиянием вируса и провоспалительных цитокинов (*α-ФНО* и др.);
- *пироптоз* – воспалительную гибель Т-лимфоцитов через активацию каспазы-1;
- цитотоксическое действие (CD8+) Т-клеток-киллеров в отношении ВИЧ-инфицированных Т-лимфоцитов;
- угнетение гемопоэза.

Кроме того, регуляторные белки вируса подавляют экспрессию молекул HLA на мембранах, блокируют действие противовирусных клеточных факторов, тормозят нормальное клеточное деление.

Основную роль в *распространении ВИЧ по лимфоидной ткани*, другим органам и системам играют **моноциты, макрофаги и дендритные клетки**. Они обладают повышенной устойчивостью к повреждающему действию ВИЧ. Для них характерна интегративная инфекция с медленной репликацией вируса.

Также возбудитель способен длительно сохраняться в ***T-клетках памяти***. Все указанные типы клеток являются *резервуарами* для ВИЧ.

С течением времени заболевание неуклонно прогрессирует. Инфекция переходит в стадию *персистирующей генерализованной лимфаденопатии* с повсеместным увеличением различных групп лимфоузлов.

Критическое падение уровня Т-хелперов (норма – 800-1000 клеток/мкл) обуславливает развитие у пациентов клинических признаков **СПИД**.

При количестве (CD4+) Т-лимфоцитов в крови до 500 клеток/мкл проявлений иммунодефицита не наблюдается; при уровнях 200-500 клеток/мкл присоединяются вторичные заболевания; количество (CD4+) лимфоцитов **менее 200 клеток/мкл** соответствует СПИД.

У пациентов развиваются многочисленные ***оппортунистические инфекции*** и ***опухоли*** (СПИД-ассоциированные или СПИД-индикаторные заболевания).

Ведущей ***бактериальной инфекцией*** при СПИД является **туберкулез** (возбудитель – *M. tuberculosis*). Он развивается не менее чем у 30-40% ВИЧ-инфицированных. Вероятность заболеть туберкулезом у них в 20-30 раз выше, чем в популяции в целом. Туберкулез является ***основной причиной смерти*** пациентов с ВИЧ-инфекцией и СПИД (25-40% всех летальных исходов).

Текущая совместная эпидемия (***синдемия***) ВИЧ-инфекции и ***лекарственно-устойчивого туберкулеза*** является весьма серьезным вызовом и реальной угрозой общественному здоровью и здравоохранению.

Также у пациентов в стадии СПИД могут наблюдаться ***микобактериозы*** (*Mycobacterium avium-intracellulare*); инфекции, вызванные *Listeria monocytogenes*, сальмонеллами, стрептококками и другими возбудителями. У ряда пациентов развивается генерализованная бактериальная инфекция – ***сепсис***.

Вирусные инфекции наиболее часто обусловлены возбудителями семейства *Herpesviridae*. Среди них выделяется ***цитомегаловирусная инфекция*** (причина гибели 10-15% пациентов в стадии СПИД) и

опоясывающий лишай (вызывается герпесвирусом 3 типа). Встречаются инфекции, вызванные герпесвирусами 1 и 2 типов, а также аденовирусами.

Большинство внутривенных наркоманов с ВИЧ-инфекцией одновременно заражены вирусом гепатита С (ВГС). Гепатит С у таких пациентов быстро переходит в цирроз с декомпенсацией и гибелью пациентов в течение нескольких лет.

Среди наиболее типичных **протозойных заболеваний** при СПИД отмечаются **токсоплазмоз** (возбудитель – *Toxoplasma gondii*) и криптоспоридиоз (*Cryptosporidium parvum*). Токсоплазмоз является причиной смерти 10-15% ВИЧ-инфицированных.

Существенное место в проявлениях СПИД занимают **грибковые инфекции** – **кандидоз** (*Candida albicans*) и криптококкоз (*Cryptococcus neoformans*). Грибковые инфекции ответственны за гибель 5-10% пациентов с ВИЧ.

Кроме того, одной из наиболее тяжелых инфекций, ассоциированных со СПИД, является **пневмоцистная пневмония**, вызванная грибковым патогеном *Pneumocystis jirovecii*.

Среди **опухолевых поражений** при СПИД наиболее часто встречаются эндотелиальная опухоль **саркома Капоши** (возбудитель – *герпесвирус 8 типа*) и **лимфомы**. С развитием СПИД они возникают более чем у 10% пациентов.

Расстройства нервной системы различной степени тяжести встречаются у 40-90% пациентов с ВИЧ-инфекцией. У них наблюдается периферическая полинейропатия и поражение ЦНС (энцефалопатия, энцефалит и **СПИД-деменция**). Вирус попадает в ЦНС вместе с инфицированными моноцитами. Развитие хронического воспаления ведет к инфильтрации мозговой ткани иммунными клетками и сопровождается гибелью нейронов. Поражение ЦНС является еще одной частой причиной летальных исходов при СПИД.

Клеточные и гуморальные реакции иммунитета не способны остановить прогрессирование ВИЧ-инфекции.

Поликлональная активация В-лимфоцитов и синтез АТ против различных вирусных белков (р24, gp41, gp120 и др.) не обеспечивают должной нейтрализации ВИЧ.

Высокая частота мутаций и рекомбинаций с образованием новых вирусных квазивидов приводят к постоянному ускользанию ВИЧ от действия системы иммунитета.

Показана возможность синтеза В-лимфоцитами эффективных нейтрализующих АТ широкого спектра действия, однако их суммарная доля невелика.

Клеточные иммунные реакции при ВИЧ-инфекции ведут к усилению синтеза α -ФНО и других провоспалительных цитокинов, что сопровождается активацией фактора транскрипции NF- κ B и ускорением репродукции ВИЧ.

Цитотоксические CD8(+) Т-лимфоциты и естественные киллеры разрушают клетки, инфицированные ВИЧ.

9.5. Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции и СПИД

Диагноз ВИЧ-инфекции устанавливается только на основе применения высокоспецифичных и чувствительных лабораторных методов с обнаружением *противовирусных антител* и/или *вирусной нуклеиновой кислоты* в исследуемом материале.

Для обнаружения ВИЧ-инфекции наиболее широко используются ***серологические методы*** исследования, которые являются стандартными при установлении диагноза. С помощью серологических тестов у пациентов определяют наличие ***специфических противовирусных антител***.

Материалом для исследования служит кровь (сыворотка) пациентов.

На первом этапе тестирования у пациентов ***методом ИФА*** с использованием тест-системы с высокой чувствительностью определяют АТ к антигенам ВИЧ (например, белкам gp120, gp41, p24).

При положительном результате анализа ИФА-тест повторяют с другой тест-системой.

В случае повторного положительного ИФА-анализа выполняют ***подтверждающий тест*** – определяют противовирусные АТ различной специфичности ***методом иммуноблоттинга*** (вестерн-блоттинг).

Окончательные результаты тестирования считают положительными при обнаружении в иммуноблоттинге *не менее 2 видов АТ* к наружным гликопротеинам ВИЧ (белкам комплекса gp120/gp41/gp160).

Иногда вместо ИФА в качестве экспресс-анализа для выявления АТ используют методы латекс-агглютинации, иммунохроматографии.

Следует отметить, что у 90-95% зараженных антитела к ВИЧ появляются лишь в течение 3-х месяцев после инфицирования (*серонегативное окно*). У 5-9% зараженных АТ регистрируются только через 6 месяцев, при этом 0,5-1% ВИЧ-инфицированных лиц становятся серопозитивными в еще более поздние сроки. Наиболее ранний срок нахождения специфических антител при ВИЧ-инфекции составляет 2 недели.

Молекулярно-генетические тесты (ОТ-ПЦР) способны обнаруживать *вирусную РНК* уже через 10 дней от момента инфицирования. ОТ-ПЦР можно применять для ранней предварительной диагностики ВИЧ-инфекции, в том числе у новорожденных или лиц с иммуносупрессией.

ОТ-ПЦР в режиме реального времени определяет *количество копий вирусного генома* в 1 мл плазмы крови (*вирусная нагрузка*). Данный тест является ведущим в **контроле эффективности противовирусной терапии**.

В ряде стран (например, в США) на первом этапе серологического тестирования помимо АТ определяют антиген ВИЧ p24, который появляется в крови раньше противовирусных АТ. В качестве подтверждающего метода при сомнительных результатах здесь используют ОТ-ПЦР.

Среди **других лабораторных тестов** при ВИЧ-инфекции применяют различные *методы оценки иммунного статуса* для определения стадии иммунодефицита. Количество CD4(+) Т-хелперов устанавливают проточной цитометрией или при помощи РИФ.

Культивирование ВИЧ в культурах клеток представляет значительные сложности. Его используют при проведении научных исследований. Также его можно применять для определения устойчивости ВИЧ к противовирусным средствам.

Экспресс-диагностику **СПИД-индикаторных оппортунистических инфекций** выполняют *молекулярно-генетическими методами (ПЦР)*. Параллельно производят выделение и идентификацию соответствующих видов возбудителей.

Диагноз СПИД устанавливается при одновременном выявлении не менее двух СПИД-индикаторных заболеваний у пациента.

9.6. Лечение и профилактика ВИЧ-инфекции

Внедрение высокоэффективных методов лечения коренным образом изменило характер течения и распространения ВИЧ-инфекции и значительно улучшило ее индивидуальный прогноз (*«жизнеспасающее лечение»*).

Без адекватной терапии средняя продолжительность жизни ВИЧ-инфицированных приблизительно соответствует 10 годам.

При точном соблюдении рекомендаций по лечению продолжительность жизни пациентов с ВИЧ приближается к средней по популяции и может достигать 70-80 лет и более.

Современная схема лечения ВИЧ получила название *«высокоактивная антиретровирусная терапия – ВААРТ»*. Схема включает несколько групп противовирусных химиопрепаратов, имеющих различные механизмы действия. Эти препараты блокируют отдельные этапы репродукции ВИЧ и останавливают прогрессирование инфекции.

По механизму действия различают следующие группы антиретровирусных средств:

- 1) **ингибиторы обратной транскриптазы**
 - **нуклеозидные** – ламивудин, абакавир, азидотимидин, дидезоксицитидин и ряд других;
 - **ненуклеозидные** – ифавиренц, невирапин и др.;
- 2) **ингибиторы протеазы ВИЧ** – саквинавир, индинавир, ритонавир, нельфинавир и другие средства;
- 3) **ингибиторы интегразы ВИЧ** – ралтегравир, элвитегравир;
- 4) **ингибиторы входа/слияния ВИЧ**
 - **маравирок** – ингибитор связывания рецептора ВИЧ gp120 с корецептором CCR5;
 - **энфувиртид** – блокирует рецептор ВИЧ gp41, предотвращая слияние липидной оболочки ВИЧ с клеточной мембраной.

Начальная схема ВААРТ включает назначение 2-х нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы и одного из препаратов других групп. Лечение позволяет остановить репликацию вируса и снизить его количество в плазме пациентов до уровней, не определяемых современными молекулярно-генетическими методами (ОТ-ПЦР). Эффективное лечение также обеспечивает восстановление популяции CD4(+) Т-хелперов и тем самым предупреждает прогрессирование заболевания и развитие СПИД.

Антиретровирусная терапия требует высокой приверженности пациентов к лечению. Нарушения в схеме ВААРТ неизбежно ведут к усилению репликации вируса и развитию лекарственной устойчивости ВИЧ из-за его выраженной генетической изменчивости. Это приводит к смене препаратов, изменению схемы лечения и в конечном итоге – к ее неэффективности.

Кроме того, ДНК-копии ВИЧ продолжают оставаться в геноме инфицированных клеток, то есть элиминации вируса при использовании ВААРТ не происходит. В настоящее время получены экспериментальные предпосылки для удаления ДНК ВИЧ из хромосом клеток при использовании современных методов редактирования генома (методика CRISPR-Cas9).

Согласно текущим рекомендациям ВОЗ антиретровирусную терапию должны получать все ВИЧ-инфицированные независимо от состояния системы иммунитета. Широкое использование ВААРТ позволяет резко снизить распространение ВИЧ-инфекции, в том числе прервать гетеросексуальный и вертикальный (от матери к ребенку) пути передачи вируса. Это создает объективные предпосылки для прекращения эпидемии ВИЧ-инфекции.

Лечение СПИД-ассоциированных инфекций заключается в назначении адекватной *антимикробной химиотерапии* соответствующих заболеваний.

Профилактика ВИЧ-инфекции по-прежнему остается ***неспецифической***.

Она включает проведение медицинских профилактических мероприятий, а также массовую и эффективную санитарно-просветительную работу.

Необходимо своевременное выявление ВИЧ-инфицированных среди групп риска (лица, контактные по ВИЧ, наркоманы, проститутки и т.д.). Выполняется профилактика инфицирования медицинского инструментария, тестирование препаратов крови, Разработана и применяется система мероприятий по предупреждению заражения медработников при контакте с биологическими жидкостями ВИЧ-инфицированных лиц.

Проводится активная пропаганда знаний среди населения по предупреждению заражения ВИЧ половым путем (исключение случайных связей, использование презервативов при сексуальных контактах и т.д.), а также при внутривенном употреблении наркотиков.

Пост-экспозиционная профилактика выполняется после контакта с биологическими жидкостями ВИЧ-инфицированных лиц (незащищенный сексуальный контакт, укол инфицированной иглой, порез скальпелем при проведении оперативных вмешательств, переливание зараженных препаратов крови и т.д.). Пост-экспозиционная профилактика должна начинаться в максимально сжатые сроки (от 1-2 дней до 1 недели с момента контакта). Используется современная схема ВААРТ, включающая ингибиторы интегразы ВИЧ. После начальной профилактики рекомендовано продолжение лечения по крайней мере в течение 4 недель. В дальнейшем проводится неоднократное тестирование пострадавших на АТ к ВИЧ в срок до 6 месяцев после контакта.

Несмотря на многократные попытки, *вакцина против ВИЧ до сих пор не создана*. Это определяется крайней изменчивостью вируса. Первой вакциной, доведенной до стадии клинических испытаний, стала вакцина, разработанная группой Р. Галло к 2015 г. Ее основой является модифицированная форма вирусного рецептора gp120.

9.7. Пандемия ВИЧ-инфекции – итоговое состояние проблемы

В 2005 г. объединенная программа ООН по ВИЧ/СПИД (ЮНЭЙДС, *UNAIDS*) в очередном *Докладе о глобальной эпидемии ВИЧ/СПИД* представила ВИЧ-инфекцию как одну из наиболее разрушительных эпидемий, с которой сталкивалось человечество в ходе своей истории.

На пике эпидемического подъема (1996-2005 гг.) общее количество ВИЧ-инфицированных на Земле приближалось к 40 млн, число смертельных исходов от СПИД-ассоциированных заболеваний превышало 2 млн в год, число ежегодных новых случаев инфекции оценивалось в 3-4 млн и более.

По оценкам ВОЗ, с момента начала эпидемии от СПИД умерло не менее 34 млн человек.

Ценой больших совместных усилий национальных правительств всех стран мира и международных глобальных организаций, объединенных под эгидой *UNAIDS* (ВОЗ, ЮНЕСКО, ЮНИСЕФ, Всемирный банк и др.), удалось добиться перелома в борьбе с пандемией ВИЧ/СПИД.

На рубеже веков в 2000 г. государства-члены ООН приняли совместную Декларацию тысячелетия, где были представлены 8

основных Целей развития тысячелетия; 193 государства и ведущие международные организации договорились реализовать эти цели к 2015 году.

Одна из целей предусматривала к 2015 г. **остановить и обратить вспять распространение ВИЧ/СПИД** с обеспечением **доступности лечения** ВИЧ-инфекции всем нуждающимся.

В июле 2015 г. в докладе UNAIDS под названием «Как СПИД изменил все» были подведены итоги выполнения программы.

По экспертным оценкам доклада, в 2014/2015 г. в мире насчитывалось 36,9 млн ВИЧ-инфицированных. В течение года от СПИД-ассоциированных заболеваний умерло 1,2 млн человек; отмечено 2 млн новых случаев ВИЧ.

Тем самым были **достигнуты целевые показатели программы**: количество смертельных случаев от СПИД уменьшилось на 41%; ежегодное число новых случаев ВИЧ-инфекции снизилось на 35%.

При этом 15 млн человек получили доступ к антиретровирусной терапии, что во многом объясняет достигнутые результаты.

Выполнение программы позволило избежать 30 млн новых случаев ВИЧ-инфекции и предотвратить до 8 млн смертельных исходов.

В приведенном докладе UNAIDS Генеральный секретарь ООН Пан Ги Мун констатировал: «Во всем мире удалось остановить и обратить вспять эпидемию СПИД. Сейчас мы должны взять на себя обязательство, чтобы покончить с эпидемией СПИД в рамках целей устойчивого развития к 2030 г.»

Данная цель была поставлена на Генеральной Ассамблее ООН в сентябре 2015 г.

Для ее выполнения ВОЗ разработала Глобальную стратегию сектора здравоохранения по ВИЧ на 2016–2021 гг. Успешная реализация стратегии позволит «...ускорить и укрепить меры по борьбе с ВИЧ и таким образом **добиться прекращения эпидемии СПИД**».

Однако на пути ликвидации пандемии по-прежнему остаются существенные трудности.

Большинство ВИЧ-инфицированных – это жители стран с низким уровнем дохода. В странах Африки южнее Сахары (суб-Сахарская Африка) проживают 25,8 млн или 70% всех зараженных. Лишь 41% из них получает антиретровирусную терапию.

Свыше 2 млн инфицированных ВИЧ выявлено в Индии, 575 тыс. – в Китае, 1,7 млн – в Латинской Америке, 2,4 млн – в США, Западной и Центральной Европе.

Напряженная ситуация складывается в регионе Восточной Европы и Азии, где расположены страны СНГ.

Наряду с Ближним Востоком, это единственный регион, где число новых случаев ВИЧ-инфекции в последние годы растет. Всего здесь установлено свыше 1,5 млн ВИЧ-инфицированных, 85% из них – в Российской Федерации и Украине.

В 2016 г. в Украине по оценочным данным проживало около 240 тыс. зараженных ВИЧ, распространенность инфекции – 313,7 случаев на 100 тыс. населения.

В России в настоящее время проживает около 0,9-1 млн ВИЧ-инфицированных, показатель распространенности – до 800 на 100 тыс. населения.

В конце 2015 г. Министерство здравоохранения РФ выразило серьезную обеспокоенность в связи с наличием условий для генерализованной эпидемии ВИЧ-СПИД в Российской Федерации. Это определяется низкой доступностью противовирусного лечения – только 25-30% пациентов с ВИЧ могут получать необходимую антиретровирусную терапию. Без принятия неотложных мер число ВИЧ-инфицированных к 2020 г. возрастет на 250% с выходом эпидемии из-под контроля.

Сложная ситуация по ВИЧ-инфекции продолжает сохраняться и в Республике Беларусь. Количество лиц, живущих с ВИЧ, на 1 марта 2017 г. составило 17605 человек, распространенность инфекции – 185,2 на 100 тыс. населения.

Согласно рекомендациям ВОЗ, для преодоления неблагоприятных тенденций необходимо включить в программу лечения не менее 60-80% ВИЧ-инфицированных при раннем назначении антиретровирусной терапии. Расширение комплекса лечебно-профилактических мероприятий позволяет приблизиться к достижению основной цели – прекращению эпидемии СПИД в период до 2030 г.

X. СЕМЕЙСТВО РАБДОВИРУСОВ (*Rhabdoviridae*). РОД *Lyssavirus* – ВИРУС БЕШЕНСТВА

Семейство *Rhabdoviridae* включает свыше 70 видов вирусов, патогенных для млекопитающих, птиц, рыб, членистоногих, растений.

Среди всех рабдовирусов максимальную опасность для человека представляет **вирус бешенства**. Этот нейротропный вирус необратимо поражает людей и животных с развитием у них летального энцефалита.

Бешенство как заболевание известно с глубокой древности. О нем упоминается еще в Законах из Эшнунны (Месопотамия, XIX век д.н.э.). Принято считать, что бешенство (лат. и англ. – *rabies*) является самым первым заболеванием, отмеченным в письменных источниках человечества. Наименование болезни «*rabies*» восходит к древнеинд. – «*rabhas*», что на санскрите означает «сила, насилие, неистовство».

Описание заболевания неоднократно приводили ученые и врачи античного мира Демокрит, Аристотель, Цельс и Гален; в Средние века – Дж. Фракастори и другие.

Выдающимся успехом в борьбе с бешенством стала разработка первой эффективной антирабической вакцины (Л. Пастер, Э. Ру, Ш. Шамберлен, Л. Тулье; Франция, 1885 г.).

Луи Пастер получил вакцинный штамм вируса после завершения 133 пассажей уличного вируса бешенства через мозговую ткань кроликов. Полученный штамм вызывал у них заболевание с коротким и постоянным (7 дней) инкубационным периодом (*фиксированный вирус* бешенства). При этом вирус утратил патогенность для человека и собак. Первая успешная вакцинация была проведена Л. Пастером мальчику Жозефу Мейстеру, пострадавшему после множественных укусов бешеной собаки.

В 1887 г. В. Бабеш выявил при бешенстве специфические включения в цитоплазме нейронов мозга у пораженных животных; в 1903 г. А. Негри выполнил их детальное описание.

Сам вирус бешенства был выделен П. Ремленже, Э. Риффат-Беем и А. ди Вестеа в 1903 г.

Среди остальных рабдовирусов патогенными для животных и человека могут быть возбудители рода *Vesiculovirus*. Они вызывают зоонозные инфекции, поражающие различные виды домашних животных (лошадей, свиней, крупный рогатый скот). У людей

заболевания, вызванные везикуловирусами, обычно протекают в легкой гриппоподобной форме с высыпаниями на слизистых.

10.1. Классификация рабдовирусов

Семейство *Rhabdoviridae* относится к порядку *Mononegavirales*, в который включены вирусы с одноцепочечной несегментированной РНК негативной полярности.

В семейство входит 11 вирусных родов и более 70 вирусных видов, часть из которых еще точно не классифицирована.

Вирус бешенства (вид *Rabies virus*) принадлежит роду *Lyssavirus*. Установлено 7 генотипов и не менее 5 серотипов вируса бешенства. В сравнении с другими рабдовирусами, представители рода лиссавирусов обладают наименьшей генетической изменчивостью.

10.2. Свойства вируса бешенства

10.2.1. Морфология и ультраструктура вирионов

Вирус бешенства имеет *пулевидную* форму длиной 180 нм и поперечником 75 нм. Вирион окружен внешней липидной оболочкой-*суперкапсидом* (сложный вирус). На поверхности вирионов имеются гликопротеиновые шипы.

Тип симметрии нуклеокапсида – *спиральный*. **Геном** всех рабдовирусов, включая вирус бешенства, представлен *линейной несегментированной* однонитевой отрицательной (–) **РНК**.

Геномная РНК кодирует 5 структурных белков.

Нуклеокапсидные белки **N** (нуклеопротеин), **P** (фосфопротеин) и белок **L** (вирусная *РНК полимераза*) являются внутренними белками вируса. Их основная функция – *репликация* генома и *транскрипция* иРНК.

Эти белки тесно связаны с геномной РНК и совместно с ней образуют рибонуклеопротеиновый комплекс (**РНП**). РНП вируса, в отличие от свободной геномной (–) РНК, обладает *инфекционностью*.

Матриксный белок **M** находится под липидной оболочкой и покрывает вирусный нуклеокапсид; он принимает активное участие в *почковании* вируса.

Суперкапсидный *гликопротеин* **G** образует шипы в липидной оболочке вируса. Он обуславливает процессы рецепторного

взаимодействия и слияния вирусной частицы с чувствительными клетками. Связывание белка *G* с *n*-холинорецепторами нейронов и мышечных клеток является пусковым фактором инфекционного процесса при бешенстве. Данный белок способен также вызывать апоптоз зараженных клеток.

Кроме того, белок *G* играет ведущую роль в развитии иммунных реакций при заболевании. Он стимулирует образование вируснейтрализующих антител. Отличия в структуре данного белка определяют деление вируса бешенства на серотипы.

Между основными серотипами вируса наблюдаются перекрестные иммунологические реакции. С этим связано появление расширенного спектра противовирусных антител после вакцинации, при которой используется вакцинный штамм вируса одного серотипа.

10.2.2. Устойчивость вирионов

Устойчивость рабдовирусов в окружающей среде сравнительно невысока. Вирус бешенства быстро инактивируется под влиянием прямых солнечных лучей, УФ-облучения, высушивания. Под действием температурного фактора гибель вируса наступает через 1 ч при 56°C и через 1 мин при 100°C.

Вирус чувствителен ко многим дезинфектантам (гипохлориту, раствору йода, этанолу, формальдегиду, фенолу, эфиру, детергентам); теряет жизнеспособность при pH<3 или pH>10-11.

Устойчив к низким температурам (длительно выживает при – 20°C).

10.2.3. Культивирование вируса бешенства

Вирус бешенства хорошо размножается в мозговой ткани различных видов животных (мышей, сирийских хомяков, кроликов, овец и др.). У пораженных животных развивается энцефалит и паралич, что приводит к их гибели.

При культивировании вируса используют различные типы клеточных культур. Он хорошо размножается в клеточных линиях мышиной нейробластомы. Также вирус адаптирован к другим перевиваемым культурам клеток (Vero, ВНК и др.), диплоидным и первичным клеточным линиям, куриным эмбрионам. В цитоплазме зараженных клеток выявляются специфические для бешенства ацидофильные включения – тельца Бабеша-Негри. Цитопатического действия вируса на клетки не отмечается.

10.3. Репродукция вируса бешенства

Вирус бешенства посредством белка *G* присоединяется к *никотиновым рецепторам для ацетилхолина* в мембранах нейронов и в нейромышечных соединениях. В клетки он поступает путем *эндоцитоза*. Этому способствует дополнительное взаимодействие вируса с мембранными ганглиозидами и фосфолипидами.

Снижение pH в эндосоме с активацией белка *G* стимулирует *слияние* вируса с мембраной эндосомы. Происходит депротеинизация вириона с выходом РНП-комплекса в цитоплазму.

Репликация вируса бешенства происходит непосредственно в *цитоплазме клеток*.

Под действием вирусной *РНК-полимеразы* (белков *L* и *P*) с матрицы геномной (-) РНК происходит *транскрипция иРНК* для 5 структурных белков вируса. Эти иРНК транслируются на рибосомах с образованием вирусных белков.

В процессе *репликации вирусного генома* РНК-полимераза производит синтез промежуточной цепи (+) РНК, на матрице которой в дальнейшем образуются геномные (-) РНК. В цитоплазме они связываются с белками *N, P* и *L* с образованием нуклеокапсидов.

Нуклеокапсиды взаимодействуют с белком *M* и перемещаются к цитоплазматической мембране клетки, в которую уже встроен белок *G*. В области мембраны происходит окончательная сборка вирионов. Выход вирусного потомства из клеток происходит путем *почкования*.

10.4. Характеристика заболевания и патогенез бешенства

Бешенство – острая зоонозная нейровирусная инфекция, которая возникает после укусов бешеных животных и сопровождается прогрессирующим *поражением ЦНС* с развитием *летального энцефалита*.

Без своевременно проведенных лечебно-профилактических мероприятий **летальность при бешенстве** составляет **100%**.

Вирус поражает всех теплокровных животных, а также человека. Случаи заболевания описаны более чем у 30 видов млекопитающих.

Инфекция регистрируется на всех континентах, за исключением Австралии, Антарктиды и отдельных островных государств (Новая Зеландия).

Вирусы бешенства генотипа 1 (серотип 1) являются основными возбудителями болезни. В природе они распространены повсеместно среди плотоядных животных и различных видов летучих мышей. К данному генотипу относятся вирусы классического бешенства (*уличные* или «дикие» штаммы вируса), а также *фиксированные* (вакцинные) штаммы.

Естественными хозяевами для вирусов бешенства других генотипов являются летучие мыши, хотя ряд из них может выделяться от разных видов животных и человека.

В мире от бешенства ежегодно погибает свыше 50 тыс. человек, преимущественно в Азии. До 50% смертельных случаев составляют дети и подростки в возрасте до 15 лет. Вакцинацию от бешенства ежегодно получают свыше 15 млн человек.

Республика Беларусь относится к *энзоотичным странам* по бешенству животных. На ее территории происходит длительная эпизоотия бешенства в природных очагах.

Среди диких животных бешенство распространено во всех областях Республики Беларусь. Преобладающие хозяева вируса в природе – лисы и енотовидные собаки. Вследствие проводимых профилактических мероприятий эпидемиологическая ситуация по бешенству в Республике Беларусь постепенно улучшается. Если в 2011 г. было зарегистрировано более 1300 случаев бешенства среди животных, то в 2013 г. – 453 случая и в 2014 г. – 354 случая. Однако за 8 месяцев 2015 г. уже зарегистрировано 326 случаев бешенства животных.

В 2011 г. от бешенства погибли 2 человека; в 2013-2015 гг. случаев бешенства среди людей в Республике Беларусь зарегистрировано не было.

Источником инфекции при бешенстве являются различные виды плотоядных **животных** и летучих мышей. Вид источника соответствует географической локализацией инфекции (лисы, собаки, волки, песцы, куницы, койоты, скунсы, коты, кровососущие летучие мыши-вампиры и др.)

В Республике Беларусь основными источниками бешенства среди животных являются лисы (более 70% случаев), енотовидные собаки (более 20%), другие дикие животные (куница, рысь и др.) – до 5%, волки – до 1-2%.

Механизм передачи – **контактный** через слюну больного животного при укусе. Передача вируса также происходит при ослюнении животными покровных тканей в случае нарушения их

целостности (ссадины, царапины). При неповрежденных кожных покровах риск подобного инфицирования отсутствует.

Возможна *ятрогенная инфекция* человека при трансплантации зараженных органов и тканей.

Инкубационный период заболевания длительный и *зависит от локализации укуса и дозы поступившего в ткани вируса*. При укусах в лицо, голову, шею, верхние конечности наблюдается наиболее короткий инкубационный период (**7-10 дней**).

При наиболее распространенных укусах в нижние конечности средний инкубационный период для бешенства составляет **1-3 месяца**. Иногда он может превысить 1-2 года. Зарегистрированы случаи бешенства с инкубационным периодом 10, 13 и даже 19,5 лет. В связи с этим бешенство относят к *медленным вирусным инфекциям*.

Проникая в ткани после укуса, вирус через суперкапсидный белок *G* связывается с *н-ацетилхолиновыми рецепторами* мембран нейронов и нейромышечных соединений. Возможны два патогенетических варианта инфекции. При одном из них вирус внедряется в мышечные клетки и *размножается локально* в месте укуса. В этом случае он может длительно находиться в мышечной ткани (до 2 месяцев). При другом варианте вирус связывается с транспортными белками в аксоплазме периферических нервов (динеином, нейротропином) и по аксонам *ретроградно транспортируется в ЦНС* к телам нейронов спинного и головного мозга. Скорость ретроаксонального транспорта здесь составляет 50-100 мм/сутки, что сокращает инкубационный период.

После поступления в ЦНС вирус активно размножается в спинном мозге, нейронах ствола головного мозга, гиппокампе, подкорковых ганглиях, таламусе, мозжечке. Вновь образованные вирусы *центробежно распространяются* по всему организму с поражением скелетных мышц, сердца, сосудов, слюнных желез, сетчатки глаза, всех внутренних органов.

Продромальный период болезни длится несколько дней. Появляются головная боль, рвота, нарастает лихорадка, возникают нарушения чувствительности у входных ворот инфекции.

В разгар заболевания отмечаются две основные формы клинических проявлений бешенства – буйная и паралитическая.

При буйной форме доминируют симптомы двигательного и психического возбуждения. У пациентов возникает чувство страха, появляются судороги глотательных и дыхательных мышц при виде воды (гидрофобия); приступы повторяются под влиянием яркого

света (фотофобия), громкого звука (акустикофобия), действия потока воздуха (аэрофобия). Нарастает агрессивность, буйство, усиливается пото- и слюноотделение (гиперсаливация). Лихорадка достигает критических значений (свыше 41-42°C). Инфекция завершается летально через 2-8 суток.

При паралитической форме исходно наблюдается локальный паралич, затрагивающий пораженную конечность. Прогрессирование болезни приводит к генерализованным параличам. Смерть пациентов наступает в период до 30 дней от начала клинических проявлений.

10.5. Лабораторная диагностика бешенства

Так как вирус бешенства относится к возбудителям III группы риска, работа с ним должна проводиться с соблюдением соответствующих мер биобезопасности в специализированных лабораториях.

Окончательный диагноз бешенства может быть установлен только с помощью методов лабораторной диагностики с идентификацией вируса.

Для подтверждения диагноза используют лабораторные методы *посмертной* (постмортальной) и *прижизненной* диагностики бешенства.

Постмортальная диагностика бешенства обладает высокой чувствительностью и специфичностью.

Материалом для исследования являются *биоптаты мозговой ткани*; также исследуют биоптаты кожи заднего отдела шеи (затылок), содержащие луковицы волос с нервными окончаниями (фолликулы).

Наиболее широко используется *выявление АГ вируса бешенства* в ткани мозга методом ***иммунной флюоресценции*** («золотой стандарт» диагностики).

Методика *световой микроскопии с выявлением телец Бабеша-Негри* в цитоплазме пораженных нейронов уступает по диагностической точности иммунной флюоресценции.

Для обнаружения вирусных АГ в тканях также используется ***ИФА***; вирусной РНК – ***ОТ-ПЦР***.

Для подтверждения результатов, полученных на первом этапе, применяется ***выделение и идентификация вируса на культуре***

клеток или его культивирование в организме лабораторных животных (**биопроба** на мышах с заражением в ткани мозга).

На культурах клеток вирус бешенства может быть установлен уже в течение 1-2 дней с применением РИФ, ИФА или ПЦР.

Наблюдение за лабораторными животными должно продолжаться до 30 дней с последующим исследованием их мозговой ткани. При заражении новорожденных мышей-сосунков вирус может быть идентифицирован уже на 3-4 сутки при помощи РИФ.

Прижизненная лабораторная диагностика бешенства применяется при атипичных случаях заболевания у людей; также она необходима для прижизненного выявления бешенства у животных с целью своевременного назначения антирабических прививок пострадавшим лицам.

В качестве **материала** используют биоптаты тканей из области укусов; волосяные фолликулы кожи заднего отдела шеи; буккальный эпителий, отпечатки роговицы; для определения РНК вируса дополнительно исследуют ликвор и слюну.

АГ вируса выявляют в **реакции иммунной флюоресценции**; вирусную РНК обнаруживают **методом ПЦР**. Слюна, слезная жидкость и ликвор применяются для **интрацеребрального заражения лабораторных животных** (мышей, кроликов) или для культивирования вируса в культуре клеток.

Для **серодиагностики** возможно использование **ИФА** и других реакций с обнаружением противовирусных АТ в сыворотке пациентов или их ликворе (на поздних сроках заболевания).

Однако в большинстве случаев серодиагностику применяют для оценки уровня иммунитета при проведении вакцинации.

10.6. Профилактика и лечение бешенства

Бешенство является смертельным заболеванием, поэтому только своевременно проведенные лечебно-профилактические мероприятия (**«постэкспозиционная профилактика»**) предупреждают наступление летального исхода у пострадавших. Ежегодно за антирабической помощью в Республике Беларусь обращается до 20 тыс. человек, более половины из них вакцинируются.

Объем медицинских мероприятий напрямую зависит от вида контакта с животным-источником инфекции.

Контакт 1-й категории подразумевает попадание биологических жидкостей и выделений животного на неповрежденную кожу. Поскольку передачи вируса бешенства в таких случаях не происходит, данная категория лиц не нуждается в проведении профилактических мероприятий.

При *контакте 2-й категории* (минимальные повреждения или царапины на коже без крови, сдавливание открытых мест на коже) немедленно начинается курс вакцинации и проводится локальная медицинская обработка места повреждения (места *экспозиции*).

Внешне здоровые домашние животные должны быть изолированы; за ними устанавливается наблюдение в течение 10 дней. Если в этот срок заболевания у животных не возникает, курс вакцинации прекращается.

При *контакте 3-й категории* (трансдермальные укусы или царапины с появлением крови, контакт слизистых или поврежденных кожных покровов со слюной животного, контакт с летучими мышами) проводится обработка места повреждения, выполняется немедленная вакцинация и введение антирабического иммуноглобулина.

У лиц с выраженными нарушениями иммунитета (ВИЧ-инфицированные; пациенты, находящиеся на иммуносупрессивной терапии и др.) контакты 2-й категории приравниваются к контактам 3-й категории.

Качественная и своевременная обработка места повреждения существенно уменьшает количество жизнеспособных вирусов и тем самым снижает вероятность развития бешенства. Она включает длительное (не менее 15 минут) промывание раны с мылом или другим детергентом, воздействие антисептиками (этанол или йод), эффективную первичную хирургическую обработку ран.

Для **вакцинации людей** в настоящее время используются только **инактивированные вакцины** на основе различных фиксированных штаммов вируса бешенства (PV-11, РМ, Внуково-32 и др.) Вакцинные штаммы получают на культурах клеток, куриных или утиных эмбрионах.

Вакцина вводится 5-6-кратно внутримышечно в дельтовидную мышцу, *начиная со дня обращения* за медицинской помощью. После проведения курса вакцинации сохраняется длительный иммунитет. Поствакцинальные осложнения встречаются редко и обычно имеют местный характер.

Для лиц с высоким риском контакта с бешеными животными (сотрудники ветеринарной службы, работники, участвующие в отлове и содержании безнадзорных животных, лесники, охотники и др.) проводится профилактическое назначение антирабической вакцины.

Для иммунизации животных используют живые аттенуированные вакцины, инактивированные вакцины, а также генно-инженерную вакцину.

При контакте 3-й категории обязательным является немедленное **введение антирабического иммуноглобулина**. Он назначается однократно одновременно с проведением 1-й вакцинации. Наиболее эффективным является *местное введение препарата* (инфильтрация тканей в глубине и вокруг ран).

Для иммунизации используются *антирабические иммуноглобулины лошадиного и человеческого происхождения*. Также для лечения бешенства разрабатываются различные виды гуманизированных моноклональных противовирусных АТ.

Предпринимались неоднократные попытки медикаментозного лечения и профилактики бешенства. Для некоторых препаратов установлена их антирабическая активность, по крайней мере, в условиях *in vitro* (например, рифампицин).

В 2004 г. в США была предпринята первая успешная попытка лечения бешенства, развившегося у пациентки после укуса летучей мыши; при этом антирабическая вакцинация проведена не была. Седативными и противосудорожными препаратами пациентка была введена в искусственную кому с одновременным назначением противовирусных средств (рибавирин, амантадин). По окончании лечения и длительной многомесячной реабилитации пострадавшей подтверждено ее выздоровление с элиминацией вируса бешенства из организма. По месту выполнения данная схема лечения получила название Милуокский (или Висконсинский) протокол. Однако дальнейшие результаты применения этой схемы лечения являются весьма противоречивыми. Зарегистрировано 5 случаев выздоровления при лечении 43 человек. В целом разработка эффективной медикаментозной терапии бешенства остается делом будущего.

Профилактика распространения бешенства в Республике Беларусь осуществляется согласно Комплексному плану мероприятий по профилактике бешенства, разработанному на период 2012-2016 гг.

Данный план включает организацию эффективной и доступной антирабической помощи; санитарно-просветительную работу среди населения; выполнение массовой профилактической вакцинации

домашних животных и вынужденной вакцинации сельскохозяйственных животных; регуляцию численности безнадзорных домашних и диких плотоядных животных; проведение массовой оральной иммунизации диких плотоядных животных, в том числе с применением авиатехники, с распространением съедобных приманок, содержащих вакцину, в природных очагах.

Выполнение всех мероприятий плана позволяет существенно снизить заболеваемость бешенством среди животных и тем самым предотвратить заражение людей.

XI. АРБОВИРУСНЫЕ И РОБОВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ. СЕМЕЙСТВО АРЕНАВИРУСОВ (*Arenaviridae*)

Большинство из **зоонозных вирусов**, которые могут поражать человека, относятся к двум основным **экологическим группам** – **арбовирусы** и **робовирусы**.

Арбовирусы (от англ. «*arthropod-borne viruses*» – «вирусы, порожденные членистоногими») – это обширная **экологическая группа**, объединяющая вирусов с трансмиссивным механизмом передачи инфекции человеку и животным при помощи переносчиков – членистоногих.

Соответственно, **робовирусы** (от англ. «*rodent-borne viruses*» – «вирусы, порожденные грызунами») – экологическая группа зоонозных вирусов, передающихся человеку от грызунов.

Представители арбо- и робовирусов распределены по нескольким вирусным семействам: *Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Togaviridae*, *Filoviridae*, *Flaviviridae*. Многие из них вызывают крайне тяжелые заболевания у человека (вирусные геморрагические лихорадки, вирусные энцефалиты), которые относятся к **особо опасным инфекциям**.

Зоонозные вирусы из семейства *Arenaviridae* являются возбудителями наиболее тяжелых форм **геморрагических лихорадок**, поражающих людей в эндемичных районах Африки и Латинской Америки. Данная группа болезней включает лихорадку Ласса, Мачупо, Хунин, Гуанарито, Луйо и некоторые другие инфекции с высокой летальностью (от 20 до 60%). Отдельные виды аренавирусов могут вызывать у человека патологию ЦНС (в частности, вирус лимфоцитарного хориоменингита – ЛХМ).

Первый представитель семейства *Arenaviridae* – вирус ЛХМ – был выделен из ликвора пациента Р. Лилли и Ч. Армстронгом в 1933 г. в США.

Вирус лихорадки Ласса выделен и изучен Дж. Фреймом в Нигерии в 1969 г., аргентинской геморрагической лихорадки (вирус Хунин) – А. Пароди в 1958 г., боливийской геморрагической лихорадки (вирус Мачупо) – К. Джонсоном в 1963 г., венесуэльской геморрагической лихорадки (вирус Гуанарито) – Р. Салас в 1991 г., вирус геморрагической лихорадки Луйо – Я. Липкиным в 2008 г. в Замбии и Южной Африке.

11.1. Классификация патогенных аренавирусов

Патогенные для млекопитающих вирусы семейства *Arenaviridae* относятся к роду *Mammarenavirus*, который объединяет 27 вирусных видов.

Наибольшую опасность для человека представляют виды, включающие **возбудителей геморрагических лихорадок** (вирусы лихорадки Ласса, Мачупо, Хунин, Гуанарито, Луйо и др.). Помимо данных патогенов, инфекции у человека может вызывать *вирус лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ)*.

Название *Arenavirus* происходит от лат. *arena* – «песок» из-за характерных гранулярных включений клеточных рибосом, наблюдаемых в оболочке вирусов методом электронной микроскопии.

11.2. Свойства аренавирусов

11.2.1. Морфология и ультраструктура

Аренавирусы имеют сферическую форму с диаметром вирионов от 50 до 300 нм. Для вирусных частиц характерен полиморфизм. Их капсид окружен наружной липидной оболочкой. Вирионы не проявляют гемагглютинирующей активности.

Геном аренавирусов представлен **двумя сегментами односторонней амбиополярной (–) РНК**.

Амбиополярность РНК аренавирусов означает, что синтез вирусных компонентов (иРНК и белков) выполняется как на матрице самой геномной РНК, так и на основе комплементарной ей цепи **антигеномной РНК**, образующейся в ходе репликации.

Каждый из двух сегментов геномной РНК определяет синтез двух вирусных белков.

Большой (или *large*) L-сегмент генома кодирует **вирусную РНК-полимеразу (L-белок)** и **матриксный белок Z**.

Малый (или *small*) S-сегмент кодирует **нуклеопротеин NP** и **гликопротеин GP**.

Гликопротеин GP в дальнейшем подвергается протеолизу с образованием двух субъединиц – **GP1 (рецепторный белок)** и **GP2 (белок слияния)**.

Структурные белки вирусов обладают антигенными свойствами.

Нуклеопротеин *NP* и вирусный белок *Z* подавляют синтез интерферона в зараженных клетках, способствуя генерализации инфекции.

11.2.2. Устойчивость вирионов

Вне организма аренавирусы сохраняют жизнеспособность от 15-30 мин до нескольких часов; их выживаемость увеличивается при низкой влажности окружающей среды.

Вирусы чувствительны к ультрафиолету и нагреванию – при 60°C инактивируются в течение 30-60 минут.

Быстро теряют активность под влиянием всех основных дезинфектантов (гипохлорита, формальдегида, этанола, детергентов и др.)

11.2.3. Культивирование аренавирусов

Культивирование аренавирусов – возбудителей геморрагических лихорадок – проводится только в специализированных лабораториях с максимальным уровнем биологической защиты (работа с возбудителями IV группы риска). В частности, вирус лихорадки Ласса хорошо размножается в перевиваемых клеточных культурах (клетки Vero и др.), а также в организме лабораторных животных (морских свинок, обезьян).

11.3. Репродукция аренавирусов

Аренавирусы посредством белка *GP1* связываются с рецепторами, присутствующими на многих типах клеток. Среди них установлен белок *дистрогликан*, соединяющий клетки с внеклеточным матриксом, а также рецептор к трансферрину.

Возбудители проникают в клетки путем *эндоцитоза*. Закисление содержимого эндосомы с активацией белка слияния *GP2* ведет к *депротеинизации* и выходу компонентов вируса из эндосомы в цитоплазму.

Репродукция аренавирусов происходит в *цитоплазме* зараженных клеток.

Порядок синтеза компонентов вируса (иРНК и белков) определяется *амбиполярностью* геномной РНК аренавирусов.

Первоначально на матрице обоих сегментов геномной РНК происходит синтез иРНК для белков *NP* и *L* (вирусная РНК-

полимераза). Эти иРНК транслируются на рибосомах с образованием данных белков.

Затем вирусная РНК-полимераза по матрице геномной РНК синтезирует комплементарную полную цепь новой РНК (*антигеном*). Данная цепь используется как матрица для транскрипции и трансляции двух других вирусных белков (гликопротеина *GP* и белка *Z*). Под действием клеточных протеаз из гликопротеина *GP* образуются субъединицы *GP1* и *GP2*.

Сборка вируса происходит на внутренней стороне цитоплазматической мембраны клетки с активным участием *матриксного белка Z*. Иногда в состав вирусных частиц могут включаться рибосомы клеток.

Выход вируса из клетки осуществляется путем *почкования*.

11.4. Характеристика аренавирусных инфекций

11.4.1. Аренавирусные геморрагические лихорадки

Аренавирусные возбудители подразделяются на две большие группы – вирусы Старого и Нового Света.

К группе вирусов Старого Света, вызывающих геморрагические лихорадки, относится вирус *лихорадки Ласса* и вирус *Южно-Африканской геморрагической лихорадки Луйо*.

К группе вирусов Нового Света относятся возбудитель *аргентинской геморрагической лихорадки* вирус Хунин, *боливийской геморрагической лихорадки* вирус Мачупо, *венесуэльской геморрагической лихорадки* вирус Гуанарито, *бразильской геморрагической лихорадки* вирус Сабиа.

Геморрагические лихорадки представляют собой *особо опасные вирусные инфекции*, для которых характерна контагиозность и крайне высокая летальность (при отдельных вспышках – свыше 50%). Вследствие этого, возбудители геморрагических лихорадок могут стать потенциальным средством биотерроризма и биологическим оружием.

Аренавирусные геморрагические лихорадки относятся к *робовирусным зоонозным инфекциям* – источником инфекции являются различные виды грызунов. Ареал обитания грызунов определяет *эндемичность* данных заболеваний.

Лихорадка Ласса является одной из наиболее тяжелых инфекций, входящих в группу аренавирусных геморрагических лихорадок.

Ежегодно в эндемичных районах Западной Африки (Нигерия, Либерия, Гвинея и др. странах) регистрируется до 300 тыс. случаев лихорадки Ласса, приводящей к гибели от 5 до 10 тыс. человек.

Источником инфекции является местный вид **грызунов** (*Mastomys natalensis* или многососковая крыса). Грызуны выделяют вирусов с мочой и фекалиями.

Пути передачи: контактно-бытовой через поврежденную кожу и слизистые (при контакте с предметами, контаминированными выделениями грызунов), *алиментарный, воздушно-пылевой* (при употреблении инфицированных пищевых продуктов, вдыхании зараженной пыли и т.д.) При массовых вспышках вирус может передаваться от человека к человеку через предметы обихода, медицинские инструменты.

Инфицирующая доза для лихорадки Ласса (как и для всех вирусных геморрагических лихорадок) **ничтожно мала** и оценивается в 1-10 вирусных частиц при аэрозольном заражении.

Инкубационный период – от 1 до 3 недель.

Несмотря на высокую патогенность вируса, до 80% инфекций протекают в стертой или бессимптомной форме. Это определяется способностью системы иммунитета контролировать инфекционный процесс.

Вирусная репликация может происходить в различных органах и тканях, однако ранними *мишенями* для вирусов-возбудителей геморрагических лихорадок являются **клетки врожденного иммунитета** – *макрофаги и дендритные клетки*. При этом вирусы размножаются в регионарных лимфатических узлах. Далее они проникают в кровь; уровень *виремии* определяет тяжесть заболевания.

Основным механизмом, создающим условия для генерализации вирусной инфекции, является *способность аренавирусов подавлять реакции клеточного и гуморального противовирусного иммунитета*.

Вирусный белок NP и матриксный белок Z *угнетают синтез клетками интерферонов I типа*. Дополнительно белок Z подавляет активацию макрофагов и дендритных клеток. При этом нарушается презентация вирусных антигенов и резко падает синтез провоспалительных цитокинов. Угнетается противовирусная активность Т-лимфоцитов.

В отсутствие иммунологического контроля возбудители распространяются по всем органам и тканям. Вирусы поражают *эндотелий* сосудов с расстройством микроциркуляции.

Заболевание начинается с лихорадки, язвенного фарингита, кашля; в дальнейшем появляется рвота, развивается *геморрагический синдром* с кровоточивостью слизистых и ***синдром полиорганной недостаточности*** – тяжелый гепатит, миокардит, пневмония, поражение почек, энцефалит, инфекционно-токсический шок.

Уровень летальности для госпитализированных пациентов составляет 15-20%, среди беременных пациенток летальность достигает 80% и более. Частым осложнением лихорадки Ласса является глухота.

Выздоровление при лихорадке Ласса протекает медленно, вирус выделяется из организма в течение 1-3 месяцев.

Другие виды аренавирусных геморрагических лихорадок имеют во многом сходные особенности патогенеза и клинических проявлений инфекции.

11.4.2. Лимфоцитарный хориоменингит

Ареновирусный лимфоцитарный хориоменингит (ЛХМ) может составлять до 5-8% от общего числа вирусных менингитов. По результатам серологических исследований, вирусом ЛХМ инфицируется 5-10% всего населения. Большинство случаев ЛХМ протекает бессимптомно или в стертой форме.

Источником и резервуаром возбудителей являются домашние мыши (*Mus musculus*), что обуславливает повсеместное распространение инфекции. Иногда заболевание может передаваться от хомяков.

Пути передачи – аэрозольный, контактный, алиментарный. У инфицированных беременных вирус может заражать плод (вертикальная передача инфекции). Отмечены фатальные случаи заболевания ЛХМ после трансплантации органов.

Инкубационный период при манифестных формах инфекции – 1-2 недели.

Наиболее часто заболевание проявляется в *гриппоподобной форме*. У пациентов возникает лихорадка, головная боль, боли в мышцах и суставах. Во второй фазе инфекции могут наблюдаться менингеальные симптомы. Отмечается лимфоидная инфильтрация мозговых оболочек и сосудистых сплетений ЦНС. Течение болезни обычно благоприятное и завершается выздоровлением пациентов через 1-3 недели.

В ряде случаев, особенно у лиц со сниженным иммунитетом, возникает менингоэнцефалитическая форма инфекции с более

тяжелым течением. Тем не менее, прогноз заболевания остается благоприятным. Летальные исходы исключительно редки.

Точное количество врожденного ЛХМ с поражением плода у беременных остается неустановленным. В мире единичные случаи данной патологии регистрируются ежегодно, начиная с 1955 г. Для инфекции характерно увеличение частоты спонтанных аборт и преждевременных родов.

Вirus ЛХМ проявляет выраженный тератогенный эффект в отношении ЦНС плода. Летальность при врожденном ЛХМ достигает 30%. В остальных случаях у новорожденных развиваются стойкие неврологические и офтальмологические нарушения.

11.5. Лабораторная диагностика аренавирусных инфекций

Так как аренавирусные геморрагические лихорадки относятся к особо опасным инфекциям, то все этапы исследований должны проводиться в специализированных лабораториях с максимальным уровнем биологической защиты (работа с возбудителями IV группы риска).

В качестве **материала для исследования** при аренавирусных инфекциях используют кровь, мочу, ликвор, мокроту, носоглоточный смыв, аутопсийный материал, выделения грызунов.

Для обнаружения антигенов вирусов непосредственно в клинических образцах применяют **РИФ, ИФА**. Основным **молекулярно-генетическим методом** для идентификации аренавирусов является **ОТ-ПЦР**. С ее помощью определяют наличие **вирусной РНК** в материале.

При **вирусологическом методе исследования** проводят выделение аренавирусов на **культуре клеток** (Vero и других). Для их идентификации применяют ИФА и ОТ-ПЦР.

Культивирование вирусов возможно также в организме лабораторных животных (морских свинок, хомячков, обезьян).

Для **серодиагностики** применяют **ИФА** с обнаружением противовирусных АТ класса IgM в сыворотках пациентов.

11.6. Лечение и профилактика аренавирусных инфекций

Эффективным препаратом для *лечения* геморрагических аренавирусных лихорадок является ***рибавирин***. Ранний курс терапии рибавирином, проведенный в течение первой недели заболевания, значительно снижает летальность при данных инфекциях. Рибавирин может назначаться также при тяжелом течении лимфоцитарного хориоменингита.

В отдельных случаях для лечения используют сыворотки реконвалесцентов, содержащие высокие титры специфических противовирусных АТ. В остальном проводится интенсивное патогенетическое и симптоматическое лечение (дезинтоксикационная терапия с поддержанием нормальной деятельности сердечно-сосудистой и дыхательной систем).

Основные меры *профилактики* аренавирусных геморрагических лихорадок остаются *неспецифическими*. Они включают изоляцию заболевших, выявление контактных лиц, применение средств индивидуальной защиты медперсонала, карантинные мероприятия, проведение дезинфекции в очагах, эрадикацию грызунов в жилищах и др.

В настоящее время ведется активная разработка различных видов вакцин для *специфической профилактики* данных инфекций. В медицинской практике уже используется эффективная живая аттенуированная вакцина против аргентинской геморрагической лихорадки, вызванной вирусом Хунин.

ХII. СЕМЕЙСТВО ФИЛОВИРУСОВ (*Filoviridae*)

Наряду с аренавирусами, представители семейства *Filoviridae* вызывают тяжелые **геморрагические лихорадки**, которые сопровождаются крайне высокой летальностью (до 50-90%).

Филовирусные геморрагические лихорадки эндемичны для ряда стран Западной и Экваториальной Африки. В природе они поражают приматов и некоторые виды парнокопытных животных (свиней, антилоп).

Первая зарегистрированная вспышка таких инфекций произошла в 1967 г. среди персонала вирусологических лабораторий в Югославии (Белград) и Германии (Франкфурт, Марбург). Сотрудники лабораторий заразились при получении культур клеток из почек зеленых мартышек, завезенных из Уганды. Заболел 31 человек, 7 пострадавших погибли. Первое выделение вируса было проведено Р. Зигертом с соавт. в лаборатории г. Марбург. Соответственно, инфекция получила название геморрагической лихорадки Марбург.

Особая опасность данного вируса послужила стимулом к организации вирусологических лабораторий с максимальным уровнем биологической защиты для работы с подобными возбудителями.

Впоследствии ограниченные вспышки лихорадки Марбург отмечались в Африке неоднократно. Последняя из них состоялась в Уганде в 2014 г.

В 1976 г. в Судане и Заире практически одновременно произошли 2 новые вспышки геморрагической лихорадки. Пострадало более 600 человек, 430 из них умерли. Вспышка в Заире началась с деревни Ямбуку, расположенной в местности реки Эбола.

Первоначально предполагалось, что причиной вспышки явился вирус Марбург. Однако после выделения возбудителя оказалось, что установлен новый вид филовируса (С. Паттин с соавт., Бельгия; К. Джонсон с соавт., США; 1976 г.). По месту своего обнаружения возбудитель получил название вирус Эбола (эболавирус). В дальнейшем были открыты 5 отдельных видов эболавирусов.

В декабре 2013 г. в Гвинее возникла новая эпидемия лихорадки Эбола, которая быстро распространилась на соседние страны и вышла за пределы региона. С учетом сложившейся ситуации в августе 2014 г. ВОЗ объявила болезнь вируса Эбола международной угрозой

общественному здоровью. Ценой больших усилий справиться с эпидемией удалось только к 2016 г.

12.1. Классификация филовирусов

Семейство *Filoviridae* относится к порядку *Mononegavirales*. В состав семейства входит 3 рода, 2 из которых содержат патогенных для человека представителей.

Род *Marburgvirus* включает единственный одноименный вид – вирус Марбург.

Род *Ebolavirus* объединяет 5 видов: эболавирусы Судан, Заир, Бундибугио, Рестон, эболавирус леса Тай.

Наиболее патогенным для человека является вирус Заир; вирус Рестон заболеваний у людей не вызывает.

12.2. Свойства филовирусов

12.2.1. Морфология и ультраструктура вирионов

Вирионы филовирусов (от лат. *filum* – нить) представляют собой длинные закрученные нитевидные образования шириной около 80 нм и средней длиной 800 нм (могут быть в пределах от 600 до >1000 нм).

Геном представлен *линейной несегментированной однонитевой отрицательной (–) РНК*. Тип симметрии вируса – *спиральный*.

Различия в последовательности геномной РНК вирусов Марбург и Эбола превышают 50%.

Вдоль оси вириона располагается нуклеокапсид, состоящий из геномной РНК и 4 вирусных белков, один из которых – вирусный фермент *РНК полимераза L*.

Вирионы обладают наружной липидной оболочкой-*суперкапсидом* (сложные вирусы). На поверхности суперкапсида имеются гликопротеиновые рецепторы (*белки GP*). Белок GP состоит из субъединиц GP1 и GP2.

В ходе репродукции вирусов основная часть белка GP (до 80%) синтезируется в растворимой форме (секретируемый белок *sGP*).

Матриксные белки VP24 и VP40 располагаются под липидной оболочкой и покрывают нуклеокапсид вируса;

12.2.2. Устойчивость вирионов

Филовирусы умеренно устойчивы в окружающей среде. Находясь вне организма, они прогрессивно инактивируются, особенно при действии солнечного света и УФ-излучения. В составе капель аэрозоля при комнатной температуре они остаются жизнеспособными по крайней мере в течение 1,5-2 часов, в высохшем состоянии – в течение нескольких дней.

Возбудители сохраняют инфекционность при пониженной температуре. При высыхании инфицированных пятен крови на поверхности стекла или пластика при 4°C жизнеспособные филовирусы обнаруживаются в течение 3-4 недель.

Быстро инактивируются при нагревании: через 30-60 мин при 60°C и в течение 5 минут – при кипячении.

Чувствительны к большинству дезинфектантов (хлорсодержащим соединениям, глутаровому альдегиду, спиртам, органическим кислотам).

Согласно рекомендациям ВОЗ, дезинфекция поверхностей, контаминированных вирусами, должна проводиться 5,25% хлорной известью (гипохлоритом натрия) в разведении 1/10 в течение 10 минут.

12.2.3. Культивирование филовирусов

Культивирование филовирусных возбудителей геморрагических лихорадок проводится только в специализированных лабораториях с максимальным уровнем биологической защиты (работа с возбудителями IV группы риска). Вирусы лихорадки Эбола и Марбург хорошо размножаются в перевиваемых клеточных культурах (клетки почек зеленых марышек, клетки Vero и др.), а также в организме лабораторных животных (морских свинок, хомяков, мышей, обезьян).

12.3. Репродукция филовирусов

Основными мишенями для филовирусов являются все *клетки моноцитарно-макрофагального ряда, дендритные клетки, эндотелий*, клетки надпочечников, гепатоциты.

Посредством белка *GP* вирусы связываются с многочисленными клеточными рецепторами – мембранными *лектинами*, транспортным белком холестерина, рецептором Т-хелперов *ТІМ-1*.

Проникновение в клетки осуществляется путем *эндоцитоза*. Закисление содержимого эндосомы приводит к *депротеинизации* и выходу компонентов вируса из эндосомы в цитоплазму.

Репродукция филовирусов происходит в *цитоплазме* зараженных клеток. Вирусный геном содержит 7 открытых рамок чтения для синтеза вирусных белков.

Первоначально на матрице геномной (–) РНК происходит синтез иРНК, которые затем транслируются на рибосомах с образованием вирусных белков. Первичные вирусные белки подвергаются посттрансляционной модификации и процессингу клеточными ферментами (гликозидазами, протеазами).

Репликация новых геномных (–) РНК выполняется вирусной РНК-полимеразой при участии нуклеокапсидных белков. Синтез происходит через стадию комплементарной (+) цепи РНК, с матрицы которой в дальнейшем образуются новые копии геномной (–) РНК.

Сборка вирусных частиц производится на внутренней стороне цитоплазматической мембраны клетки.

Выход вновь образованных вирионов осуществляется путем *почкования* с приобретением липидного суперкапсида.

Для филовирусов характерна высокая скорость репродукции. Массовый выход вирусных частиц завершается гибелью зараженной клетки.

12.4. Характеристика филовирусных болезней Эбола и Марбург

Вирусные болезни Эбола и Марбург принадлежат к наиболее тяжелым ***особо опасным зоонозным инфекциям***. Их возбудителей относят к IV группе риска, которая объединяет микроорганизмы с наивысшей индивидуальной и общественной опасностью. Наряду с другими представителями IV группы, вирусы геморрагических лихорадок Эбола и Марбург могут явиться потенциальным средством биотерроризма и биологическим оружием.

С момента обнаружения первых случаев *лихорадки Марбург* (1967 г.) в мире зарегистрировано более 10 вспышек данной инфекции. Подавляющее большинство из них произошло в странах Центральной Африки (Кения, Уганда, Ангола). Временной интервал между вспышками постепенно сокращается, а количество пострадавших растет. С 2004 г. отмечено 5 вспышек вирусной

болезни Марбург. Наиболее тяжело протекала вспышка в Анголе в 2004-2005 гг. Общее число заболевших превысило 250 человек, 227 из них погибли (летальность – 90%).

Геморрагическая лихорадка Эбола (*вирусная болезнь Эбола*) оказалась сравнимой по своему разрушительному действию с лихорадкой Марбург. С 1976 по 2013 гг. в Западной Африке отмечались неоднократные вспышки данного заболевания, от которых пострадало до 2400 человек, 1590 из них погибли.

В декабре 2013 г. в Гвинее, Либерии и Сьерра-Леоне началась новая масштабная эпидемия лихорадки Эбола. Инфекцию длительное время не удавалось взять под контроль, болезнь распространилась на другие страны Африки (Нигерия, Мали, Сенегал), завозные случаи заболевания наблюдались в Европе и США. Высокая контагиозность возбудителя и значительные трудности в организации лечебных и санитарно-профилактических мероприятий способствовали поддержанию эпидемии. Отмечался высокий уровень заболеваемости и летальности среди медицинского персонала, оказывающего помощь пострадавшим (до 10% случаев). Согласно решению ВОЗ, инфекция получила статус глобальной эпидемической угрозы.

Всего за время эпидемии (по данным ВОЗ на 17 января 2016 г.) заболело 28638 человек, 11316 из них умерли (летальность составила 39,5%).

Ценой больших совместных усилий национальным правительствам и международным организациям удалось справиться с распространением инфекции. К концу 2015 г. страны Западной Африки объявили о прекращении эпидемии на своей территории. Однако в начале 2016 г. в Сьерра-Леоне, а затем в Гвинее и Либерии было зарегистрировано несколько новых случаев болезни Эбола. В итоге окончательное завершение эпидемии было объявлено ВОЗ в июне 2016 г.

Источником инфекции при лихорадке Эбола являются **больные люди и животные** (приматы, свиньи, некоторые виды антилоп). Предполагается, что природным резервуаром эболавирусов являются плодоядные летучие мыши.

Основной *механизм передачи* – **контактный** с проникновением вирусов через **поврежденную кожу и слизистые** в условиях прямого или непрямого контакта с инфицированными выделениями животных и человека.

Высокий риск передачи отмечается при уходе за пациентами в отсутствие или при неправильном использовании средств

индивидуальной защиты, а также проведении погребальных обрядов при захоронении умерших.

Также передача вируса возможна при употреблении зараженного мяса диких животных.

Высокая концентрация вируса наблюдается в *крови*. В достаточной для инфекции дозе он может также находиться в фекалиях, рвотных массах, в грудном молоке, сперме. В этой связи вирус может передаваться половым путем от реконвалесцентов в течение 3 и более месяцев после клинического выздоровления.

Воздушно-капельная и воздушно-пылевая передача возможна только при очень высокой концентрации вирусов в аэрозоле. Прямой аэрогенной передачи вирусов от человека к человеку при вспышках болезни Эбола не зарегистрировано.

Вирус не передается через кровососущих насекомых.

Инкубационный период варьирует от 2 дней до 3 недель, в среднем – 6-10 дней.

Несмотря на высокую патогенность вируса, не исключено, что часть инфекций может происходить в стертой форме. Это подтверждается нахождением антител к вирусу у многих жителей эндемичных районов.

После проникновения эболавирусы размножаются в регионарных лимфатических узлах. Далее они поступают в кровь; гематогенным и лимфогенным путями распространяются по всему организму.

Первичными *мишенями* для вирусов являются **клетки врожденного иммунитета** – моноциты, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, а также **клетки эндотелия** и гепатоциты. Проникновение эболавирусов в клетки происходит при помощи белка GP.

Активная репродукция вирусов приводит к гибели зараженных клеток и развитию системного воспаления с одновременным *глубоким угнетением противовирусного иммунитета*.

Вирусы проникают в лимфоциты, моноциты и макрофаги и запускают их *апоптоз*. При заболевании наблюдается выраженная лимфопения и тромбоцитопения.

Растворимая форма белка *sGP* подавляет активацию нейтрофилов.

Вирусные белки (VP24 и другие протеины) *ингибируют синтез* всех типов *интерферонов*.

Через 2-3 дня от начала инфекции эболавирусы распространяются по всем органам и тканям и поражают эндотелий сосудов. Развивается генерализованный *васкулит*.

Массивное повреждение гепатоцитов и эндотелия приводит к ДВС-синдрому и выраженной *гипокоагуляции*. Возникают кровотечения и кровоизлияния во внутренние органы и слизистые, отек тканей. Нарастают явления *гиповолемического шока*, который часто завершается летально.

Для *клинических проявлений заболевания* характерно острое начало. Инфекция сопровождается лихорадкой выше 38°C и выраженным болевым синдромом (головная боль, боли в грудной клетке, животе, мышцах, суставах).

На 5-7 день вследствие поражения сосудов у 50% пациентов возникает сыпь на коже, развиваются кровоизлияния во внутренние органы, кожу, слизистые. Может наблюдаться кровавая рвота, кровохарканье, кровотечения в местах инъекций.

Появление кровотечений и развитие гиповолемического шока указывает на ухудшение прогноза заболевания.

Выздоровление при болезни Эбола наступает медленно, вирус выделяется из организма в течение нескольких месяцев. Длительно сохраняются симптомы поражения печени, болевой синдром. Частым осложнением болезни является нарушение зрения и слуха.

По окончании заболевания у пациентов образуются и длительно циркулируют противовирусные антитела, однако их роль в предупреждении повторных инфекций точно не установлена.

12.5. Лабораторная диагностика филовиральных геморрагических лихорадок

Так же, как и при других особо опасных инфекциях, исследования по диагностике вирусных болезней Эбола и Марбурга должны проводиться в специализированных лабораториях с максимальным уровнем биологической защиты (работа с возбудителями IV группы риска).

В качестве *материала для исследования* используют кровь, аутопсийный материал.

Основным методом диагностики филовиральных заболеваний является *молекулярно-генетический анализ* методом ***ОТ-ПЦР***. С ее

помощью определяют наличие *вирусной РНК* в образцах, взятых от пациентов.

Антиген филовирусов в клиническом материале определяют методом **иммунохроматографии**.

Вирусологический метод исследования в качестве рутинного метода диагностики не используется из-за высоких требований к биологической защите. Выделение филовирусов проводят на *культурах клеток* (Vero и других). Для их идентификации применяют ОТ-ПЦР.

С целью **серодиагностики** используют *ИФА* с обнаружением противовирусных АТ класса IgM и IgG в сыворотках.

12.6. Лечение и профилактика филовирусных инфекций

Специфического лечения филовирусных геморрагических лихорадок *не разработано*. Положительный эффект наблюдается при использовании сывороток реконвалесцентов с высоким титром специфических противовирусных АТ. Основу лечебных мероприятий составляет интенсивная патогенетическая терапия, направленная на предупреждение развития ДВС-синдрома и гиповолемического шока, нормализацию функций сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

Меры *профилактики* филовирусных геморрагических лихорадок являются *неспецифическими*. Они включают полный комплекс мероприятий по борьбе с особо опасными инфекциями: своевременное выявление и изоляцию заболевших, установление и контроль контактных лиц, применение средств индивидуальной защиты персонала, карантинные мероприятия, проведение дезинфекции в очагах.

Разработаны и проходят испытания несколько генно-инженерных вакцин против лихорадки Эбола производства США, России, Великобритании.

ХІІІ. СЕМЕЙСТВО БУНЬЯВИРУСОВ (*Bunyaviridae*)

Буньявирусы составляют одно из наиболее многочисленных вирусных семейств. Свое название они получили по месту обнаружения в г. Буньямвера, Уганда (К. Смитберн с соавт., 1943-1946 гг.)

В естественных условиях буньявирусы активно циркулируют среди широкого круга позвоночных и беспозвоночных хозяев (членистоногих, животных, птиц). Большинство из них являются *арбовирусами* с трансмиссивным механизмом передачи инфекции животным и человеку. В качестве переносчиков заболеваний выступают клещи и другие насекомые (комары, москиты и др.)

Представители одного из родов в данном семействе (хантавирусы) выделяются от грызунов и относятся к экологической группе *робовирусов*.

Многие виды буньявирусов способны вызывать инфекционные болезни человека. Распространенность заболеваний связана с ареалом обитания переносчиков и природных хозяев вирусов.

Наиболее тяжелые буньявирусные инфекции протекают в форме *геморрагических лихорадок* или вирусного *энцефалита*. К ним относятся *Крымская-Конго геморрагическая лихорадка* (вирусная природа болезни установлена в 1945 г. М.П. Чумаковым с соавт., возбудитель выделен в 1963 г.), *геморрагическая лихорадка с почечным синдромом* (А.А. Смородинцев с соавт., 1940 г.), *москитные лихорадки* (Р. Дерр с соавт., 1909 г., А. Сэбин, 1943 г.), *лихорадка Рифт-Валли* (Р. Даубни с соавт., 1930 г.), *лихорадка Батаи* (Р. Элисберг и Э. Бьюшер, 1955 г.), *калифорнийский энцефалит* (У. Хэммон, 1943 г.), *хантавирусный кардиопульмонарный синдром* (Б. Темпест, 1993 г.) и многие другие.

Ряд этих болезней встречается на территории сопредельных государств, отдельные случаи могут регистрироваться в Республике Беларусь.

13.1. Классификация буньявирусов

Семейство *Bunyaviridae* объединяет свыше 300 различных вирусных представителей. В настоящее время семейство включает 5

родов и не менее 100 установленных вирусных видов. Многие изоляты буньявирусов пока точно не классифицированы.

Вирус *Крымской-Конго геморрагической лихорадки* относится к роду *Nairovirus*; вирус лихорадки *Рифт-Валли* и вирусы *москитных лихорадок* принадлежат роду *Phlebovirus*.

Свыше 5 вирусных видов, принадлежащих роду *Hantavirus* (вирусы *Хантаан*, *Пуумала*, *Добрава-Белград* и др.), являются возбудителями *геморрагической лихорадки с почечным синдромом*.

К роду *Hantavirus* относятся также возбудители *хантавирусного кардиопульмонарного синдрома* (вирус *Син Номбре*).

Вирусы *Буньямвера*, вызывающие лихорадку *Буньямвера* и лихорадку *Батаи*, а также вирус *калифорнийского энцефалита* принадлежат роду *Orthobunyavirus*.

13.2. Свойства буньявирусов

13.2.1. Морфология и ультраструктура

Форма вирионов буньявирусов *сферическая* или *плеоморфная* с диаметром от 80 до 120 нм. Нуклеокапсид окружен наружной липидной оболочкой (*сложный вирус*). Вирионы имеют *спиральный*, иногда *икосаэдрический (кубический)* тип симметрии; у части вирионов тип симметрии не определяется. Многие виды буньявирусов обладают *гемагглютинирующей активностью*.

Геном вирусов представлен *тремя сегментами однонитевой (-) РНК*. У части буньявирусов отмечается *амбиполярность* геномной РНК.

Большой (или *large*) L-сегмент генома кодирует *вирусную РНК-полимеразу (L-белок)*.

Средний (или *medium*) М-сегмент кодирует *вирусные гликопротеины Gc и Gn*. Эти белки входят в состав шипов вируса на поверхности суперкапсида. Они выполняют функцию рецепторов и белков слияния.

Малый (или *small*) S-сегмент кодирует *внутренний нуклеопротеин N*.

Структурные белки вирусов обладают антигенными свойствами с образованием многочисленных серогрупп и серотипов буньявирусов.

Так как геном буньявирусов сегментирован, их новые генотипы и серотипы могут возникать в результате генетической *рекомбинации (реассортации)* сегментов РНК, полученных от разных вирусов. При

этом образуются рекомбинантные вирионы с новым сочетанием поверхностных антигенных белков.

13.2.2. Устойчивость вирионов

Вне организма во влажных условиях буньявирусы выживают в течение нескольких часов при 37°C, в течение 10-11 дней при 20°C и до 15 дней при 4°C. В условиях низкой влажности буньявирусы инактивируются в течение суток.

Аналогично большинству вирусов, имеющих липидный суперкапсид, буньявирусы чувствительны ко всем основным дезинфектантам и антисептикам (гипохлориту, формальдегиду, этанолу, детергентам и др.)

Быстро инактивируются при нагревании (60°C в течение 15 мин) и под влиянием ультрафиолета.

13.2.3. Культивирование буньявирусов

Культивирование вирусов проводится на различных типах клеточных культур (перевиваемые клетки почек зеленых мартышек Vero, диплоидные эмбриональные клетки человека и др.), а также в организме лабораторных животных (новорожденных мышей-сосунков). В культуре клеток вирусы оказывают цитопатическое действие.

13.3. Репродукция буньявирусов

Буньявирусы посредством белков *Gn* и *Gc* связываются с интегриновыми рецепторами клеток. Для представителей рода хантавирусов основными мишенями являются клетки эндотелия сосудов.

Возбудители проникают в клетки путем *эндоцитоза*. Снижение рН в эндосоме с активацией белка слияния *Gc* приводит к *депротеинизации* вирусов и их выходу из эндосомы в цитоплазму.

Репродукция буньявирусов происходит в *цитоплазме* зараженных клеток.

РНК-полимераза *L* обеспечивает *репликацию* и *транскрипцию* вирусного генома. Для этого на матрице (–) цепи геномной РНК она синтезирует комплементарные цепи (+) РНК.

Позитивная (+) цепь РНК поступает на рибосомы для синтеза вирусных белков. Кроме того, она становится матрицей для дальнейшей репликации геномной (–) цепи РНК.

Окончательная сборка вирионов с приобретением суперкапсида происходит в комплексе Гольджи. Вирусы транспортируются к цитоплазматической мембране клетки и покидают ее путем *почкования*.

13.4. Характеристика буньявирусных инфекций

Различные виды буньявирусов распространены повсеместно на всех континентах. Большинство из них обнаруживается в странах Африки, Южной и Северной Америки, Азии, реже они встречаются в Европе и Австралии.

Многие буньявирусы вызывают *зоонозные* инфекции с *природной очаговостью* и *трансмиссивным* механизмом передачи. Их переносчиками являются комары, клещи, москиты, в отдельных случаях – мошки, мокрецы, клопы и др. В Восточной Европе и Средней Азии основными переносчиками инфекций являются иксодовые клещи, в странах Средиземноморского бассейна – москиты.

13.4.1. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (ККГЛ)

Первые массовые случаи данного заболевания были выявлены в Крыму в 1944-1945 гг. Идентичность вируса крымской лихорадки с вирусом геморрагической лихорадки, выделенном в Конго, установлена в 1967 г. Вследствие этого болезнь получила название «*Крымская-Конго геморрагическая лихорадка*».

К настоящему времени ККГЛ регистрировалась более чем в 30 странах мира. Вспышки инфекции отмечаются в Китае, Индии, Средней Азии, странах Африки и арабских странах, в Южной Европе, Украине, южных регионах России. Географическое распространение болезни совпадает с ареалом обитания иксодовых клещей из рода *Hyalomma* (Африка, Азия, Южная Европа). Иксодовые клещи являются резервуарами и основными переносчиками инфекции.

Источником и резервуаром вирусов являются **домашние** и **дикие животные** (зайцы, ежи, грызуны и другие виды). У животных инфекция протекает или бессимптомно, или в легкой форме.

По результатам серологического анализа установлено, что свыше 50% случаев инфекции у человека также протекает бессимптомно.

Механизм передачи – **трансмиссивный** через укус зараженных клещей. Основным видом переносчиков являются клещи *Hyalomma marginatum*. У них отмечается трансвариальная передача возбудителей.

Возможен **контактный** путь заражения.

Инкубационный период – от 2 до 7 суток.

Тяжелое течение инфекции наблюдается в 15-30% случаев. В клинической картине различают 3 периода: предгеморрагический, геморрагический и реконвалесценции.

Заболевание начинается остро. Возникает лихорадка и симптомы общей интоксикации. В дальнейшем при попадании вируса в кровь (*виремия*) происходит генерализованное поражение сосудов микроциркуляции. Появляется петехиальная сыпь, кровавая рвота, развивается геморрагический гастрит, гепатит, со стороны дыхательной системы – геморрагический бронхит, пневмония, плеврит. Поражение ЦНС сопровождается кровоизлияниями в мозг.

Летальность при ККГЛ достигает 5-20%.

В ходе инфекции у пациентов развивается *стойкий типоспецифический иммунитет*. Восстановительный период после болезни длителен и занимает 6-12 месяцев.

13.4.2. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом и хантавирусный кардиопульмонарный синдром

«Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом» (**ГЛПС**) объединяет группу сходных инфекций, вызванных родственными видами **хантавирусов**. По местам их локализации они получили название «хантавирусы Старого Света».

ГЛПС регистрируется повсеместно в странах Азии, Африки и большинстве стран Европы (всего до 150 тыс. случаев ежегодно). В Республике Беларусь в 2014 г. было зарегистрировано 84 случая заболевания.

Тяжелое течение наблюдается при ГЛПС, обусловленной вирусом *Хантаан*. Этот вид возбудителя обнаруживается в Корее, Китае, Приморье. Летальность при данной инфекции составляет 3-7%.

Основные европейские варианты хантавирусов обладают меньшей вирулентностью; летальность при заболеваниях составляет

0,1-0,5%. Однако при ГЛПС, обусловленных хантавирусом *Добрава-Белград*, летальность может превышать 10%.

Хантавирусы Нового Света, циркулирующие на американском континенте (вирус *Син Номбре*), являются причиной *хантавирусного кардиопульмонарного синдрома*, летальность при котором достигает 50% и более.

Источником и резервуаром хантавирусов являются различные виды **грызунов** (мыши, крысы и т.д.), у которых инфекция протекает бессимптомно. Из-за своего происхождения хантавирусные заболевания относят к зоонозным *робовирусным инфекциям*.

Средний уровень зараженности грызунов вирусами ГЛПС в Республике Беларусь – около 1%.

Механизм передачи – **аэрогенный** через вдыхание аэрозольных микрочастиц, зараженных выделениями грызунов (влага, пыль и т.д.). Возможен **алиментарный** путь заражения через контаминированные продукты.

Инкубационный период – в среднем 3 недели.

В ходе инфекции происходит поступление возбудителей в кровь с развитием *виремии*. Хантавирусы поражают *эндотелиальные клетки* кровеносных сосудов и клетки иммунной системы (макрофаги, дендритные клетки, лимфоциты).

В клинической картине ГЛПС выделяют несколько стадий: лихорадки, гипотензии, олигурии, полиурии и выздоровления.

Заболевание обычно начинается остро и сопровождается лихорадкой, рвотой, головной болью и болями в животе.

Ведущим клиническим синдромом при ГЛПС является генерализованное *поражение сосудов микроциркуляции* с увеличением сосудистой проницаемости.

Вследствие этого уже на ранних сроках заболевания возникают расстройства ЦНС, нарушения функции легких, почек. У пациентов появляется петехиальная сыпь на коже, развиваются кровоизлияния в органы и ткани.

Тяжелое поражение почек (нефрит с олигурией) наблюдается более чем у 50% пациентов. При благоприятном исходе болезни происходит постепенное восстановление функции почек, ЦНС, дыхательной и сердечно-сосудистой систем.

После заболевания у пациентов развивается *стойкий длительный иммунитет*.

Хантавирусный кардиопульмонарный синдром, обусловленный вирусом *Син Номбре*, регистрируется в большинстве стран Северной и Южной Америки (США, Канада, Бразилия, Аргентина и др.)

Заболевание отличается крайне тяжелым течением и высокой летальностью. Генерализованное вирусное поражение сосудов и аутоиммунные реакции в ранние сроки приводят к инфекционному кардиогенному шоку и токсическому отеку легких (*респираторный дистресс-синдром*).

13.4.3. Другие буньявирусные инфекции

Многие другие представители семейства *Bunyamviridae* также способны вызывать заболевания у человека.

В частности, возбудители из рода *Phlebovirus* являются причиной *сицилийской* и *неаполитанской* *москитных лихорадок*, распространенных в Средиземноморье, и *лихорадки Рифт-Валли* в Африке и Юго-Западной Азии.

Ряд таких инфекций отмечается на территории соседних европейских государств и в Российской Федерации. Трансмиссивные вирусы из группы калифорнийского энцефалита (род *Orthobunyavirus*) встречаются в Европе и Азии. В основном они передаются человеку от животных (грызунов, зайцев и др.) комарами рода *Aedes*. Заболевания у пострадавших лиц протекают в гриппоподобной форме, а также в форме нейроинфекций с поражением ЦНС.

На территории Республики Беларусь также установлена циркуляция буньявирусов трансмиссивной *лихорадки Батаи*, которая передается животным и человеку различными видами комаров. Эти вирусы широко распространены среди животных в Европе и Азии. Выявлены спорадические случаи данной инфекции среди людей с развитием симптомов лихорадки и менингита.

13.5. Лабораторная диагностика буньявирусных инфекций

Так как большинство буньявирусов, вызывающих заболевания у человека, относится к III группе риска, все этапы работ при выделении вирусных культур должны проводиться в специализированных лабораториях с соблюдением необходимых правил биобезопасности (работа с возбудителями III-IV группы риска).

Материалом для исследования является кровь, мокрота, моча, ликвор, аутопсийный материал, выделения грызунов, материал из переносчиков и т.д.

Наиболее широко используются **методы серодиагностики** с обнаружением противовирусных АТ класса IgM и/или IgG в сыворотках пациентов при помощи ИФА.

Для обнаружения антигенов вирусов непосредственно в клинических образцах применяют РИФ, ИФА, для определения вирусной РНК в материале – ОТ-ПЦР.

При **вирусологическом методе исследования** проводят выделение буньявирусов на различных типах культур клеток (перевиваемых клетках Vero, диплоидных эмбриональных клетках легкого человека и др.) Для **идентификации** вирусов применяют реакцию нейтрализации, ИФА и ОТ-ПЦР. С помощью реакции нейтрализации устанавливают серогруппу и серотип буньявирусов.

13.6. Лечение и профилактика буньявирусных инфекций

Ведущим способом **лечения** геморрагических буньявирусных лихорадок и энцефалитов остается интенсивная **патогенетическая и симптоматическая терапия** с проведением противошоковых мероприятий, которые включают активную дезинтоксикацию и поддержание водно-электролитного баланса, при необходимости – назначение гемодиализа и искусственной вентиляции легких.

Для **этиотропного лечения** отдельных инфекций применяют **рибавирин**. Возможно введение сывороток реконвалесцентов, содержащих противовирусные АТ.

Основные меры **профилактики** буньявирусных инфекций являются **неспецифическими**. К ним относится борьба с переносчиками в местах их обитания, использование репеллентов, ношение защитной одежды и т.д., что позволяет значительно снизить вероятность заражения людей. В профилактике хантавирусных инфекций важную роль играют мероприятия по дератизации.

В случае возникновения заболеваний проводится изоляция и лечение пострадавших, дезинфекция в очагах.

Разрабатывается вакцина для специфической профилактики Крымской-Конго геморрагической лихорадки.

XIV. СЕМЕЙСТВО ТОГАВИРУСОВ (*Togaviridae*). РОД *Rubivirus* – ВИРУС КРАСНУХИ

14.1. Классификация и общая характеристика тогавирусов

В семейство *Togaviridae* (лат. *toga* – мантия, плащ) входят 2 рода РНК-содержащих вирусов – *Alphavirus* и *Rubivirus*.

Данные роды значительно отличаются по своей патогенности в отношении человека и животных.

Род *Alphavirus* объединяет 31 вид сходных зоонозных возбудителей, относящихся к экологической группе *арбовирусов*.

Основными хозяевами для них являются животные и птицы, а также членистоногие.

Передача инфекции осуществляется через переносчиков – кровососущих членистоногих (комаров, клещей).

У человека многие виды альфавирусов вызывают тяжелые инфекционные заболевания (*энцефалиты, лихорадки*). Наиболее часто они регистрируются в странах с теплым климатом. Географическое распространение этих инфекций определяется ареалом обитания переносчиков и природных хозяев. Сезонные миграции птиц могут способствовать трансконтинентальной передаче возбудителей.

Вирусы *западного, восточного и венесуэльского энцефалитов лошадей* (вирусы Нового Света) представлены в Южной и Северной Америке. Они могут также поражать людей с развитием тяжелого энцефалита, летальность при котором достигает 15-20%.

Альфавирусные лихорадки распространены на всех континентах. Среди них наибольшее клиническое значение имеют *лихорадка Чикунгунья* (Азия), *О'Ньонг-ньонг* (Африка), *Росс-Ривер* (Австралия). Течение этих болезней более благоприятное; для них характерны высыпания на коже и слизистых, лихорадка, поражение суставов. Вспышки лихорадки Чикунгунья отмечались в Южной Европе (Италия).

В странах Скандинавии и на северо-западе России встречается *карельская лихорадка* (или лихорадка Погоста). Она вызывается одним из вариантов *вируса Синдбис* – типовым представителем рода альфавирусов.

Другой род из семейства тогавирусов – род *Rubivirus* – включает единственный вирусный вид – *вирус краснухи*.

Краснуха – это респираторная антропонозная вирусная инфекция, которая встречается повсеместно. Заболевание преимущественно поражает детей и лиц молодого возраста. Преобладающее течение болезни благоприятное, однако при инфицировании беременных вирус краснухи вызывает тяжелые аномалии развития или гибель плода.

Японские исследователи Ё. Хиро и С Тазака в 1938 г. установили вирусную природу данного заболевания, а австралийский врач Н. Грегг обнаружил тератогенное действие вируса (1941 г.).

14.2. Свойства вируса краснухи

14.2.1. Морфология и ультраструктура

Вирионы рубивирусов – это *сферической* формы частицы со средним диаметром около 60 нм. Тип симметрии – *кубический*.

Вирионы имеют наружную липидную оболочку-*суперкапсид* (сложные вирусы). На поверхности суперкапсида находятся гликопротеиновые шипы, представленные структурными **белками E1 и E2**. Данные белки обладают гемагглютинирующими и гемолитическими свойствами. Они являются основными *вирусными антигенами*. Исходя из общих антигенных свойств, различные варианты вирусов краснухи относят к единственному серотипу.

Геном рубивирусов представлен *линейной несегментированной однонитевой (+) РНК*, обладающей инфекционностью.

На основании вариабельности гена, кодирующего белок E1, установлено 12 генотипов вируса краснухи.

Капсидный **белок С** связан с геномной РНК и образует вирусный нуклеокапсид.

Дополнительно геном вируса кодирует ряд неструктурных белков, к которым относятся вирусные ферменты *протеаза, хеликаза и репликаза* (РНК-зависимая РНК-полимераза).

14.2.2. Устойчивость вирионов

Устойчивость вирусов краснухи в окружающей среде невысокая. Вне организма они погибают в течение суток. Чувствительны к УФ-лучам.

При нагревании до 50-55°C возбудители инактивируются в течение 5-20 минут. Замораживание при -20°C также постепенно ведет к утрате жизнеспособности вирусов.

Быстрая нейтрализация рубивирусов происходит под влиянием всех основных дезинфектантов (детергентов, этанола, эфира, гипохлорита, формальдегида и других). Они чувствительны к изменениям pH – вирионы теряют стабильность при pH менее 6,8 или выше 8,0.

14.2.3. Культивирование рубивирусов

Культивирование проводится на различных типах клеточных культур (первичные культуры клеток амниона человека, перевиваемые клеточные культуры Vero, ВНК-21 и др.). В зараженной культуре вирус краснухи может вызывать ЦПД с круглоклеточной дегенерацией; также образуются цитоплазматические включения и гигантские многоядерные клетки. Во многих клеточных культурах ЦПД не проявляется, и рубивирусы обнаруживаются по реакции интерференции с другими цитопатогенными вирусами (например, вирусами ЕСНО).

14.3. Репродукция вируса краснухи

Вирусы краснухи попадают в верхние дыхательные пути и через слизистую поступают в лимфоузлы. Распространяясь далее по организму, они взаимодействуют с различными типами клеток.

Вирионы связываются с мембранными фосфо- и гликолипидами, проникая в клетки посредством *эндоцитоза*. Закисление содержимого эндосомы активирует белки *E1* и *E2*, которые обеспечивают слияние вируса с мембраной эндосомы. Нуклеокапсид выходит в *цитоплазму*, где происходит высвобождение геномной РНК и репликация вируса.

Геномная вирусная (+) РНК выступает в роли иРНК. После ее трансляции на рибосомах образуется вирусный *полипротеин*, включающий неструктурные вирусные белки. Он подвергается протеолизу с образованием вирусных ферментов – РНК-полимеразы (*репликазы*), хеликазы, протеазы.

РНК-полимераза синтезирует новые копии геномной вирусной РНК через промежуточную (–) цепь РНК. Часть цепи (–) РНК служит матрицей для синтеза иРНК структурных вирусных белков. После ее трансляции синтезируется еще один *полипротеин*, который гидролизруется протеазами с образованием конечных структурных белков – нуклеокапсидного белка С, гликопротеиновых рецепторов вируса *E1* и *E2*.

Далее выполняется упаковка геномной (+) РНК в капсиды вируса. Процесс созревания и сборки вирионов происходит в эндоплазматическом ретикулуме, аппарате Гольджи и лизосомах.

Выход вирионов через мембрану осуществляется путем *почкования*. Лизиса зараженных клеток в процессе инфекции не отмечается.

Жизненный цикл рубивирусов длительный, их максимальная репродукция наблюдается через 36-48 часов после инфицирования клетки.

14.4. Патогенез краснухи и характеристика заболевания

Краснуха – это *антропонозное заболевание*. Инфекция развивается у людей в отсутствие вакцинации. Обычно болезнь поражает детей (75-85% всех случаев) и лиц молодого возраста.

Восприимчивость к краснухе у невакцинированных – до 80-90%.

В Республике Беларусь вследствие плановой специфической профилактики краснушной инфекции в 2014 г. зарегистрирован только один завозной случай краснухи.

Источник инфекции – ***больной человек*** с клинически выраженной или стертой формой заболевания. Пациент заразен в последнюю неделю инкубационного периода и не менее 7 дней от начала высыпаний.

Ребенок с врожденной краснухой в течение 1,5-2 лет продолжает выделять вирус с мочой и через слизистую дыхательных путей; из-за этого он в течение длительного времени остается источником инфекции.

Основной *механизм передачи* – ***аэрогенный***. Путь передачи – ***воздушно-капельный***.

Вертикальная (трансплацентарная) ***передача*** инфекции от матери к плоду ведет к развитию ***синдрома врожденной краснухи***.

Инкубационный период – от 10 до 25 дней (в среднем – 2-3 недели).

Краснуха – это острое инфекционное заболевание, для которого характерна мелкая пятнистая сыпь, легкие катаральные явления, умеренное повышение температуры, лимфаденопатия; у беременных – поражение плода.

Первоначально рубивирусы размножаются в эпителии и лимфоидных скоплениях верхних дыхательных путей и затем

поступают в шейные, затылочные и околоушные регионарные лимфоузлы. Далее они проникают в кровоток. Через 7-8 дней развивается *вирусемия*. Возбудитель лимфо- и гематогенно разносится по организму и фиксируется в клетках кожи, эпителии слизистых оболочек, в лимфоузлах.

После короткого (1-2 дня) продромального периода на коже лица и шеи появляется розовая мелкопятнистая сыпь (*экзантема*), которая быстро распространяется на другие участки тела. Лихорадка и катаральные явления умеренные. Отмечается лимфаденит, могут быть боли в суставах, мышцах.

Сыпь держится 2-4 дня и затем исчезает. Наступает период реконвалесценции, который обычно протекает благоприятно. У детей возможно бессимптомное течение инфекции, у взрослых краснуха протекает тяжелее с лихорадкой, миалгиями, обильной сыпью.

Редкими *осложнениями* краснухи являются артриты и *энцефалит*.

Наибольшую опасность краснушная инфекция представляет для невакцинированных беременных с учетом выраженной ***тератогенной активности*** рубивирусов. Наивысший риск поражения плода (***60-90%***) отмечается в *первом триместре беременности*. Могут возникать спонтанные аборты с гибелью плода. Однако чаще наблюдается хроническая внутриутробная инфекция с развитием ***синдрома врожденной краснухи*** и множественными аномалиями плода. Ежегодно в мире регистрируется до 100 тыс случаев данного синдрома.

В свою очередь, заражение после 18-20 недели беременности уже не приводит к порокам развития. Предполагается, что к этому периоду уже завершены все основные фазы органогенеза эмбриона.

Тератогенное действие рубивирусов обусловлено несколькими ***механизмами***: *апоптозом* эмбриональных клеток с поражением митохондрий; *подавлением митотического деления* из-за повреждения вирусами клеточного цитоскелета.

Вирус проникает во все ткани плода, взаимодействует с эмбриональными клетками и может вызывать множественные пороки развития.

У 15-25% детей синдром врожденной краснухи протекает в манифестной (явной) форме. У них развивается триада симптомов – глухота, поражение органа зрения (катаракта или глаукома), пороки сердца. Также наблюдаются хронический менингоэнцефалит,

микроцефалия, пневмония, гепатит, гемолитическая анемия, тромбоцитопения.

У 75-85% детей синдром протекает в стертой форме; при этом нарушения развития могут проявляться в течение длительного времени после рождения.

Иммунитет после перенесенной краснушной инфекции или проведенной вакцинации – *стойкий, пожизненный*, преимущественно гуморальный, поддерживается антителами класса IgG.

14.5. Лабораторная диагностика краснухи

Диагноз краснухи может быть выставлен на основании клинико-эпидемиологических данных. При необходимости выполняется лабораторное подтверждение диагноза.

В качестве **материала** для выделения вируса краснухи используют кровь, мочу, испражнения, носоглоточный смыв; в случае гибели плода – аутопсийный материал.

Для обнаружения антигенов вирусов непосредственно в клинических образцах применяют *РИФ, ИФА*. Ведущим **молекулярно-генетическим методом** для идентификации РНК рубивирусов в материале является *ОТ-ПЦР*.

При проведении **вирусологического исследования** возбудителей выделяют на чувствительной *культуре клеток* (первичной культуре клеток амниона человека, клетках Vero и других). Для идентификации рубивирусов используют ИФА, ОТ-ПЦР, реакцию нейтрализации.

Широко применяются методы **серодиагностики** с помощью *ИФА* для выявления противовирусных АТ класса IgM в сыворотках пациентов.

Обнаружение специфических АТ класса IgM методом ИФА используют для подтверждения диагноза краснухи у беременных.

14.6. Лечение и профилактика краснушной инфекции

Специфических противовирусных средств для **лечения краснухи** не применяется.

Неспецифическая профилактика краснухи включает изоляцию пациентов в домашних условиях на 4 дня после появления сыпи.

Карантин в детских учреждениях не устанавливается. При заболевании беременных в сроки первых 16 недель рекомендуется прерывание беременности для предупреждения врожденной краснухи.

Для *специфической плановой профилактики* краснушной инфекции используется высокоэффективная *живая комбинированная вакцина (КПК)* против краснухи, эпидемического паротита, кори. Для создания стойкого иммунитета проводят двукратную вакцинацию. Прививки выполняют детям в возрасте 12 месяцев и 6 лет.

Вследствие массовой плановой вакцинации с охватом более 97% населения удалось добиться фактической элиминации краснухи с территории Республики Беларусь – в течение года отмечаются лишь единичные завозные случаи болезни.

XV. СЕМЕЙСТВО ФЛАВИВИРУСОВ (*Flaviviridae*).
РОД *Flavivirus* – ВОЗБУДИТЕЛИ АРБОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ.
РОД *Hepacivirus* – ВОЗБУДИТЕЛЬ ГЕПАТИТА С

В 1900 г., исследуя причину вспышек желтой лихорадки среди контингента американских войск на Кубе, военные врачи У. Рид и Д. Кэррол впервые обнаружили вирус, способный вызвать заболевание у человека. В опытах по самозаражению они доказали, что вирус желтой лихорадки передается человеку посредством комаров-переносчиков (первый установленный арбовирус).

Исходя из названия болезни (желтая лихорадка или *febris flava*), все вирусы этого семейства получили наименование *флавивирусов*.

Разные представители флавивирусов весьма существенно отличаются по своей патогенности в отношении человека и животных.

Самый многочисленный одноименный род *Flavivirus* объединяет возбудителей, относящихся к экологической группе *арбовирусов*. Многие из них способны вызвать тяжелую инфекционную патологию у человека (вирусные *энцефалиты*, *геморрагические лихорадки*). Переносчиками инфекций являются членистоногие – комары, реже клещи.

В частности, первые свидетельства в пользу вирусной этиологии особо опасной трансмиссивной инфекции – *лихорадки денге* – были получены П. Эшберном и Ч. Крейгом еще в 1907 г. Различные типы вируса лихорадки денге были открыты группами Р. Кимуры и А. Сэбина в 1943-1944 гг.; У.Хэммоном с соавт. в 1960 г.; Н. Василякисом с соавт. в 2013 г.

В 1918 г. А. Брейнль и Дж. Клеланд обнаружили еще один флавивирус – вирус *энцефалита долины Мюррей* (или австралийского энцефалита).

В 1933 г. Р. Макенфусс с соавт. открыли патогенный для человека вирус *энцефалита Сент-Луиса*, передаваемый от птиц; в 1934 г. М. Хаяши и С. Касахара с соавт. обнаружили высокопатогенный для человека вирус *японского энцефалита*.

В 1937 г. экспедицией Наркомздрава СССР под руководством Л. Зильбера открыт вирус *клещевого энцефалита* (Л. Зильбер, М. Чумаков, Е. Левкович).

В 1937-1940 гг. К. Смитберн с соавт. выделили вирус *лихорадки Западного Нила*.

В 1945-1947 гг. группой исследователей под руководством М. Чумакова был изучен флавивирус *омской геморрагической лихорадки*.

В 1957 г. Т. Уорк с соавт. в Индии обнаружили сходный вирус *Кьясанурской лесной болезни* (геморрагической лихорадки).

В 1947 г. в Уганде от обезьян был впервые выделен вирус *Зика* (Дж. Дик и А. Хэддоу).

Для Республики Беларусь эндемичным заболеванием является *клещевой энцефалит*. Вирус лихорадки Западного Нила регулярно выделяется от местных видов кровососущих насекомых (комаров, мошек), однако среди людей на территории Республики Беларусь данное заболевание не регистрировалось.

Потенциальную опасность представляют завозные случаи других трансмиссивных флавивирусных инфекций. Ряд из них встречается на территориях сопредельных государств.

К роду *Hepacivirus* семейства флавивирусов относится возбудитель *вирусного гепатита С*. Интенсивная работа по его обнаружению проводилась с начала 1980-х гг., однако в течение долгого времени вирус гепатита С открыть не удавалось. Только с помощью методов молекулярного клонирования М. Хьютону с соавт., Д. Брэдли и Х. Олтеру удалось выделить и затем секвенировать нуклеиновую кислоту возбудителя (1985-1989 гг., США).

Еще один род семейства флавивирусов *Pegivirus* был образован сравнительно недавно – в 2012 г. В него включен вирусный агент, в течение длительного времени считавшийся возбудителем вирусного гепатита G (Дж. Симонс с соавт., 1995 г.) В настоящее время данный вирус рассматривается как непатогенный для человека.

15.1. Классификация флавивирусов

В семейство *Flaviviridae* входят 4 вирусных рода.

Представители рода *Flavivirus* принадлежат к экологической группе *арбовирусов*, передающихся членистоногими. К настоящему времени род включает 53 вирусных вида. Серьезной эпидемической угрозой для людей являются следующие возбудители:

- вирус *клещевого энцефалита*,
- вирус *японского энцефалита*,
- вирус *желтой лихорадки*,
- вирус *лихорадки денге*,

- вирус лихорадки Западного Нила,
- вирус Зика.

В род *Hepacivirus* входит единственный вид – *Hepacivirus C* или вирус *гепатита C*. Возбудитель характеризуется чрезвычайной генетической изменчивостью.

Роды *Pegivirus* и *Pestivirus* не содержат патогенных для человека представителей. При этом инфекция вирусом *GBV-C* (вид *Pegivirus A*) имеет широкое распространение среди людей (до 10-15% от общей популяции). Исходно предполагалось, что данный вирус вызывает у человека один из вариантов вирусного гепатита (гепатит G). Однако до сих пор ассоциации вируса *GBV-C* с каким-либо заболеванием человека не установлено.

15.2. Общие свойства флавивирусов

15.2.1. Морфология и ультраструктура

Вирионы флавивирусов имеют *сферическую* форму с диаметром 40-60 нм. Тип симметрии – *кубический*. Вирусные частицы окружены липидной оболочкой-*суперкапсидом* (сложные вирусы).

Геном флавивирусов представлен *линейной несегментированной однонитевой (+) РНК*, обладающей инфекционностью.

Капсидный *белок С* связан с геномной РНК и образует вирусный нуклеокапсид.

Другие структурные белки (*белок Е*, мембранный *белок М*) входят в состав наружной оболочки вирусов. Они образуют гликопротеиновые шипы, выполняющие рецепторную функцию; также могут проявлять гемагглютинирующую активность. Данные белки являются *вирусными антигенами*.

Дополнительно геном вируса кодирует широкий набор неструктурных белков (белки *NS1-NS5* и их варианты). Часть этих белков обладает ферментативной активностью (вирусная *протеаза* и *хеликаза*, вирусная РНК-зависимая *РНК-полимераза*). Кроме того, они способны блокировать факторы противовирусного иммунитета с подавлением синтеза интерферона и других цитокинов.

15.2.2. Устойчивость вирионов

Устойчивость возбудителей в окружающей среде варьирует в зависимости от вида вируса. Вирус лихорадки денге в высушенном пятне крови может сохранять жизнеспособность в течение нескольких недель, вирус гепатита С – по крайней мере, в течение 16 ч. Выживаемость флавивирусов вне организма увеличивается при низких температурах.

При нагревании до 56°C большинство флавивирусов инактивируется в течение 30 минут. Полная инаktivация вируса гепатита С происходит при 60°C в срок до 10 ч. Вирионы чувствительны к УФ-облучению.

Быстрая нейтрализация флавивирусов происходит под влиянием всех основных дезинфектантов (гипохлорита, детергентов, пероксида водорода, альдегидов и других соединений).

15.2.3. Культивирование флавивирусов

Представители рода *Flavivirus*, принадлежащие к арбовирусам, хорошо размножаются в различных клеточных культурах, где они проявляют цитопатическое действие.

Вирусы клещевого и японского энцефалитов, вирус лихорадки Западного Нила (западно-нильского энцефалита), вирус желтой лихорадки культивируются в куриных эмбрионах, в перевиваемых клеточных культурах (клетки почек зеленых мартышек Vero; клетки почек сирийского хомячка ВНК и др.), в первичных культурах клеток (фибробласты кур); при заражении экспериментальных животных (интрацеребральное заражение белых мышей).

Вирус лихорадки денге размножается в перевиваемых клеточных культурах, линиях клеток москитов, не культивируется на лабораторных животных.

Для выделения вируса Зика используют перевиваемые клеточные линии (клетки Vero), культуру фибробластов человека, дендритные клетки.

Вирус гепатита С не способен размножаться в клеточных культурах, за исключением гепатоцитов. В исследовательских целях проводят экспериментальное заражение шимпанзе.

15.3. Репродукция флавивирусов

Разные возбудители трансмиссивных флавивирусных инфекций взаимодействуют со многими типами клеток (клетки эпителия слизистых, кератиноциты, эндотелий, клетки системы иммунитета, гепатоциты, нейроны ЦНС и др.)

Флавивирусы посредством рецепторных *белков E* связываются с мембранными рецепторами (лектинами, гликозаминогликанами) и проникают в клетки посредством *эндоцитоза*. Закисление содержимого эндосомы изменяет конформацию *белков E*, которые обеспечивают слияние липидной оболочки вируса с мембраной эндосомы. Нуклеокапсид проходит через мембрану в *цитоплазму*; там происходит высвобождение геномной РНК и репликация вируса. В процессе проникновения и дальнейшей репликации вируса активное участие принимают клеточные протеинкиназы.

Геномная вирусная (+) РНК выступает в роли иРНК. Она транслируется на рибосомах с образованием исходного *полипротеина*. Полипротеин подвергается расщеплению как вирусной, так и клеточными протеазами с образованием конечных вирусных белков.

Одним из таких белков является вирусный фермент *РНК-полимераза*. Он синтезирует новые копии геномной вирусной РНК через промежуточную (–) цепь РНК. Синтез геномной РНК происходит на мембранах эндоплазматического ретикула.

Процесс созревания и сборки вирионов завершается выходом вирусных частиц через клеточную мембрану путем *почкования*. В процессе почкования вирус приобретает суперкапсид. Активный выход вирионов может завершаться *лизисом* зараженной клетки.

15.4. Характеристика арбовирусных инфекций, вызываемых флавивирусами

15.4.1. Клещевой энцефалит

Клещевой энцефалит – это *природно-очаговое трансмиссивное заболевание*, которое вызывается одноименным флавивирусом и передается человеку *иксодовыми клещами*. Болезнь характеризуется преимущественным *поражением ЦНС* и проявляется в различных клинических формах – от стертых или легких вариантов, до тяжелых

клинических состояний, сопровождающихся параличами с возможным летальным исходом.

Распространенность клещевого энцефалита совпадает с природными очагами обитания переносчиков – иксодовых клещей. Наиболее широкое распространение инфекция получила на Дальнем Востоке, в Сибири, на Урале, в странах Центральной Азии, часто обнаруживается на европейской территории России, в странах Северной, Центральной и Восточной Европы.

Определяется 3 генотипа вируса клещевого энцефалита – дальневосточный, европейский (западный) и урало-сибирский. Каждый из них преобладает на своей части территории. Несмотря на разнообразие вариантов, вирусы образуют один близкородственный антигенный комплекс.

Множественные природные очаги западного варианта клещевого энцефалита выявлены в Республике Беларусь. Установлена высокая (до 15%) частота инфицирования возбудителем клещей-переносчиков в природных условиях. Всего в 2014 г. в Республике Беларусь было выявлено свыше 110 случаев клещевого энцефалита; зарегистрирован 1 летальный исход.

Источником и резервуаром вируса являются **домашние и дикие животные** – прокормители клещей (грызуны, зайцы, копытные, хищники, птицы и др.; всего более 130 видов).

Основной *механизм передачи* – **трансмиссивный** через укус зараженных клещей. Ведущими переносчиками являются 2 вида иксодовых клещей – *I. persulcatus* (восточная форма заболевания, «таежный энцефалит») и *I. ricinus* (западный вариант болезни).

У клещей наблюдается половая передача вирусов от самцов к самкам при спаривании; также отмечается трансовариальная передача возбудителей.

Изредка возможен **алиментарный** путь заражения людей через инфицированное молоко коз или коров, а также **контактный** путь при раздавливании клещей и втирании гемолимфы.

В текущей эпидемической ситуации наиболее часто (до 80% случаев) заражаются жители городов. Это происходит при посещении лесопарковых и пригородных зон, во время работы на садово-огородных участках и т.д. Максимальный профессиональный риск заражения – у лиц, работающих в лесном хозяйстве.

Для заболевания характерна весенне-летняя сезонность.

Инкубационный период клещевого энцефалита составляет от 4-5 дней до 3-х недель, в среднем 1-2 недели.

По результатам серологического обследования населения установлено, что свыше 90% заражений могут протекать *бессимптомно* или в стертой форме.

После укуса клеща вирус попадает в кровь. Первоначально он может размножаться в покровных тканях по месту укуса, лейкоцитах и эндотелии сосудов, клетках селезенки, гепатоцитах. Гематогенно и лимфогенно возбудитель проникает в ЦНС и вызывает дегенеративное поражение нейронов. В наибольшей степени страдают двигательные нейроны шейных отделов спинного мозга и ядра продолговатого мозга. Одновременно поражаются мозговые оболочки.

В случае развернутой клинической картины заболевание начинается остро. Возникает лихорадка, головная боль, рвота.

Нарастают менингеальные симптомы, появляются расстройства чувствительности, нарушения координации, парезы. В тяжелых случаях развиваются стойкие вялые параличи с преимущественным поражением мускулатуры шеи, плечевого пояса, верхних конечностей. Прогрессирование болезни может завершиться летально.

Наиболее тяжелым по течению является ***восточный вариант*** клещевого энцефалита. Для него характерны менингоэнцефалитическая и полиомиелитическая формы инфекции с параличами. Летальность при заболевании может превышать 20%.

В очагах на территории Республики Беларусь наблюдается ***западный*** или ***европейский*** вариант клещевого энцефалита, который имеет двухволновое течение. Первая фаза лихорадки короткая; после периода апиреksии возникает вторая волна заболевания с высокой лихорадкой и неврологическими нарушениями, которая длится около 2-3 недель.

Данный вариант болезни обычно завершается полным выздоровлением и восстановлением двигательных функций. Летальность при западном варианте клещевого энцефалита – менее 1%.

Иммунитет после заболевания *стойкий*, длительный. Вируснейтрализующие АТ сохраняются в течение многих лет после заболевания.

При проведении ***лабораторной диагностики*** клещевого энцефалита в качестве *материала для исследования* используют кровь и сыворотку пациентов, спинномозговую жидкость, аутопсийный материал (мозговую ткань).

Для непосредственного обнаружения антигенов вирусов в клиническом материале применяют РИФ, ИФА, для определения вирусной РНК – ОТ-ПЦР.

Активно используются серологические методы диагностики. В сыворотках пациентов выявляют противовирусные АТ класса IgM методом ИФА. Также определяют нарастание уровней противовирусных АТ в парных сыворотках при помощи РТГА, ИФА или реакции нейтрализации на культуре клеток.

При проведении вирусологического метода исследования выполняют интрацеребральное заражение белых мышей фильтратом исследуемого материала. Также вирус выделяют на культурах клеток (Vero и др.). Идентификацию вирусов производят с помощью РИФ или в реакции нейтрализации.

Для определения зараженности клещей применяют ИФА, РИФ.

С целью **специфической терапии** клещевого энцефалита в ранние сроки от начала заболевания назначают препарат иммуноглобулина человека, содержащий АТ к вирусу.

Проводится интенсивная дезинтоксикационная терапия, направленная на борьбу с неврологическими нарушениями. При тяжелых формах инфекции дополнительно назначаются глюкокортикостероидные гормоны.

Основу **неспецифической профилактики** клещевого энцефалита составляют мероприятия по борьбе с клещами – переносчиками инфекции.

Проводят акарицидную обработку природных очагов, предупреждают контакт людей с переносчиками. Лица, профессионально работающие в очагах, обеспечиваются спецодеждой для индивидуальной защиты от клещей. Выполняются мероприятия по санитарно-просветительной работе среди населения.

Специфическая профилактика заболевания осуществляется по эпидпоказаниям с применением инактивированной культуральной вакцины. В Республике Беларусь с учетом распространения на ее территории западного варианта клещевого энцефалита массовой вакцинации населения не проводится. Вакцинация показана лицам, постоянно или сезонно работающим в природных очагах, а также медперсоналу, выполняющему исследования по выделению вируса.

Вакцинация обязательна для выезжающих за пределы страны в районы природных очагов с восточным вариантом клещевого энцефалита.

Экстренная серопротектика препаратом иммуноглобулина проводится лицам, обратившимся в медучреждения в связи с присасыванием инфицированных клещей.

15.4.2. Японский энцефалит

Японский энцефалит – это вирусное природно-очаговое трансмиссивное заболевание с поражением ЦНС, которое передается человеку через укус комаров из рода *Culex*.

Известно 5 генотипов вируса японского энцефалита.

Наибольшее распространение болезнь получила в Азии, где ежегодно отмечается свыше 70 тыс. случаев. С учетом широкого ареала обитания переносчиков в наиболее густозаселенных странах мира (Китай, Вьетнам, Япония, российское Приморье, Индонезия, Индия, Пакистан и др.), считается, что инфекции подвержено до 50% мирового населения. Жители других стран могут заражаться во время своего пребывания в странах с эндемичными природными очагами (туризм, профессиональная деятельность и т.д.).

Источником и резервуаром вируса являются **домашние животные** (наиболее часто – свиньи), а также **птицы** (цапли и др.).

Механизм передачи – **трансмиссивный** через укус комаров рода *Culex*, реже *Aedes*.

Инкубационный период японского энцефалита составляет от 4 до 14 дней.

Установлено, что манифестная форма заболевания с развернутой клинической картиной возникает менее чем у 0,5-1% инфицированных лиц. Подавляющее большинство эпизодов заражения вирусом протекает *бессимптомно*.

В клинически выраженных случаях инфекция начинается остро и быстро прогрессирует с развитием симптомов *тяжелого менингоэнцефалита* (лихорадка 38-40°C, судороги, параличи, коматозные состояния). Средняя летальность при вспышках японского энцефалита составляет 20-30%, оставаясь максимально высокой среди детей. У 30-50% лиц после болезни длительное время сохраняются неврологические расстройства (параличи, нарушения речи, ментальные нарушения и др.).

Показано, что одну из ведущих ролей в патогенезе тяжелых форм японского энцефалита играет *иммуновоспалительная активация клеток микроглии*. Активированные вирусом клетки микроглии выделяют в больших количествах провоспалительные цитокины (ИЛ 1, α -ФНО), свободнорадикальные формы кислорода и азота,

нейромедиаторы. Прогрессирование воспаления ведет к глубокому повреждению структур ЦНС.

Иммунитет после заболевания *стойкий*, сохраняется в течение всей жизни. Вируснейтрализующие АТ направлены к наружным Е-белкам вирусного суперкапсида.

В процессе **лабораторной диагностики** японского энцефалита в качестве *материала для исследования* применяют сыворотку пациентов, спинномозговую жидкость, аутопсийный материал (мозговую ткань).

Для установления диагноза наибольшее значение имеют *методы серодиагностики*. С этой целью *методом ИФА* в сыворотках или спинномозговой жидкости пациентов определяют *противовирусные АТ класса IgM*. Определяют также нарастание уровней противовирусных АТ в парных сыворотках при помощи ИФА или РТГА.

Для выявления *антигенов* вирусов в биопсийном материале применяют *РИФ*.

В специализированных лабораториях проводят *культивирование вирусов* на куриных эмбрионах, в культурах клеток или при интрацеребральном заражении белых мышей. Идентификацию вируса выполняют в реакции нейтрализации или РТГА.

Средств и методов **специфического противовирусного лечения** японского энцефалита пока *не разработано*. Проводится интенсивная терапия для поддержания витальных функций пациентов, направленная на компенсацию дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности, электролитных нарушений, неврологических расстройств.

Мероприятия по **неспецифической профилактике** японского энцефалита, направленные на борьбу с комарами-переносчиками, играют существенную роль в ограничении распространения инфекции. Они включают обработку инсектицидами мест выплода комаров, использование репеллентов и барьерных средств (противомоскитные сетки).

Специфическая профилактика заболевания проводится посредством *вакцинации*. Известно не менее 15 вакцин против японского энцефалита; среди них имеются инаktivированные вакцины, живые аттенуированные вакцины и рекомбинантные вакцины. Все они разработаны на основе вируса японского энцефалита 3 генотипа. Прививки выполняются по эпидпоказаниям в

очагах заболевания, длительность поствакцинального иммунитета составляет около 3 лет.

15.4.3. Лихорадка Западного Нила

Лихорадка Западного Нила (или *западно-нильский энцефалит*)

– это зоонозная вирусная трансмиссивная инфекция, которая передается человеку через укусы многих видов комаров, относящихся к родам *Culex*, *Aedes* и др.

Клинически наблюдаемая инфекция обычно протекает как острое лихорадочное вирусное заболевание, однако в отдельных случаях она сопровождается тяжелым поражением ЦНС с развитием энцефалита.

Вирус Западного Нила сходен по строению с другими флавивирусами; он образует общий антигенный комплекс с вирусом японского энцефалита.

Ареал природного обитания вируса занимает максимальные территории в разных климатических поясах: экваториальном, тропическом и умеренном (в его южной и центральной части). Возбудитель активно циркулирует на всех континентах помимо Антарктиды.

Вирус Западного Нила обладает выраженной экологической пластичностью. Он обнаружен у многочисленных видов птиц, комаров, клещей, от которых заражаются животные и люди. Интенсивная миграция птиц приводит к ускоренному распространению возбудителя.

Вирус массово выявляется в Африке, в Азии (Индия, Пакистан), Австралии. В 1999 г. произошел первичный занос вируса в США (Нью-Йорк), откуда он быстро распространился по Северной и Центральной Америке.

В Южной и Центральной Европе вспышки лихорадки Западного Нила регистрировались в Чехии, Румынии, Сербии, Греции, Италии.

Природная циркуляция вируса установлена во всех странах СНГ; вспышки заболевания отмечены в Российской Федерации, Киргизии.

Вирусологические исследования, проведенные в Республике Беларусь, обнаружили присутствие вируса Западного Нила в местных кровососущих комарах из родов *Culex*, *Aedes* и *Anopheles* с частотой свыше 10-20%.

Основными *источниками* лихорадки Западного Нила являются ***птицы***. Хроническая инфекция у птиц поддерживает интенсивную циркуляцию возбудителя.

Механизм передачи – трансмиссивный. Переносчиками являются свыше 40 видов комаров, преимущественно из родов *Culex* и *Aedes*, а также клещи. Они передают инфекцию от птиц к животным и человеку.

Более 100 видов млекопитающих чувствительны к вирусу с развитием у них инфекции разной степени тяжести. Вирус Западного Нила высокопатогенен для лошадей, смертность которых в ходе заболевания превышает 30%. Человек и животные являются тупиковыми хозяевами возбудителей, поскольку концентрация вируса в крови заболевших недостаточна для дальнейшей передачи инфекции через переносчика.

Считается, что до 80% всех случаев инфицирования человека протекает бессимптомно с последующим развитием иммунитета.

При манифестных формах лихорадки Западного Нила *инкубационный период* составляет 2-14 дней.

Начало заболевания внезапное, сопровождается лихорадкой до 38-40°C, головной болью, болями в суставах и мышцах, диареей, респираторными нарушениями. У части пациентов наблюдается распространенная сыпь.

Лихорадочная форма болезни обычно завершается полным выздоровлением, однако миалгии и астения могут продолжаться до года после инфекции.

Для вируса характерна нейротропность – свыше 20% случаев заболеваний протекает в форме менингита или энцефалита, которые могут сопровождаться параличами конечностей. Наиболее часто поражение ЦНС и параличи развиваются у пациентов в возрасте свыше 50 лет, а также у лиц с иммуносупрессией.

Летальность при данных формах может достигать 5-10%, у пациентов старше 70 лет – от 15 до 30%.

Иммунитет после заболевания *стойкий*, длительный.

Для **лабораторной диагностики** заболевания в качестве *материалов для исследования* применяют сыворотку, кровь, спинномозговую жидкость.

Методом *ОТ-ПЦР* в полученных материалах определяют вирусную РНК, методом *ИФА* – вирусные АГ.

С целью *серодиагностики* методом *ИФА* в сыворотках пациентов выявляют *противовирусные АТ*. При этом определяют нарастание титра АТ в реакции с парными сыворотками.

В специализированных лабораториях проводят *выделение вируса* в культуре клеток или посредством внутримозгового заражения

мышей. Идентификацию возбудителя осуществляют методом иммунной флюоресценции, в реакции нейтрализации или ПЦР.

Лечение лихорадки Западного Нила *симптоматическое*, включающее инфузионную дезинтоксикационную терапию, профилактику отека мозга при энцефалите.

Специфическая профилактика заболевания *не проводится* из-за отсутствия эффективной вакцины. В ветеринарной практике применяются вакцины для иммунизации лошадей.

Меры **неспецифической профилактики** включают борьбу с переносчиками, эпидемиологический надзор за инфекцией среди птиц и животных, применение мер индивидуальной защиты (использование противомоскитных сеток, репеллентов).

15.4.4. Желтая лихорадка

Желтая лихорадка – это *трансмиссивная вирусная геморрагическая лихорадка*, которая передается человеку через укус комаров рода *Aedes*.

Известно 7 генотипов вирусов желтой лихорадки, однако все они имеют общие антигенные свойства (один серотип). Вирион обладает типичной для флавивирусов структурой.

Заболевание относится к **особо опасным карантинным инфекциям**.

Инфекция широко распространена в странах экваториальной Африки и Южной Америки. В эндемичных районах проживает более 600 млн человек. Жители других регионов подвергаются угрозе заражения при посещении территорий и природных очагов, эндемичных по желтой лихорадке.

Согласно оценкам ВОЗ, ежегодно возникает свыше 150 тыс. случаев заболевания с 30-60 тыс. смертельных исходов.

В зависимости от цикла передачи возбудителя различают *сельский (джунглевый)* и *городской* тип желтой лихорадки.

При **сельском типе** инфекции вирус циркулирует среди обезьян (*источники инфекции*), обитающих в экваториальных джунглевых лесах.

Механизм передачи заболевания – **трансмиссивный**. *Переносчиками* являются многие виды комаров рода *Aedes*. При укусах они передают вирус человеку, что приводит к возникновению эпидемических вспышек желтой лихорадки среди сельского населения. Вспышки носят ограниченный характер, вирулентность вируса умеренная.

Наибольшую эпидемиологическую опасность представляет **городской тип** желтой лихорадки. В этих случаях вирус достигает крупных городов, часто расположенных на морском побережье. Ведущими *переносчиками* инфекции здесь являются комары вида *Aedes aegypti*.

В результате могут возникать масштабные эпидемии городской формы заболевания, поражающие десятки тысяч человек. В данных условиях человек становится ведущим *источником инфекции*. Вирулентность вируса высокая.

Инкубационный период при желтой лихорадке длится от 3 до 6 дней.

Вирус репродуцируется в месте укуса комара, проникает в регионарные лимфоузлы и затем поражает внутренние органы (печень, селезенку, миокард, костный мозг). В крови возбудитель обнаруживается в инкубационном периоде и в первые дни болезни.

Клинические проявления инфекции сильно варьируют – от бессимптомного и легкого течения, до тяжелых злокачественных форм болезни с летальным исходом в течение 6-8 дней. В среднем выраженные случаи заболевания отмечаются у 15-20% инфицированных лиц.

Для желтой лихорадки характерно внезапное начало. Повышается температура до 39-40°C, появляется головная боль, боли в пояснице. У пациентов развивается системное воспаление с расстройством гемокоагуляции, приводящее к инфекционно-токсическому шоку и полиорганной недостаточности. Вследствие поражения печени и почек возникает желтуха, олигурия, могут наблюдаться кровавая рвота и маточные кровотечения.

Летальность у госпитализированных пациентов достигает 20-50%; в целом среди всех инфицированных – около 1-5%.

Иммунитет после перенесенного заболевания *стойкий*, пожизненный. Вируснейтрализующие АТ появляются в течение первой недели и циркулируют в течение многих лет.

Для **лабораторной диагностики** заболевания в качестве *материала для исследования* используют сыворотку, кровь, аутопсийный материал.

С целью *серодиагностики* методом *ИФА* в сыворотках пациентов определяют *противовирусные АТ* класса *IgM*.

Вирусная РНК определяется в клинических образцах методом *ПЦР* в течение первого месяца заболевания.

В специализированных лабораториях проводят *культивирование вирусов* в культурах клеток или посредством интрацеребрального заражения мышат-сосунков.

Лечение желтой лихорадки основано на интенсивной терапии пациентов с целью их дезинтоксикации, компенсации полиорганной недостаточности и нарушений гемокоагуляции. Специфическое противовирусное лечение (как и для всех флавивирусных инфекций) пока отсутствует.

Важную роль в предупреждении эпидемических вспышек желтой лихорадки играют мероприятия по **неспецифической профилактике**, направленные на борьбу с комарами-переносчиками.

Специфическая профилактика заболевания проводится с помощью высокоэффективной **живой вакцины** из вирусного штамма 17D. В ряде эндемичных стран и регионов Африки и Южной Америки эта вакцина включена в национальную программу иммунизации. Лица, путешествующие в страны риска, должны быть привиты как минимум за 10 дней до прибытия в эндемичный район.

Согласно данным ВОЗ, однократная вакцинация живой вакциной создает стойкий пожизненный иммунитет к заболеванию.

15.4.5. Лихорадка денге

Лихорадка денге – это широко распространенная *вирусная трансмиссивная инфекция*, передаваемая человеку посредством укусов комара рода *Aedes*. В тяжелых случаях она протекает как **геморрагическая лихорадка с шоковым синдромом**, который сопровождается повышенной летальностью.

К настоящему времени установлено 5 серотипов вирусов лихорадки денге. Заболевание относится к *особо опасным инфекциям*, подлежащим региональному и национальному надзору.

До 2,5 млрд человек проживают в регионах Земли, где существует потенциальный риск заражения вирусом лихорадки денге. Это наиболее часто встречающаяся арбовирусная инфекция человека. Исходя из экспертных оценок, ежегодно заражается свыше 300 млн человек, при этом у 60 млн наблюдается клиническая картина заболевания различной степени тяжести.

Свыше 110 стран Юго-Восточной Азии, Западной части Тихого океана, Африки, Южной Америки, Карибского бассейна, Восточного Средиземноморья являются эндемичными по лихорадке денге. Высокий уровень заболеваемости отмечается в Индонезии, Таиланде,

Вьетнаме, Японии, Китае, Индии, Египте, Судане, Бразилии, Мексике и ряде других стран.

Отдельные случаи лихорадки денге, возникающие после посещения эндемичных стран, отмечаются в Российской Федерации. В последние годы единичные случаи завозной инфекции денге зарегистрированы в Республике Беларусь.

Ведущий *источник инфекции* – заболевший **человек**; в природных очагах сельских и лесных районов вирус может передаваться от обезьян.

Механизм передачи – **трансмиссивный**.

Переносчиками являются синантропные комары вида *Aedes aegypti*, обитающие вблизи человеческого жилья, иногда – синантропные комары вида *Aedes albopictus*.

После кровососания комары через 8-10 дней становятся способными к передаче вируса. Инфекция приобретает эпидемический характер и может поражать до 60-70% населения в очаге.

Большинство случаев заболевания среди местного населения протекает малосимптомно или в виде острой вирусной инфекции с умеренными проявлениями (**лихорадка денге**).

Тяжелое течение характерно для **геморрагической лихорадки денге**, которая может осложняться шоковым синдромом (**синдром шока денге**).

В странах Азии риск развития тяжелых форм болезни наиболее высок у детей до 15 лет, в Латинской Америке преобладает заболеваемость взрослого населения, однако инфекция у взрослых протекает в целом благоприятно.

Наиболее чувствительны к вирусу лица, впервые посетившие эндемичный по инфекции регион.

Инкубационный период при клинически выраженной лихорадке денге составляет от 2 до 10 дней.

Начало заболевания острое, сопровождается лихорадкой, головной болью, в дальнейшем – болями в суставах.

Основными мишенями для вируса являются клетки макрофагально-моноцитарного ряда, клетки эндотелия, гепатоциты, стромальные клетки костного мозга.

После проникновения в кровь (первичная виремия) вирус распространяется по организму и поражает моноциты и макрофаги лимфоузлов, печени, селезенки, костного мозга, эндотелий сосудов. Вирусные неструктурные белки подавляют синтез клеточного

интерферона и активируют системное воспаление. Зараженные клетки погибают преимущественно путем апоптоза.

Расстройство функций эндотелия, печени, угнетение кроветворения с тромбоцитопенией приводят к повреждению капилляров и гипокоагуляции. Развиваются кровоизлияния в ткани (геморрагический синдром, наиболее выраженный в органах ЖКТ).

На коже наблюдается генерализованная петехиальная сыпь, возникает лейкопения.

В наиболее тяжелых случаях геморрагическая лихорадка денге прогрессирует вплоть до развития синдрома шока с падением артериального давления и гиповолемией.

Предполагается, что тяжелые формы инфекции возникают при повторных случаях заражения пациентов другими серотипами вируса, при этом циркулирующие противовирусные АТ ускоряют проникновение вируса в макрофаги (феномен «усиления антителами»).

Неосложненные формы заболевания (до 95% случаев) имеют благоприятный прогноз и обычно завершаются выздоровлением.

Летальность при геморрагической лихорадке денге составляет 1-5%, в отсутствие адекватного лечения она существенно возрастает.

Постинфекционный иммунитет стойкий, пожизненный. Однако он является *типоспецифическим* и не предохраняет от повторной инфекции другим серотипом вируса лихорадки денге.

Для **лабораторной диагностики** заболевания в качестве основного *материала для исследования* используют сыворотку или кровь.

В течение первой недели заболевания в материале методом *ОТ-ПЦР* определяют вирусную РНК, методом *ИФА* – вирусные АГ.

С целью *серодиагностики* методом *ИФА* в сыворотках пациентов определяют *противовирусные АТ класса IgM*, которые сохраняются в течение 1-3 месяцев; обнаружение АТ класса IgG обычно указывает на перенесенную инфекцию.

В специализированных лабораториях проводят *выделение вируса* лихорадки денге на культурах клеток.

Ведущим методом **лечения** геморрагической лихорадки денге с шоковым синдромом является активная инфузионная терапия для предупреждения развивающейся гиповолемии.

Для **специфической профилактики** в 2015-2016 гг. в практику здравоохранения была впервые внедрена комбинированная живая аттенуированная вакцина против 4-х основных серотипов вируса

денге и вируса желтой лихорадки. Вакцина рекомендована ВОЗ для иммунизации населения высокоэндемичных регионов в возрасте 9-45 лет.

Другие варианты вакцин против лихорадки денге в настоящее время проходят клинические испытания.

В качестве мер по **неспецифической профилактике** инфекции рекомендовано использование противомоскитных сеток, репеллентов.

Неоднократные попытки полной ликвидации комаров-переносчиков в их очагах обитания как основного мероприятия по неспецифической профилактике инфекции денге пока успехом не увенчались.

15.4.6. Лихорадка Зика

Лихорадка Зика – это *эпидемическая арбовирусная инфекция*, которая вызывается одноименным флавивирусом и передается человеку через укусы комаров из рода *Aedes*.

Несмотря на в целом *благоприятное течение*, установлена связь лихорадки Зика с **патологией нервной системы** человека – развитием **микроцефалии плода** при беременности и **синдромом Гийена-Барре** (аутоиммунным поражением *периферических нервов*).

Структура возбудителя лихорадки Зика типична для флавивирусов.

До 2007 г. лишь отдельные случаи Зика-инфекции регистрировались среди населения, проживающего в эндемичных по вирусу регионах (Африка, ряд стран Азии).

В 2007 г. первая обширная эпидемия лихорадки Зика поразила жителей островов Микронезии (при островном населении до 7 тыс. человек свыше 5 тыс. оказались зараженными вирусом; у 1 тыс. жителей наблюдалась клиническая картина заболевания).

К 2013-2014 гг. инфекция распространилась на острова Французской Полинезии и в другие страны Океании (Новая Каледония, Вануату и др.) Было зарегистрировано свыше 30 тыс. случаев заболевания, в том числе с неврологическими осложнениями. В дальнейшем инфекцию выявляли в странах Юго-Восточной Азии, в Австралии и Новой Зеландии.

В 2015-2016 гг. масштабная эпидемия лихорадки Зика за короткий срок охватила Бразилию и распространилась на другие страны Южной и Северной Америки. Эпидемия сопровождалась повышением частоты микроцефалии плода у беременных и синдрома Гийена-Барре. Всего в Бразилии было выявлено свыше 200 тыс.

случаев заболевания, при этом более 2 тыс. случаев – внутриутробной Зика-вирусной инфекции.

Общее число заболевших за 2 года эпидемии превысило 0,5 млн человек. В феврале 2016 г. решением ВОЗ по лихорадке Зика была объявлена «чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения, имеющая международное значение». Тем самым эпидемия превратилась в угрозу общественному здоровью межнационального уровня. Данный статус инфекции был снят лишь в конце 2016 г., когда эпидемия пошла на спад.

В Республике Беларусь нет условий для распространения лихорадки Зика из-за отсутствия переносчиков инфекции, однако возможны завозные случаи заболевания из эндемичных районов. Постоянный мониторинг ситуации осуществляется Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Источник инфекции – заболевший **человек**. В природных очагах вирус Зика циркулирует среди приматов.

Ведущий *механизм передачи* – **трансмиссивный** через укусы синантропных комаров, обитающих вблизи человеческого жилья. Основные *переносчики* – комары рода *Aedes* (*A. aegypti*, *A. albopictus* и другие).

Дополнительные механизмы передачи: *вертикальный* – от матери к плоду; *половой контакт*; не исключается заражение при трансфузии препаратов инфицированной крови.

До 70-80% случаев инфекции вирусом Зика протекает **бессимптомно**.

У пациентов с развернутой клинической картиной *инкубационный период* длится 3-12 дней.

Клинические проявления болезни умеренные и соответствуют острой арбовирусной инфекции: внезапное начало, лихорадка, конъюнктивит, головная боль, боли в суставах и мышцах, сыпь на коже.

Болезнь продолжается 5-7 дней и завершается выздоровлением. Случаи тяжелого течения с возможным летальным исходом встречаются исключительно редко.

Осложнения инфекции связаны с потенциальным тератогенным действием вируса и его влиянием на нервную систему.

Вирус оказался способным проникать через плацентарный барьер при беременности. При этом увеличивается вероятность развития **микроцефалии плода**, его внутриутробной гибели, а также частота

преждевременных родов при инфицировании беременных (**синдром врожденной Зика-инфекции**).

В ходе болезни может возникать аутоиммунный **синдром Гийена-Барре** – у пациентов развивается острый полирадикулоневрит с расстройством чувствительных и двигательных функций. Выздоровление замедленное, летальность – до 5%.

Инфекция вирусом Зика в 10-20 раз увеличивает частоту встречаемости данных осложнений в популяции.

Точные механизмы нейротропного и тератогенного действия вируса пока не установлены.

Иммунитет после заболевания *стойкий*, длительный.

С целью **лабораторной диагностики** инфекции Зика в качестве *материала для исследования* используют кровь, сыворотку, мочу. Вирус также может быть выявлен в сперме, ликворе, амниотической жидкости.

Помимо пациентов, обследуют беременных, находящихся в зонах эндемичного распространения вируса.

В течение первой недели в крови и моче определяют РНК вируса методом *ОТ-ПЦР*.

С целью *серодиагностики* на 2-й неделе заболевания методом *ИФА* в сыворотках пациентов выявляют специфические *противовирусные АТ класса IgM*. Возможны перекрестные реакции АТ с другими флавивирусами (вирусом лихорадки денге).

АТ класса IgM также определяют в *реакции нейтрализации* *бляшкообразования* в клеточных культурах.

Выделение вируса проводят в культуре фибробластов человека, клетках Vero и др. Идентификацию производят методом иммунной флюоресценции, в реакции нейтрализации, ПЦР.

Лечение лихорадки Зика *симптоматическое*.

Специфическая профилактика заболевания пока *не проводится*. Разработан ряд вакцин, которые в настоящее время проходят клинические испытания.

Меры **неспецифической профилактики** заражения человека основаны на применении средств индивидуальной защиты (противомоскитные сетки, пологи, репелленты). Выполняются мероприятия по борьбе с комарами-переносчиками. Санитарно-просветительная работа среди населения позволяет снизить риск инфицирования беременных и вероятность передачи вируса половым путем.

В эндемичных очагах требуется контроль присутствия вируса Зика в препаратах донорской крови.

15.5. Вирус гепатита С

Вирусный гепатит С – это глобально распространенная **антропонозная** инфекция с преимущественным **поражением печени, парентеральным механизмом** передачи и склонностью к **хроническому течению** при частом развитии осложнений (**цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома**).

Вирус гепатита С (ВГС) обладает чрезвычайной генетической изменчивостью. Данный вид разделяется на 7 основных генотипов, 67 установленных субтипов и многочисленные штаммы. После заражения вирус в организме человека подвергается множественным мутациям с образованием **квазивидов** (вирусные варианты, «генетическое облако»).

В состав нуклеокапсида вируса входит внутренний (или «кор») белок. В наружной оболочке находятся белки **E1** и **E2**, которые обеспечивают связывание вируса с гепатоцитами и его проникновение через мембрану путем слияния.

Неструктурные белки **NS1-NS3, NS4A, NS4B, NS5A** и **NS5B** принимают активное участие в репродукции вируса. К ним относится целый ряд вирусных **ферментов** – РНК-зависимая **РНК-полимераза NS5B**, белки-**протеазы**, хеликаза.

Компоненты ВГС способны блокировать противовирусный иммунитет. Наблюдается угнетение синтеза интерферона I типа (действие белка **NS5A**), нарушение активации лимфоцитов, индукция апоптоза иммунных клеток.

Вирусный гепатит С – это инфекция, широко представленная в большинстве стран мира. Согласно оценкам ВОЗ, в настоящее время (2014-2016 гг.) не менее 110 млн человек инфицировано ВГС, причем у 80 млн установлен хронический вирусный гепатит С.

Глобальная распространенность инфекции ВГС составляет 1,5-2%, в ряде стран Африки и Азии этот показатель превышает 5%, в странах Восточной Европы, включая Республику Беларусь – около 3,3%.

Среди лиц, употребляющих внутривенные наркотики (основная группа риска) инфицировано не менее 67%. Также достаточно часто

регистрируется ко-инфекция ВГС и ВИЧ (в мире установлено свыше 2 млн таких случаев).

В целом от инфекции ВГС и ее последствий ежегодно погибает свыше 700 тыс. человек, что делает ее весьма серьезной угрозой общественному здоровью.

Наиболее часто патологию вызывает *ВГС генотипа 1* (свыше 45% случаев) и *ВГС генотипа 3* (немногим более 30%).

Вирусный гепатит С – *антропонозное* заболевание.

Источник заражения – инфицированный **человек** (пациент с хронической формой болезни или вирусоноситель).

Основной механизм передачи – *артифициальный (парентеральный)*.

Ведущая группа риска – лица с **внутривенным употреблением наркотиков**.

Лабораторное тестирование препаратов крови и использование одноразового инструментария значительно снизили вероятность передачи инфекции при инвазивных медицинских вмешательствах.

Риск **перинатальной передачи** ВГС от матери к ребенку при беременности и в родах составляет 4-8%.

Вероятность заражения ВГС половым путем невелика (1-5% или даже менее), однако у ВИЧ-инфицированных риск половой передачи ВГС увеличивается.

Инкубационный период болезни длится от 1 до 3-4 месяцев.

Первичная инфекция ВГС чаще всего протекает в *субклинической* или *бессимптомной* форме. Умеренная желтуха и другие признаки поражения печени отмечаются только у 15-25% инфицированных лиц.

В ответ на первичную инфекцию у пациентов развивается клеточный и гуморальный **иммунитет** с образованием противовирусных АТ класса IgM, а затем IgG. АТ к вирусу циркулируют в течение всей жизни.

Самостоятельное выздоровление в течение первых 6 месяцев инфекции с удалением вируса наступает только у 15-45% зараженных.

У остальных инфицированных (свыше 60-80% случаев) болезнь протекает как малосимптомный **первично-хронический гепатит** с постепенным прогрессированием и развитием осложнений. Без лечения вирус остается в организме пожизненно. ВГС обуславливает свыше 40% всех хронических поражений печени.

Основными осложнениями, угрожающими жизни пациентов, являются **цирроз печени** (вероятность – 15-30%), печеночная недостаточность и рак печени – **гепатоцеллюлярная карцинома**. Карцинома развивается у 2-4% пациентов с циррозом. Вирус гепатита С является доказанным биологическим канцерогеном.

Исходя из скрытого течения заболевания, приводящего к тяжелым и порой смертельным осложнениям, российский вирусолог академик Д.К. Львов назвал хронический вирусный гепатит С «ласковым убийцей».

Вирус проявляет слабое цитопатическое действие в отношении гепатоцитов. Повреждение клеток печени обусловлено, главным образом, **аутоиммунными реакциями**. Многие штаммы ВГС проявляют устойчивость к интерферону, которая усиливается вследствие интенсивных мутаций вируса.

При вирусном гепатите С часто наблюдаются множественные **внепеченочные проявления** инфекции. У пациентов возникают эндокринные нарушения (тиреоидит, сахарный диабет 2 типа), гломерулонефрит, криоглобулинемия, тромбоцитопения, поражения кожи, расстройства ЦНС. В основе этих нарушений лежат аутоиммунные механизмы.

Лабораторная диагностика вирусного гепатита С основана на международных рекомендациях, разработанных ВОЗ (2016 г.)

Материалом для исследования является кровь пациента.

На первом этапе выполняют **серодиагностику** – определяют **АТ к вирусу** гепатита С методом **ИФА**.

С целью ускоренного (или «экспресс») определения специфических АТ в крови или ротовой жидкости пациентов используют также методы **иммунохроматографии**.

При положительном результате серологического теста в качестве подтверждающего метода применяют **ОТ-ПЦР** для выявления в крови **вирусной РНК**. В случае ее обнаружения диагноз вирусного гепатита С считается установленным.

Иногда в качестве подтверждающего теста могут использовать ИФА для выявления внутреннего нуклеокапсидного антигена вируса гепатита С.

Важным условием для успешного противодействия инфекции является **лабораторный контроль эффективности противовирусной терапии**. Его выполняют методом **ОТ-ПЦР** с целью обнаружения остаточной вирусной РНК в крови пациента.

Если при тестировании ОТ-ПЦР в течение 12-24 недель после завершения лечения вирусная РНК в крови не выявляется, то пациент считается излеченным от вирусного гепатита С (*устойчивый вирусологический ответ*).

Профилактика вирусного гепатита С ***неспецифическая***.

Необходимы своевременное выявление и лечение пациентов с острой и хронической инфекцией ВГС, а также регулярные обследования лиц из групп риска (в первую очередь, употребляющих наркотики внутривенно). В регионах с высоким уровнем распространения рекомендуется активная серологическая диагностика инфекции среди населения.

Выполняются мероприятия по предупреждению внутрибольничного заражения ВГС, включая тестирование препаратов крови, эффективную стерилизацию медицинского инструментария, использование одноразовых шприцев, инфузионных систем и наборов для парентеральных вмешательств.

В системе профилактических мер существенную роль играет организация санитарно-просветительной работы и борьба с наркоманией.

Несмотря на многочисленные проводимые исследования, *вакцина против ВГС до сих пор не разработана*. В первую очередь это определяется крайней генетической изменчивостью вируса с наличием большого количества штаммов и вариантов.

В отсутствие эффективной вакцины ведущее место в борьбе с эпидемией вирусного гепатита С занимает ***специфическая противовирусная терапия***.

До 2013 г. основным методом лечения данного заболевания являлась комбинированная лекарственная терапия, включающая противовирусный препарат *рибавирин* и *рекомбинантные препараты интерферона* в высоких дозах.

Данный терапевтический режим обладает рядом серьезных ограничений и недостатков. Вероятность выздоровления пациента зависит от генотипа вируса – при хронической инфекции ВГС 1 генотипа она составляет 50-60%; при инфекции вирусами 2 или 3 генотипов – 80-90%.

Курс лечения является длительным (24-48 недель). Более 20% пациентов отмечают выраженные побочные эффекты интерферонотерапии –аллергические реакции, анемию и лейкопению, расстройства ЦНС (депрессию, психозы), обострение аутоиммунных болезней.

Решающий прорыв в лечении вирусного гепатита С наступил в 2013-2014 гг. с внедрением в клиническую практику **противовирусных препаратов прямого действия**.

Они представляют собой высокоспецифичные ингибиторы вирусных ферментов и белков. Их комбинированное применение в течение 12-недельного курса обеспечивает устойчивый вирусологический ответ (т.е. излечение пациента) более чем в 90-95% случаев. При этом они обладают минимальными побочными эффектами.

К данной группе препаратов относятся ингибиторы вирусных протеаз (**симепревир**), вирусной РНК-полимеразы NS5B (**софосбувир**), белка NS5A (**даклатасвир**, **ледипасвир**). В разных сочетаниях они подавляют репродукцию всех известных генотипов вируса гепатита С.

Представители нового поколения препаратов прямого действия (**велпатасвир** и другие) подавляют активность ВГС независимо от его генетического варианта,

Единственным препятствием для массового применения новых лекарственных средств при ВГС являются все еще высокие затраты на курс терапии, достигающие 15-30 тыс. долл. США и более. Тем не менее, стоимость препаратов прямого действия прогрессивно снижается; для ряда стран с высоким уровнем распространенности инфекции разработаны программы, повышающие доступность лечения.

Пациентам с осложнениями хронического гепатита С проводится комплексное лечение цирроза печени, предупреждающее его прогрессирование и развитие печеночной недостаточности. Данная группа пациентов также нуждается в регулярном обследовании с целью возможного выявления гепатоцеллюлярной карциномы.

РАЗДЕЛ 2.2. ДНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ

I. СЕМЕЙСТВО ГЕПАДНАВИРУСОВ (*Hepadnaviridae*). ВИРУС ГЕПАТИТА В

В результате анализа обширных клинических и эпидемиологических данных уже к середине XX века стало очевидно, что патология печени, проходящая под общим названием «инфекционная желтуха», в действительности представляет собой гетерогенную группу заболеваний. Исходя из этого, Ф. МакКаллум и Д. Бауэр в Англии в 1947 г. впервые предложили наименование «гепатит В» для инфекционного гепатита с парентеральным механизмом передачи и «гепатит А» – для инфекционного поражения печени с фекально-оральной передачей.

В 1963 г. Б. Бламберг и Х. Альтер в крови австралийского аборигена обнаружили антиген, который, как было затем установлено, является специфичным для вирусного гепатита В (ВГВ). Впоследствии он получил наименование *Hbs-АГ* – поверхностный АГ вируса гепатита В. На основе выявления данного АГ были разработаны первые методы лабораторной диагностики ВГВ.

Окончательно вирусная этиология заболевания была подтверждена Д. Дейном в 1968-1970 гг. При помощи метода электронной микроскопии ему удалось обнаружить вирионы возбудителя («частицы Дейна») в крови пациентов с гепатитом В. Оказалось также, что поверхностный АГ является компонентом оболочки вируса и самостоятельно выявляется в больших количествах в крови пациентов с хронической ВГВ-инфекцией.

Дальнейшие исследования установили, что вирус гепатита В имеет глобальное распространение. По оценкам ВОЗ, признаки перенесенной или текущей инфекции ВГВ отмечаются у 2 млрд человек (свыше четверти населения планеты).

В целом парентеральные гепатиты В и С представляют «...серьезную угрозу общественному здоровью международного масштаба, сопоставимую с такими инфекционными заболеваниями, как ВИЧ, туберкулез и малярия, и являются существенным бременем для населения всех регионов мира...» (документ ВОЗ «Глобальная стратегия сектора здравоохранения по вирусному гепатиту 2016-2021»).

1.1. Классификация

Вирус гепатита В принадлежит к семейству *Hepadnaviridae*, роду *Orthohepadnavirus*, виду *вирус гепатита В*.

Остальные представители семейства (более 10 видов) относятся к зоонозным вирусам и поражают многие виды млекопитающих, птиц и рыб.

1.2. Свойства вируса гепатита В

1.2.1. Морфология и ультраструктура

Возбудитель ВГВ – вирусная частица малого размера (42 нм), сферической формы, с *кубическим* типом симметрии.

Вирионы окружены внешней оболочкой-суперкапсидом. В состав суперкапсида входят белки и липиды. У вируса имеется внутренний нуклеокапсид (кор) диаметром 30-35 нм,

Геном вируса представлен уникальной *частично двухцепочечной кольцевой ДНК* с недостроенной (+)-цепью переменной длины. Полноразмерная кольцевая минус-цепь ДНК кодирует вирусные белки.

В геноме выявлены 4 открытые рамки считывания – гены, определяющие синтез вирусных белков.

К настоящему времени установлено не менее 8 генотипов вируса ВГВ с большим количеством субтипов.

У вируса ВГВ имеется 4 антигена – ***HBs АГ***, ***HBc АГ***, ***HBe АГ*** и ***HBx АГ***.

В суперкапсиде находится поверхностный белковый антиген вируса – ***HBs АГ***.

В своем составе суперкапсид содержит основной S-белок (англ. *small* – малый), а также средний (*middle*) М-белок и большой (*large*) L-белок. Крупноразмерные протеины М и L помимо HBs АГ включают дополнительные компоненты – ***пре-S1*** и ***пре-S2 белки***.

Нуклеокапсид вируса состоит из внутреннего ***HBc АГ***.

HBe-антиген обнаруживается в крови пациента. Он ***образуется из HBc АГ*** в результате его протеолиза при прохождении через гепатоцит.

HBx АГ – это небольшой регуляторный белок – активатор вирусной транскрипции. Его функция до конца не выяснена; не

исключается роль HBs AG в развитии гепатоцеллюлярной карциномы при хронической ВГВ-инфекции.

В состав нуклеокапсида вируса входит **фермент полимеразы** – многофункциональный белковый комплекс, обладающий активностью **ДНК-полимеразы, обратной транскриптазы** и **РНКазы**.

Вирусная полимеразы ковалентно связана с геномной ДНК вируса.

1.2.2. Устойчивость вирионов

Вирион ВГВ обладает повышенной стабильностью. В высушенном состоянии он сохраняет жизнеспособность свыше 1 недели. При -20°C может храниться более 20 лет, устойчив к повторному замораживанию и оттаиванию.

Поверхностный HBs AG вируса термостабилен, выдерживая кипячение в течение 15-20 минут. Сам вирион после инкубации более 1 минуты при 100°C инактивируется. Однако при 60°C вирус выживает до 10 часов. Эффективная стерилизация достигается после обработки вируса сухим жаром при 180°C в течение 60 минут.

В условиях закисления среды (pH 2,4) HBs AG сохраняется не менее 6 часов, однако вирион при этом теряет инфекционность.

Вирус гепатита В чувствителен к ряду дезинфектантов и антисептиков – галогенпроизводным соединениям (хлорамин, гипохлорит и др.), формальдегиду и глютаровому альдегиду, фенолу, 95% этанолу,

1.2.3. Культивирование вируса гепатита В

Вирусы ВГВ способны размножаться *только в гепатоцитах* человека. Они не воспроизводятся в других культурах клеток или в куриных эмбрионах. С исследовательской целью для культивирования применяют первичную культуру гепатоцитов или гепатомные (опухолевые) клеточные линии с повышенной экспрессией рецепторов к вирусу.

Экспериментальную вирусную инфекцию проводят на обезьянах (шимпанзе).

1.3. Репродукция вируса гепатита В

После попадания вируса в кровь он поступает в печень. Первоначальное связывание вирионов происходит с молекулами гепарансульфата на мембранах гепатоцитов. Далее вирус посредством **пре-S1 белка** связывается с мембранным **рецептором для желчных кислот** (Na^+ -таурохолат котранспортирующий полипептид или НТКП).

Проникновение в гепатоцит происходит *эндоцитозом* с последующим *слиянием* вируса с мембраной эндосомы. При этом вирус теряет суперкапсид. В цитоплазму поступает нуклеокапсид, который транспортируется в клеточное ядро.

В ядре высвобождается геномная ДНК вируса. При помощи вирусной ДНК-полимеразы или клеточных полимераз происходит достройка плюс-цепи кольцевой геномной ДНК. Образуется *кольцевая ковалентно замкнутая двухцепочечная ДНК*.

В редких случаях вирусная ДНК способна встраиваться в геном гепатоцита.

С ковалентно замкнутой двухцепочечной ДНК происходит синтез различных вирусных РНК. Одной из них является **прегеномная РНК**. Вирусные **мРНК** транслируются в цитоплазме на рибосомах, выполняя синтез вирусных белков.

Белковый внутренний НВс АГ способен к самосборке в цитоплазме с образованием нуклеокапсидов.

Прегеномная РНК помещается в строящийся нуклеокапсид. Здесь на матрице прегеномной РНК полимеразы вируса выполняет **обратную транскрипцию** с образованием вирусной **геномной ДНК**. В дальнейшем прегеномная РНК разрушается.

Сформированные нуклеокапсиды, включающие вирусную геномную ДНК, могут возвращаться из цитоплазмы в ядро, и цикл репликации вируса повторяется.

В эндоплазматическом ретикулуме происходит упаковка вируса в суперкапсид, содержащий НВс АГ.

Вирус ВГВ покидает клетку путем **почкования**.

Наряду с вновь образованными вирионами из гепатоцитов в значительном количестве высвобождаются «пустые» вирусные частицы, включающие НВс АГ и НВе АГ.

1.4. Эпидемиология, патогенез и клиническая характеристика вирусного гепатита В

Современная эпидемическая ситуация в отношении парентеральных вирусных гепатитов остается весьма сложной.

В мире ежегодно от инфекций, вызванных вирусами гепатитов В и С, и их осложнений погибает до 1,4 млн человек. Этот суммарный показатель превышает количество смертельных исходов от любых других инфекционных болезней, включая такие, как ВИЧ-инфекция, туберкулез, малярия, пневмококковая пневмония или вирусные диареи. Тем самым парентеральные гепатиты сохраняют лидирующее позиции в структуре смертности, связанной с инфекционной патологией.

ВГВ-инфекция продолжает занимать ведущее место среди всех парентеральных вирусных гепатитов. Исходя из оценок ВОЗ, в настоящее время 240 млн человек хронически инфицированы вирусом гепатита В. Ежегодно регистрируется около 650 тыс. смертельных случаев от различных форм ВГВ-инфекции и ее осложнений (печеночная кома, декомпенсированный цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома).

Наивысшая распространенность ВГВ (>5% от всего населения) наблюдается в странах Африки, расположенных южнее Сахары (суб-Сахарская Африка), в странах Восточной и Центральной Азии, отдельных Балканских странах, в Южной Америке (бассейн Амазонки).

Республика Беларусь относится к странам с низким уровнем распространенности ВГВ (менее 2%).

Вирусный гепатит В – ***антропонозное*** заболевание.

Источник заражения – инфицированный ***человек*** (пациент с острой либо хронической формой болезни или вирусоноситель).

Инфицирующая доза вируса ***весьма мала*** и до конца не установлена. Она составляет менее 100 копий вируса (могут содержаться в 0,0005 мл зараженной крови).

Вирус использует несколько *основных механизмов передачи*.

Вертикальный механизм представляет собой ***перинатальную*** передачу инфекции от матери к ребенку при беременности *через плаценту* и *в родах* через инфицированные биологические жидкости (кровь, вагинальный секрет).

В странах с высоким уровнем распространенности ВГВ вертикальный механизм передачи инфекции является основным. При

этом вероятность развития у новорожденного первично-хронического вирусного гепатита В составляет 90%.

Контактный (гемоконтактный) механизм передачи включает следующие основные пути – **половой** контакт, **прямой** контакт с поврежденной кожей или слизистыми, **бытовое парентеральное инфицирование** (зубные щетки, бритвенные и маникюрные наборы и т.д.).

Артифициальный механизм заключается в передаче ВГВ через кровь посредством медицинских манипуляций (гемотрансфузии, использование нестерильного инструментария и т.д.), а также при инъекционном введении наркотических средств.

Половой контакт и использование нестерильных шприцев при инъекционном употреблении наркотиков являются основными путями передачи ВГВ в странах с низким уровнем распространенности инфекции.

Как и в случае с ВГС, лабораторное тестирование препаратов крови и использование одноразового медицинского инструментария значительно снижают вероятность передачи инфекции при инвазивных лечебных манипуляциях.

Группами **повышенного риска заражения** вирусным гепатитом В являются:

- потребители инъекционных наркотиков;
- лица, проживающие совместно с инфицированными ВГВ;
- лица, регулярно получающие препараты крови и ее компоненты (например, пациенты с гемофилией); реципиенты донорских органов и тканей;
- дети, рожденные от матерей с инфекцией ВГВ;
- лица, склонные к промискуитету (поддерживающие беспорядочные половые связи).

К группам **риска профессионального заражения** относятся:

- медработники и лица, имеющие по долгу службы постоянный контакт с кровью и другими биологическими материалами человека;
- обучающиеся в учреждениях высшего и среднего специального образования по медицинским специальностям.

Тем самым для медработников инфекция ВГВ является фактором профессиональной вредности. Для невакцинированного медперсонала риск передачи вируса при травме острым инструментом, загрязненным биологической жидкостью инфицированного пациента, составляет около 30%.

Инкубационный период болезни **длительный** и продолжается от 1 до 6 месяцев, в среднем – 90 дней.

После заражения вирус проникает в кровь и поступает в гепатоциты, где размножается. Накопление вирусных частиц приводит к постепенному расстройству клеточного метаболизма.

Однако, как и в случае вирусного гепатита С, повреждение гепатоцитов обусловлено главным образом **клеточными аутоиммунными реакциями**. Ведущая роль здесь отводится вирус-специфическим *цитотоксическим Т-лимфоцитам* и их цитокинам. Они же являются основными факторами противовирусного иммунитета, которые обеспечивают удаление пораженных клеток и предупреждают дальнейшее распространение вирусов.

Острая инфекция ВГВ протекает в различных формах. Чаще встречаются безжелтушные и стертые формы, которые обычно заканчиваются выздоровлением.

Лишь у 20-30% инфицированных развивается желтуха. У таких пациентов наблюдаются диспептические и астенические явления, возможны артралгии, кожные высыпания. Увеличивается печень и селезенка, светлеет кал, темнеет моча. В крови нарастает уровень билирубина, аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз.

К концу 1 месяца от начала болезни желтуха обычно прекращается, однако у ряда пациентов восстановление продолжается до 6 месяцев.

Острый вирусный гепатит В обычно завершается **выздоровлением** с развитием **стойкого клеточного и гуморального иммунитета**.

В 1-2% случаев у пациентов может возникать тяжелейшая острая форма гепатита (молниеносный или *фульминантный* гепатит) с прогрессирующей печеночной недостаточностью. Летальность при данной форме превышает 60%. В большинстве случаев такое развитие болезни наблюдается при сочетании вирусного гепатита В с инфекцией дельта-вирусом (гепатит D).

У взрослых **переход в хроническую форму** после острой инфекции наблюдается менее чем в 5% случаев; у детей в возрасте до 5 лет такая вероятность существенно выше – 20-60%. Во многом это связано с недостаточностью функций Т-клеточного иммунитета.

У пациентов с хронической ВГВ-инфекцией вирусные маркеры (HBs AG и другие) продолжают обнаруживаться в крови после 6 месяцев от начала заболевания.

Основную опасность представляют осложнения хронического вирусного гепатита В. Без лечения у 10-20% пациентов развивается прогрессирующий **цирроз печени**. Он обусловлен хроническим воспалительным процессом, приводящем к разрушению печеночной ткани с последующим *фиброзом*.

Также увеличивается онкологический риск – в течение года **гепатоцеллюлярная карцинома** может развиваться у 1-5% пациентов с хроническим гепатитом В и циррозом печени.

Исходя из этого, вирус гепатита В наряду с вирусом гепатита С является доказанным биологическим канцерогеном человека.

1.5. Лабораторная диагностика вирусного гепатита В

Лабораторная диагностика вирусного гепатита В основана на международных рекомендациях, разработанных ВОЗ в 2015-2016 гг.

Материалом для исследования является кровь пациента.

Для диагностики **острого гепатита В** основными являются **серологические методы** – определяют **вирусные АГ** и **АТ к вирусу** при помощи **ИФА**.

Ранее всего (за 2-6 недель до появления симптомов) обнаруживается **HBs АГ**. Он определяется в течение всего заболевания и исчезает в фазу выздоровления. Обнаружение HBs АГ через 6 месяцев от начала болезни свидетельствует о *переходе инфекции в хроническую форму*.

Выявление **HBe АГ** указывает на активную репликацию вируса.

Появление **противовирусных АТ** классов IgM, а затем IgG к периоду выздоровления свидетельствует о развитии иммунитета.

Высокие уровни *анти-HBc АТ класса IgM* соответствуют острой стадии заболевания.

Обнаружение *анти-HBs АТ* класса IgG подтверждает наличие устойчивого иммунитета к вирусу (после заболевания или после проведенной вакцинации).

Дополнительно в диагностике острого ВГВ для выявления в крови **вирусной ДНК** применяют **ПЦР**.

Для оценки тяжести гепатита выполняют биохимический анализ крови с определением билирубина, аланиновой и аспарагиновой трансаминаз.

С целью диагностики **хронической инфекции ВГВ** используют **серологические методы** и **ПЦР**.

Регулярному обследованию подлежат многочисленные группы риска, включая беременных, доноров крови, медработников. В странах с высоким уровнем распространенности ВГВ рекомендован массовый серологический скрининг населения.

На первом этапе выполняют *серодиагностику* – в крови обследуемых выявляют вирусный *HBs AG*.

При положительном результате серологического теста на втором этапе применяют *ПЦР* для решения вопроса о необходимости противовирусного лечения.

Противовирусную терапию назначают в зависимости от активности хронического гепатита и стадии цирроза.

Регулярный *лабораторный контроль противовирусного лечения* выполняют методом ПЦР, а также серологическими тестами (определение HBe AG).

Дополнительно пациенты с хроническим гепатитом В проходят периодическое обследование с целью своевременного выявления гепатоцеллюлярной карциномы.

1.6. Профилактика и лечение вирусного гепатита В

Внедрение в медицинскую практику высокоэффективной вакцины коренным образом изменило эпидемиологическую ситуацию в отношении вирусного гепатита В. Широкое применение вакцинации позволило существенно ограничить распространение данного заболевания.

В настоящее время для *специфической профилактики* вирусного гепатита В используется *генно-инженерная вакцина*. Вакцина представляет собой *рекомбинантный HBs AG*, полученный из дрожжевых клеток-продуцентов. Данная вакцина входит в состав национальных программ вакцинации во многих странах мира.

В Республике Беларусь иммунизация генно-инженерной HBs-вакциной проводится троекратно. Первое введение выполняется в учреждении родовспоможения в течение начальных 12 часов после рождения. Эта инъекция вакцины позволяет предупредить развитие вирусного гепатита В у ребенка, рожденного от ВГВ-инфицированной матери. Повторная вакцинация проводится в возрасте 1 месяца, третья – в 5 месяцев.

Трехкратная иммунизация позволяет создать прочный противовирусный иммунитет более чем у 95% вакцинированных.

Целенаправленно вакцинируют лиц из групп риска, не проходивших ранее специфическую профилактику (медработников; лиц, совместно проживающих с инфицированными ВГВ, и ряд других).

Пост-экспозиционная профилактика ВГВ проводится в случае контакта с биологическими жидкостями ВГВ-инфицированных лиц (незащищенный сексуальный контакт, укол инфицированной иглой и т.д.).

С этой целью производится дополнительная однократная иммунизация HBs-вакциной совместно с назначением специфического противовирусного иммуноглобулина в первые 12-24 часа после контакта.

С целью *неспецифической профилактики ВГВ* выполняются стандартные мероприятия по предупреждению распространения парентеральных гепатитов: выявление и лечение пациентов с острой и хронической ВГВ-инфекцией, обследование лиц из групп риска, тестирование препаратов крови, использование одноразового медицинского инструментария, контроль стерилизации материалов и инструментов, мероприятия по борьбе с наркоманией, санитарно-просветительная работа.

Лечение легких и среднетяжелых форм *острого вирусного гепатита В* не требует применения противовирусных средств. Пациентам назначается диета, при необходимости – дезинтоксикационная терапия. При тяжелых формах лечение проводится в отделениях интенсивной терапии, в отдельных случаях пациентам могут назначаться препараты интерферона.

Для *лечения хронического гепатита В* используются синтетические аналоги нуклеотидов – *ингибиторы вирусной полимеразы* (обратной транскриптазы), а также препараты *интерферона*.

Лечение препаратами интерферона имеет ряд существенных недостатков (вероятность ответа на терапию менее 50%, частое развитие побочных эффектов, высокая стоимость).

Оптимальным методом терапии хронической ВГВ-инфекции является назначение *ингибиторов вирусной полимеразы*. Препаратами выбора являются нуклеотидные аналоги *тенофовир* или *энтекавир*, поскольку чувствительность вируса к данным средствам максимальна. Противовирусное лечение необходимо вести длительно, возможно – пожизненно, с постоянным лабораторным контролем результатов.

Эффективное противовирусное лечение позволяет остановить прогрессирование хронического гепатита В, цирроза печени и предупредить развитие у пациентов гепатоцеллюлярной карциномы.

В принятом в 2016 г. документе ВОЗ «Глобальная стратегия сектора здравоохранения по вирусному гепатиту 2016-2021 – на пути к ликвидации вирусного гепатита» констатируется: «Цель положить конец эпидемиям гепатита, представляющего серьезную угрозу для здоровья населения, реально достижима с помощью тех средств и методов, которые имеются в настоящее время и находятся в стадии разработки... Новые возможности позволяют надеяться на достижение элиминации вирусного гепатита в качестве серьезной угрозы здоровью населения».

1.7. Возбудитель вирусного гепатита D (дельта-вирус)

1.7.1. История открытия и классификация вируса гепатита дельта

При анализе клинического течения вирусного гепатита В неоднократно отмечалось, что в ряде случаев инфекция ВГВ проявляется как крайне тяжелый (*фульминантный*) гепатит с быстрым прогрессированием и развитием печеночной недостаточности, приводящей к летальному исходу.

В 1977 г. М. Ризетто с соавт. (Италия, Турин) методом иммунной флюоресценции исследовали биоптаты печеночной ткани пациентов с вирусным гепатитом В. В ядрах гепатоцитов они обнаружили ранее неизвестный вирусный АГ. Впоследствии он был ассоциирован с новым сателлитным вирусом, поражающим пациентов с инфекцией ВГВ. Данный новый вирус получил название ***вирус гепатита дельта*** (или ***вирус гепатита D***).

В дальнейшем было установлено, что большинство случаев тяжелой ВГВ-инфекции возникает при дополнительном заражении таких пациентов дельта-вирусом.

Возбудитель вирусного гепатита D (ВГD) не относится к какому-либо известному вирусному семейству (неклассифицируемый вирус). В современной классификации представлен отдельный род *Deltavirus* с единственным видом «***вирус гепатита дельта***».

1.7.2. Свойства вируса гепатита D

Вирион имеет *сферическую* форму, *кубический* тип симметрии; диаметр вириона около 40 нм.

Геном дельта-вируса представлен *минус-нитевой одноцепочечной кольцевидной РНК* весьма малых размеров (1,7 тыс. нуклеотидов).

Геномная РНК проявляет свойства *рибозима* – обладает собственной РНКазной активностью. РНК вируса кодирует один капсидный *дельта-АГ (HD АГ)*.

Вирус гепатита D является *дефектным сателлитным* вирусом. Он не способен к самостоятельной репликации в гепатоцитах. Для его репродукции требуется участие *вируса гепатита В* (вирус-хелпер). Из HBs АГ вируса гепатита В и клеточных липидов образуется внешняя оболочка (*суперкапсид*) дельта-вируса.

Для проникновения в гепатоцит дельта-вирус использует тот же механизм, что и вирус гепатита В.

Репликация вирусной РНК происходит в ядре при помощи клеточных РНК-полимераз. Линейная (+) цепь РНК транслируется на рибосомах с образованием дельта-АГ. В цитоплазме гепатоцитов дельта-АГ образует нуклеокапсид с геномной кольцевой вирусной РНК.

Нуклеокапсид покрывается внешней оболочкой, состоящей из HBs АГ и клеточных липидов. Вирус гепатита D покидает клетку путем почкования.

1.7.3. Характеристика вирусного гепатита D

Согласно оценкам ВОЗ, в настоящее время до 15 млн человек имеют хроническую сочетанную ВГВ и ВГD-инфекцию, что составляет около 5% от общего числа пациентов с ВГВ.

Потребители инъекционных наркотиков, а также лица, регулярно получающие препараты крови или ее компоненты, являются основными группами риска при вирусном гепатите D.

Источник заражения – инфицированный **человек**.

Механизмы передачи дельта-инфекции соответствуют ВГВ (*парентеральный гепатит*). Однако гепатит D лишь в редких случаях передается перинатально, а также не относится к болезням, передаваемым половым путем (низкий риск инфицирования).

Для гепатита D известны две формы заражения: **коинфекция**, при которой происходит *одномоментное* заражение вирусами гепатита В и D, и **суперинфекция** – последующее заражение дельта-вирусом носителя вирусного гепатита В.

Инкубационный период вирусного гепатита D составляет от 2 до 12 недель.

При одновременной **коинфекции ВГВ и ВГД** клиническая картина заболевания может быть различной вплоть до тяжелых форм острого вирусного гепатита, однако выздоровление наступает у 95% пациентов. В хроническую форму инфекция переходит менее чем в 5% случаев.

Иная ситуация наблюдается при **суперинфекции ВГД**. Наличие дельта-вируса значительно утяжеляет течение HBV-гепатита и ухудшает прогноз. Во многих случаях развивается тяжелый фульминантный гепатит с летальностью до 70-90%. У остальных пациентов (свыше 90% случаев) развивается хронический гепатит D с высоким риском прогрессирования и переходом в цирроз печени.

1.7.4 Лабораторная диагностика вирусного гепатита D

Материалом для исследования является **кровь** пациента, пунктат ткани печени.

В диагностике вирусного гепатита D основными являются **серологические методы** – в сыворотке определяют вирусный **дельта-АГ** и **анти-дельта АТ** к вирусу при помощи **ИФА**.

В пунктате клеток печени дельта-АГ может быть выявлен методом иммунной флюоресценции.

При острой инфекции обнаруживаются противовирусные АТ класса IgM. Они являются показателем активной репликации вируса. АТ класса IgG могут сохраняться в течение нескольких лет после перенесенной острой инфекции.

Для обнаружения вирусной РНК используют **ОТ-ПЦР**.

При хронической дельта-инфекции маркеры репликации HBV обычно отсутствуют, однако наблюдаются лабораторные признаки тяжелого поражения печени.

1.7.5. Лечение и профилактика вирусного гепатита D

Специфическая противовирусная **химиотерапия ВГД** пока не разработана. Для лечения могут применяться препараты альфа-интерферона, однако их эффективность не превышает 20%.

В основе **профилактики** распространения дельта-инфекции лежит широкий охват населения вакцинацией против гепатита В. Массовая иммунизация HBs-вакциной значительно снизила количество новых случаев вирусного гепатита D.

Однако вакцинация не может защитить хронических носителей вируса гепатита В от суперинфекции дельта-вирусом.

II. СЕМЕЙСТВО *Adenoviridae*. ВОЗБУДИТЕЛИ АДЕНОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА

В 1953 г. в лаборатории Р. Хюбнера (США) У. Роу обнаружил в ткани аденоидов здоровых детей присутствие нового ранее неизвестного вируса. Приблизительно в это же время ряд сходных вирусов был выделен М. Хиллеманом, изучавшим этиологию респираторных инфекций среди военнослужащих. Позднее Ф. Нева и Дж. Эндерс выделили аналогичный вирус из кишечника ребенка, а Л. Кьеллен – из мезентериальных лимфоузлов.

Исходя из общности серологических свойств, эти вирусы были объединены в единую группу и впоследствии получили название *аденовирусов* (от греч. *adenos* – железа).

2.1. Классификация

Аденовирусы относятся к одноименному семейству *Adenoviridae*, состоящему из 5 родов. К этим родам принадлежат многочисленные аденовирусы млекопитающих, птиц, рыб.

Аденовирусы человека входят в род *Mastadenovirus* (аденовирусы млекопитающих). Согласно современной классификации, данный род включает 36 видов вирусов.

Возбудители аденовирусных инфекций человека представлены 7 видами (группами) – *human mastadenovirus A-G*.

Внутри видов аденовирусы разделяются на множественные *типы*, которым присваивается порядковый номер. Первоначально типирование проводилось серологическими методами (РТГА, реакция нейтрализации). В настоящее время деление аденовирусов на типы выполняется методами молекулярной генетики (секвенирование вирусного генома). Установлено не менее 67 типов аденовирусов человека.

2.2. Свойства аденовирусов человека

2.2.1. Морфология и ультраструктура

Представители аденовирусов имеют вирион *сферической* формы среднего размера диаметром 70-100 нм.

Вирионы обладают *кубическим* типом симметрии, не имеют суперкапсида (*простые* вирусы).

Вирусный капсид включает 252 капсомера. Среди них различают 240 *гексонов* и 12 *пентонов*. Боковые капсомеры (*гексоны*) имеют контакт с шестью соседними. *Пентоны*, взаимодействующие с пятью ближайшими капсомерами-гексонами, формируют вершины капсида.

От пентонов отходят *фибры* – гликопротеиновые фибриллы, выполняющие рецепторную функцию. Они проявляют *гемагглютинирующую активность*.

В гексонах расположены родо-, видо- и типоспецифические *антигены*, в фибрах – *типоспецифические АГ*.

Геном аденовирусов представлен *линейной двухцепочечной ДНК*. В своем составе он имеет до 40 генов, определяющих синтез вирусных белков и регуляторных РНК. В экспериментах на животных установлено, что отдельные гены аденовирусов обладают свойствами онкогенов и могут вызывать опухоли у различных видов млекопитающих.

В процессе репродукции аденовирусов первичные РНК-транскрипты подвергаются альтернативному сплайсингу с образованием нескольких иРНК, кодирующих вирусные белки.

Выделяют *ранние* и *поздние* аденовирусные белки. Среди них установлены белки-ферменты (ДНК-полимераза, протеаза); многочисленные *регуляторные* белки, контролирующие процессы транскрипции вирусного генома; *структурные* белки, образующие вирусный капсид.

Ряд белков выступает в роли *факторов вирулентности* в инфекционном процессе.

Рецепторные белки аденовирусов находятся в фибрах. В ходе инфекции они взаимодействуют с рецепторами клеточных мембран и активируют проникновение вируса.

Отдельные белки аденовирусов *ингибируют апоптоз* инфицированных клеток и *подавляют противовирусный иммунитет* (нарушают презентацию АГ молекулами HLA I класса, снижают активность ЕК-клеток и Т-лимфоцитов, угнетают секрецию цитокинов – интерферонов, ФНО).

2.2.2. Устойчивость вирионов

Аденовирусы обладают повышенной резистентностью к внешним воздействиям. Они сохраняют жизнеспособность в окружающей среде в течение нескольких недель при комнатной температуре, при 4°C – в течение нескольких месяцев. На различных поверхностях и предметах обихода могут находиться в течение 3 месяцев. В воде открытых водоемов и сточных водах сохраняются неделями.

Вирусы теряют жизнеспособность при инкубации в течение 30 мин при температуре 56°C и в течение 2 мин – при 60°C; инактивируются под действием ультрафиолета.

Чувствительны к хлорсодержащим дезинфектантам, формальдегиду, устойчивы к эфиру, детергентам.

2.2.3. Культивирование

Эффективная репродукция аденовирусов наблюдается в эпителиальных клеточных культурах. Они хорошо размножаются в культурах клеток эпителия человека, амниотических клетках, перевиваемых линиях HeLa и Нер-2. В клетках образуют *внутриядерные включения*. Цитопатическое действие наблюдается в сроки от 1 до 4 суток, при этом происходит округление клеток и отслоение монослоя от поверхности. Индикация аденовирусов в клеточных культурах возможна с помощью гемагглютинации.

2.3. Репродукция аденовирусов

Аденовирусы обладают тропизмом ко многим эпителиальным клеткам, лейкоцитам. Фибры большинства аденовирусов взаимодействуют с мембранными *CAR-рецепторами* (coxsackie adenovirus receptor). Кроме того, аденовирусы могут поступать в клетки, связываясь с молекулами CD46.

Возбудители проникают в цитоплазму клеток путем *эндоцитоза*. Депротенинизация вирионов завершается вблизи клеточного ядра.

Репликация аденовирусов происходит в *ядрах* зараженных клеток. ДНК вирусов поступает в ядро, где существует в виде эписом. Интеграция вирусной ДНК с клеточным геномом возможна, однако происходит редко.

Вирусные РНК синтезируются при помощи фермента клеточной РНК-полимеразы II с матриц обеих цепей ДНК. После сплайсинга

иРНК транслируются на рибосомах с образованием ранних и поздних вирусных белков.

Ранние белки в основном обслуживают репликацию вирусной ДНК, поздние – входят в состав капсида.

Репликация геномной ДНК осуществляется вирусной ДНК-полимеразой.

Сборка вируса происходит в ядре с участием вирусной протеазы.

Выход аденовирусов сопровождается набуханием, *агрегацией*, реже – *лизисом* зараженных клеток. Возможно формирование *латентной инфекции*.

Длительность репродуктивного цикла аденовирусов составляет около 24 ч.

2.4. Характеристика различных форм аденовирусной инфекции человека

В большинстве случаев аденовирусные заболевания проявляются как *острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ)* с вовлечением слизистых оболочек дыхательных путей, миндалин, конъюнктивы.

Тем не менее, большое разнообразие типов аденовирусов, поражающих эпителий и лимфоидную ткань человека разной локализации, обуславливает широкий спектр клинических проявлений этих инфекций. Они составляют 5-10% от всех вирусных инфекций человека. Наиболее часто аденовирусной инфекцией болеют дети.

Ведущим местом для размножения и последующего длительного пребывания (*персистенции*) аденовирусов являются лимфоидные органы – аденоиды, миндалины, лимфоидная ткань кишечника, лимфоузлы.

Многие типы аденовирусов обладают повышенным сродством (*тропизмом*) к эпителию дыхательных путей, кишечника, конъюнктивы и роговицы глаза, органов мочеполовой системы (мочевой пузырь, уретра, шейка матки).

Основные *пути передачи* аденовирусных инфекций – ***воздушно-капельный*** и ***алиментарный***; возможна ***контактная*** передача возбудителей.

Инфицирующая доза вируса очень мала – несколько десятков вирусных частиц.

Источник инфекции – человек в острой фазе заболевания или выздоравливающий (реконвалесцент). После завершения клинической инфекции пациент может выделять вирус еще в течение 3-6 недель.

Инкубационный период в среднем составляет 6-7 дней.

Короткий инкубационный период наблюдается при аденовирусной фарингоконъюнктивальной лихорадке (около 2-3 дней).

Возбудители попадают в лимфоидную и эпителиальную ткань, где размножаются. Вирусные белки угнетают активность системы иммунитета, подавляя синтез клетками основных цитокинов (интерферонов и ФНО). Также они блокируют апоптоз клеток, зараженных вирусом.

Свыше 50% случаев аденовирусной инфекции протекает в легкой малосимптомной форме, завершаясь выздоровлением в течение 1-3 недель. Однако в ряде случаев инфекция может протекать тяжело, особенно у лиц с иммуносупрессией.

Различают следующие клинические формы аденовирусной инфекции:

- острый фарингит и тонзиллит;
- фарингоконъюнктивальная лихорадка;
- острые респираторные инфекции верхних дыхательных путей у детей и взрослых;
- аденовирусная пневмония;
- аденовирусный гастроэнтерит;
- аденовирусные глазные инфекции;
- острый геморрагический цистит;
- уретрит и цервицит;
- генерализованные аденовирусные инфекции с поражением внутренних органов – гепатит, гломерулонефрит, миокардит, менингоэнцефалит.

Также установлена взаимосвязь аденовирусной инфекции с развитием ожирения.

Острый аденовирусный фарингит проявляется воспалением, отеком и болезненностью слизистой оболочки носоглотки, миндалин, увеличением регионарных лимфоузлов.

Фарингоконъюнктивальная лихорадка чаще поражает детей в летний период с развитием триады симптомов – лихорадка, фарингит,

конъюнктивит. Заболевание может передаваться через воду с развитием эпидемических вспышек («бассейновый конъюнктивит»). Наиболее частые возбудители – аденовирусы типов 3, 7, 14.

Отдельный ряд аденовирусов, включающий типы 3, 7 и некоторые другие, способен вызывать вирусные *бронхиолиты* и *пневмонии*. До 10% пневмоний в детском возрасте обусловлено аденовирусами. Во многих случаях они имеют тяжелое течение. У детей первых месяцев жизни летальность от аденовирусных пневмоний может превышать 5%.

Аденовирусы типов 40 и 41 являются частыми возбудителями *вирусного гастроэнтерита* (до 10% всех случаев вирусных инфекций ЖКТ у детей раннего возраста).

Аденовирусные *глазные инфекции* протекают в форме *фолликулярного конъюнктивита* и *эпидемического кератоконъюнктивита*. Возбудителями последнего являются аденовирусы типов 8, 19, 37.

Аденовирусы типов 11 и 21 вызывают тяжелый *геморрагический цистит*, вирусы типа 37 – уретрит и цервицит.

Генерализованные аденовирусные инфекции, сопровождающиеся виремией, поражением ЦНС и внутренних органов (менингоэнцефалит, гепатит, миокардит), всегда протекают тяжело. Часто они развиваются у лиц с иммуносупрессией после курсов химиотерапии (онкопатология, трансплантация органов и тканей).

Иммунитет после аденовирусной инфекции типоспецифический, поддерживается нейтрализующими АТ класса IgG и секреторными IgA-АТ слизистых оболочек и лимфоидной ткани. Повторные инфекции наблюдаются регулярно, обычно они вызываются другими типами аденовирусов. Более 90% взрослого населения имеет в сыворотке крови АТ к наиболее часто встречающимся сероварам аденовирусов. У детей в возрасте до 6 месяцев сохраняется естественный пассивный иммунитет, обусловленный материнскими противовирусными антителами.

2.5. Лабораторная диагностика аденовирусных инфекций

Материалы для исследования в зависимости от формы инфекции – носоглоточный смыв, отделяемое конъюнктивы, при

аденовирусном гастроэнтерите – фекалии, вирусном геморрагическом цистите – моча.

В качестве **экспресс-методов** для непосредственного определения вирусных антигенов в материале применяют реакцию иммунной флюоресценции (*РИФ*), иммуноферментный анализ (*ИФА*), латекс-агглютинацию.

С целью выявления вирусной ДНК используют *ПЦР*. Метод ПЦР обладает максимальной чувствительностью и специфичностью при диагностике аденовирусной инфекции.

Прямое обнаружение вирусных частиц в фекалиях может быть выполнено методом электронной микроскопии.

Культивирование возбудителей (*вирусологический метод*): для выделения аденовирусов используют клетки Нер-2, HeLa, амниона человека и др.

Индикацию вирусов производят по ЦПД (увеличение, набухание и округление клеток, гроздеобразование), а также в реакции гемагглютинации.

Для *идентификации* аденовирусов применяют **реакцию нейтрализации ЦПД** в культуре клеток и **РТГА** с типоспецифическими антителами.

Молекулярно-генетическую идентификацию вида (группы) и типа аденовирусов проводят при помощи **ПЦР** и методами *секвенирования* вирусного генома.

С целью **серодиагностики** для определения противовирусных АТ обычно выполняют реакции *с парными сыворотками* (ИФА, латекс-агглютинация, РТГА, реакция нейтрализации). Нарастание титра АТ в ходе инфекции в 4 и более раз расценивают как положительный результат.

2.6. Лечение и профилактика аденовирусных инфекций

До настоящего времени *не разработаны* методы эффективного **лечения** аденовирусной инфекции с помощью химиотерапевтических средств. При тяжелых формах возможно назначение цидофовира либо рибавирина. В остальных случаях лечение аденовирусных заболеваний преимущественно поддерживающее и симптоматическое.

Специфическая профилактика аденовирусной инфекции также пока *не проводится*. В процессе разработки находятся

экспериментальные типоспецифические вакцины на основе живых аттенуированных штаммов аденовирусов.

Неспецифическая профилактика инфекции включает деконтаминацию сточных вод, контроль дезинфекции воды бассейнов, поддержание надлежащих санитарных условий в детских коллективах и медицинских учреждениях.

III. СЕМЕЙСТВО *Parvoviridae*. ПАРВОВИРУС ПРИМАТОВ 1 (парвовирус B19) – ВОЗБУДИТЕЛЬ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА

Парвовирусы (от лат. *parvum* – маленький) – наиболее мелкие ДНК-содержащие вирусы, широко распространенные в природе.

Еще в 1928 г. Ж.-Л. Верже и Н. Кристоферони открыли первых представителей парвовирусов среди вирусов животных. В 1973 г. они были выделены в отдельное семейство.

В 1975 г. И. Коссарт в Лондоне, исследуя сыворотки доноров крови на присутствие вируса гепатита В, обнаружила в одной из них ранее неизвестный вирус. Им оказался первый (и в течение длительного времени единственный) парвовирус, вызывающий патологию у человека. Он получил название «*парвовирус B19*».

В начале 1980-х гг. этиологическая роль данного вируса была установлена для целого ряда заболеваний, среди которых – апластический криз (резкое снижение числа эритроцитов) у детей с серповидноклеточной анемией (Дж. Паттисон с соавт., 1981 г.); инфекционная эритема (М. Андерсон с соавт., 1984 г.); парвовирусный артрит (артропатия); осложнения беременности и патология плода, хроническая гемолитическая анемия у пациентов с иммуносупрессией.

Позднее (в 2005 г.) методами молекулярной генетики Т. Алландер с соавт. (Швеция) открыли способность *бокавирусов* – представителей другого рода из семейства парвовирусов – вызывать у человека острые респираторные инфекции.

3.1. Классификация

Семейство *Parvoviridae* включает 2 подсемейства, 13 родов и более 60 вирусных видов. К семейству принадлежат многочисленные парвовирусы птиц, животных, насекомых.

Согласно современной классификации, вызывающий патологию у человека *парвовирус B19* относится к подсемейству *Parvovirinae*, роду *Erythroparvovirus*, виду *Primate erythroparvovirus 1* (*парвовирус приматов 1*). Известно 3 генотипа вируса.

Принадлежность возбудителя к роду *Erythroparvovirus* указывает на его тропизм к клеткам эритроцитарного ряда.

Патогенные для человека бокавирусы относятся к роду *Bocaparvovirus*. Они вызывают ОРВИ, бронхиты и вирусные пневмонии преимущественно у детей в возрасте до 5 лет.

3.2. Свойства парвовируса B19

3.2.1. Морфология и ультраструктура

Вирион парвовируса B19 имеет *сферическую* форму, *кубический* тип симметрии и весьма мелкие размеры (20-25 нм).

Парвовирусы не имеют внешней оболочки-суперкапсида (*простые* вирусы).

Геном парвовирусов представлен *линейной одонитевой ДНК*, причем у вируса B19 в разных вирионах может быть либо позитивная цепь ДНК, либо негативная. Эти цепи комплементарны друг другу.

Вирусный нуклеокапсид состоит из 60 капсомеров. Капсид включает два структурных белка – *VP1* и *VP2*, а также один неструктурный белок *NS1*.

Белок *VP2* является мажорным белком капсомеров (>95%); он образует мелкие выступы на поверхности вириона. Данный белок обладает свойствами *гемагглютинина* и выполняет основную функцию *вирусного рецептора*, связываясь с *P-антигеном* клеток эритроидной линии.

Дополнительно VP2 обеспечивает сборку вирионов; также в ходе инфекции он вызывает образование аутоантител против структурных компонентов тканей (коллагена, кератина, фосфолипидов, кардиолипина).

Оба белка VP1 и VP2 индуцируют образование вируснейтрализующих антител, выступая в роли *вирусных АГ*.

Неструктурный белок *NS1* обеспечивает репликацию вирусного генома, участвует в сборке и выходе вирионов из ядра. Он обладает ферментативной активностью (АТФазной, хеликазной, нуклеазной).

В процессе инфекции белок NS1 проявляет выраженную *цитотоксичность* – запускает *апоптоз* инфицированных клеток.

3.2.2. Устойчивость вирионов

Парвовирусы обладают повышенной резистентностью к внешним воздействиям. Они сохраняют инфекциозность при прогревании 56°C в течение 1 часа, однако моментально инактивируются при температуре 100°C. Жизнеспособны при pH 3,0.

Устойчивы к липидным растворителям (спирт, эфир); чувствительны к хлорсодержащим дезинфектантам, формальдегиду и глютаровому альдегиду, действию щелочей.

3.2.3. Культивирование

Парвовирус В19 *не размножается* в традиционных клеточных культурах, курином эмбрионе или лабораторных животных. В исследовательских целях он может культивироваться на опухолевых клеточных линиях эритроидного или мегакариобластоидного ряда.

3.3. Репродукция парвовируса В19

Парвовирус В19 высокоспецифично взаимодействует с клетками, несущими мембранный ***P-антиген*** системы групп крови. По химическому строению данный рецептор представляет собой гликолипид *глобозид*.

Помимо клеток эритроцитарного звена, Р-антиген присутствует на мегакариоцитах, клетках эндотелия, в синовиальной ткани, клетках паренхимы внутренних органов (печени, почек, легких), миоцитах плода. Вирус может обнаруживаться в некоторых из них, однако активная репликация вируса здесь не установлена.

Корецепторами для эффективного проникновения вируса в клетку являются мембранные молекулы семейства ***интегринов***.

Репродукция парвовирусов происходит только в быстро делящихся клетках, находящихся в S-фазе синтеза ДНК с активной клеточной ДНК-полимеразой.

Цикл репродукции включает несколько стадий:

- адсорбция на мембранных рецепторах клеток хозяина;
- проникновение в клетку посредством ***эндоцитоза***;
- выход из эндосомы и миграция вирионов в ***ядро***;
- депротенинизация вирусов в ядре;
- репликация вирусной ДНК с участием *клеточной ДНК-полимеразы* и неструктурного белка *NSP1* с образованием промежуточной двухцепочечной вирусной ДНК;
- транскрипция вирусных иРНК с помощью *клеточных РНК-полимераз*; трансляция вирусных белков на рибосомах; завершение репликации ДНК;
- сборка нуклеокапсидов в ядре клетки с упаковкой одноцепочечной вирусной ДНК;

- транспортировка вирионов в цитоплазму;
- выход вирионов с *лизисом* клетки.

3.4. Характеристика парвовирусных инфекций человека

Клетки-мишени для парвовируса В19 должны иметь рецепторный ***Р-антиген***. К таким клеткам относятся, в первую очередь, ***предшественники эритроцитов*** в костном мозге и селезенке.

Лица, у которых Р-антиген отсутствует, генетически устойчивы к парвовирусным заболеваниям.

Парвовирусная инфекция высоко контагиозна. К группе риска относятся медицинские работники, члены семьи заболевшего пациента, беременные. Преимущественно поражаются дети в возрасте от 2 до 15 лет. Эпидемические подъемы инфекции встречаются в зимне-весенний период.

Повсеместное наличие специфических антител класса IgG свидетельствует о высокой восприимчивости к вирусу. К 30 годам антитела выявляются у 50-60% людей, после 60 лет – у 85% населения.

В результате действия парвовируса В19 развиваются следующие клинические формы инфекции:

- ***инфекционная эритема*** у детей;
- парвовирусный артрит (***артропатия***);
- транзиторный (преходящий) ***апластический криз*** у лиц с врожденными дефектами эритроцитов;
- ***осложнения беременности и патология плода*** (неимунная водянка плода, врожденная анемия, спонтанный аборт или преждевременные роды);
- ***хроническая гемолитическая анемия*** у пациентов с иммуносупрессией и ВИЧ-инфицированных;
- у реципиентов после трансплантации – миокардит, хроническая инфекция с поражением внутренних органов, в отдельных случаях – отторжение трансплантата.

Источник инфекции – заболевший ***человек*** или вирусоноситель.

Основной *путь передачи* – ***воздушно-капельный***. Заражение также возможно ***контактным*** путем, ***трансплацентарно***, после

гемотрансфузий и трансплантации органов, не исключается половой путь передачи.

Инкубационный период обычно составляет от 4 до 16 дней.

У 20% зараженных инфекция протекает в легкой или субклинической форме.

В типичных случаях вирус В19 поступает через верхние дыхательные пути, распространяется по организму и заражает клетки-предшественники эритроцитов в костном мозге и селезенке. При репликации вируса в клетках эритроидного ряда происходит их лизис, что ведет к развитию гемолитической анемии. Одновременно развивается лейкопения и тромбоцитопения. Также парвовирус В19 вызывает патологические изменения в синовиальной ткани, печени, миокарде.

Обычно болезнь протекает в два периода.

Первичный период характеризуется виремией, длится 1-2 недели и является наиболее заразным, особенно в первые 7 дней, когда вирус выделяется из верхних дыхательных путей. Характерны субфебрильная температура, воспаление верхних дыхательных путей, конъюнктивит. Изменения сопровождаются анемией, тромбоцитопенией.

Второй период наступает через 2-3 недели с появлением сыпи, артралгий и артрита. Причиной сыпи являются иммунокомплексные механизмы поражения капилляров. При появлении сыпи пациент не заразен.

У детей парвовирусная В19-инфекция часто проявляется как **инфекционная эритема**: на обеих щеках появляется ярко-красная сыпь (*синдром «отшлепанных щек»*), затем через 1-4 дня на теле, верхних и нижних конечностях появляется вторичная пятнисто-папулезная сыпь.

У взрослых основным проявлением инфекции является артралгия и симметричные артриты мелких суставов конечностей без деформации.

Течение болезни обычно имеет самолимитирующий характер и завершается выздоровлением.

У пациентов, имеющих исходную патологию эритроцитов или гемоглобина (серповидноклеточная анемия, микросфероцитоз, аутоиммунная гемолитическая анемия, ферментные дефекты эритроцитов и др.) часто развиваются **апластические кризы** с острым снижением числа эритроцитов и уровня гемоглобина. При глубоком

поражении костного мозга данное состояние угрожает жизни пациента.

Инфицирование парвовирусом В19 в I и II триместре беременности может приводить к самопроизвольному аборту (до 10% случаев). Считается, что вирус не обладает прямым тератогенным действием, однако при трансплацентарном заражении часто наблюдается неимунная водянка плода, врожденная анемия плода и тромбоцитопения.

У лиц с выраженным иммунодефицитом (например, при ВИЧ-инфекции) парвовирусная инфекция ведет к развитию *хронической гемолитической анемии*.

Заражение реципиентов после трансплантации органов ведет к хронической парвовирусной инфекции и может стать причиной отторжения трансплантата.

Иммунитет к вирусу В19 обусловлен, главным образом, *гуморальными реакциями* и сопровождается выработкой противовирусных антител классов IgM и IgG. Уровень IgM вырастает в первые 2 недели заболевания, затем появляются антитела IgG, которые сохраняются в течение всей жизни.

3.5. Лабораторная диагностика парвовирусных инфекций

Диагноз инфекционной эритемы у детей обычно выставляется исходя из клинических данных с последующим лабораторным подтверждением. В диагностике других форм парвовирусных инфекций наибольшее значение имеют лабораторные методы.

Лабораторная диагностика парвовирусной инфекции включает *серологические* и *молекулярно-генетические* методы анализа.

Серологический метод базируется на выявлении специфических *противовирусных АТ* в сыворотке крови пациентов при помощи **ИФА**. Обнаружение АТ класса IgM указывает на острую инфекцию.

Для индикации *вирусной ДНК* используют **молекулярно-генетические методы**: молекулярную гибридизацию и **ПЦР**. Вирусную ДНК обнаруживают в крови, лейкоцитах, синовиальной жидкости, отделяемом носоглотки, костном мозге, околоплодных водах, плаценте.

Вирусологический метод применяют редко, т.к. в стандартных культурах клеток вирус не способен реплицироваться. Для заражения используют культуры клеток-предшественников эритроцитарного и

мегакариоцитарного ряда, в которых вирус дает типичные внутриядерные включения.

3.6. Лечение и профилактика

Лечение парвовирусных инфекций *симптоматическое*. Пациентам с иммунодефицитом назначают иммуноглобулин для внутривенного введения.

Специфическая профилактика *не разработана*. Следует учитывать, что парвовирусы могут контаминировать предметы обихода, препараты крови, вакцины и клеточные культуры, поэтому основную роль в предупреждении распространения инфекции по-прежнему играют меры *неспецифической профилактики*.

IV. СЕМЕЙСТВО *Herpesviridae*. ГЕРПЕСВИРУСЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА

Герпетическая инфекция (от греч. *herpein* – ползти, ползучий) является одной из самых распространенных в человеческой популяции. Ее первые документальные свидетельства относятся еще к источникам времен античности. Согласно общепринятым оценкам, свыше 90% населения Земли инфицировано различными вирусами герпеса.

К настоящему времени установлена способность не менее 9 видов вирусов герпеса вызывать патологию человека; все они были обнаружены в ходе исследований в XX столетии.

В 1919 г. немецкий врач А. Лёвенштайн доказал вирусную природу инфекций, связанных с вирусом простого герпеса. Некоторое время спустя в 1925 г. К. Кундратитц (Вена, Австрия) установил тождественность возбудителей ветряной оспы и опоясывающего лишая (*herpes zoster*). В начале 1940-х гг. немецкий вирусолог Г. Руска обнаружил данный вирус методом электронной микроскопии; окончательное выделение вируса было проведено Т. Веллером (США) в 1952 г.

В 1955-1956 гг. М. Смит (США) впервые выделила культуру ЦМВ – цитомегаловируса человека.

В 1964 г. М. Эпштейн, Б. Ачонг и И. Барр (Великобритания) открыли новый герпесвирус человека, выделенный из лимфомы Беркитта, который впоследствии был назван вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ). Далее в 1968 г. Вернер и Гертруда Генле (Филадельфия, США) доказали, что ВЭБ вызывает у людей инфекционный мононуклеоз.

Первый лимфотропный герпесвирус человека (вирус герпеса 6 типа) впервые выделили С.З.Салахутдин с соавт. (1986 г.), работавшие в лаборатории Р. Галло в США. К. Яманиси с соавт. (Япония) показали, что данный вирус вызывает внезапную экзантему у детей; впоследствии в 1988 г. им удалось открыть еще один вид вируса герпеса 6 типа.

Другой лимфотропный вирус герпеса (герпесвирус 7 типа) был впервые выявлен Н. Френкель (США) в 1990 г.

Наконец в 1994 г. был установлен возбудитель саркомы Капоши, часто возникающей у пациентов с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД –

вирус герпеса 8 типа. Этот вирус открыли в 1994 г. П. Мур и Ю. Чанг (США).

4.1. Классификация

Группа герпесвирусов является чрезвычайно распространенной в природе и весьма многочисленной. Согласно современной классификации эта группа включает до 90 видов вирусов, поражающих моллюсков, амфибий, пресмыкающихся, рыб, птиц, млекопитающих и человека.

Герпесвирусы включены в порядок *Herpesvirales*, состоящий из 3-х семейств. Вирусы герпеса, поражающие человека, относятся к семейству *Herpesviridae*. Установлено 8 *типов* вирусов герпеса человека, относящихся к 9 вирусным видам.

Само семейство *Herpesviridae* разделяется на 3 подсемейства.

К подсемейству *Alphaherpesvirinae* относится род *Simplexvirus*.

Он включает вид альфа-герпесвирус человека 1 (или *вирус простого герпеса типа 1 – ВПГ-1*), а также вид альфа-герпесвирус человека 2 (известный как *вирус простого герпеса типа 2 – ВПГ-2* или вирус генитального герпеса).

Кроме них в подсемейство *Alphaherpesvirinae* входит род *Varicellovirus* с видом альфа-герпесвирус человека 3 (известный как *вирус ветряной оспы и опоясывающего лишая, герпесвирус типа 3, варицелла-зостер вирус*).

Подсемейство *Betaherpesvirinae* включает род *Cytomegalovirus* (вид бета-герпесвирус человека 5, или *тип 5*, или *цитомегаловирус – ЦМВ*).

Также в это подсемейство входит род *Roseolovirus*. Он содержит виды бета-герпесвирусы человека **6А** и **6В** (герпесвирусы *типа 6*) и вид бета-герпесвирус человека 7 (*тип 7*).

Наконец, подсемейство *Gammaherpesvirinae* также содержит возбудителей, патогенных для человека.

В его состав входят род *Lymphocryptovirus* с видом гамма-герпесвирус 4, или *тип 4*, известный как вирус *Эпштейна-Барр (ВЭБ)*, и род *Rhadinovirus* с видом гамма-герпесвирус 8, также известный как *герпесвирус типа 8* или *герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши*.

4.2. Общие свойства герпесвирусов

4.2.1. Морфология и ультраструктура

Герпесвирусы представлены крупными вирионами *сферической* формы диаметром 150-200 нм.

Тип симметрии вирионов – *кубический*. Капсид состоит из 162 капсомеров.

Частицы вирусов герпеса окружены липидной оболочкой-*суперкапсидом* (сложные вирусы). Компоненты суперкапсида включают липиды, полученные из мембран инфицированных клеток. На поверхности вирусных частиц имеются многочисленные шипы – гликопротеиновые рецепторы.

Между нуклеокапсидом и внешней липидной оболочкой располагается отдельный белковый слой-*тегумент*, включающий более 20 вирусных белков.

Геном герпесвирусов представлен *линейной двухцепочечной ДНК*. Степень гомологии ДНК между различными представителями семейства невысокая – у возбудителей из рода *Simplexvirus* ВПГ-1 и ВПГ-2 она достигает 50%, у вирусов герпеса 6 и 7 типов – до 30-50%, между другими возбудителями – еще менее.

Геномная ДНК кодирует свыше 100 вирусных белков. Около 40 полипептидов и белков входит в состав зрелых вирионов вирусов герпеса. Часть из них образует наружные гликопротеиновые шипы с *рецепторной* функцией. У вирусов простого герпеса к ним относятся гликопротеины *gB* и *gD*.

Отдельные белки являются типоспецифическими *антигенами* герпесвирусов (для вирусов простого герпеса – белки *gG* и *gC*). Другие белковые АГ могут быть общими для различных типов герпесвирусов.

В процессе репродукции герпесвирусы синтезируют многочисленные *регуляторные белки* и *ферменты* (ДНК-полимеразу, тимидинкиназу, протеинкиназы и мн. др.). Большинство из них не включается в состав зрелых вирусных частиц.

Ряд вирусных белков играет роль *факторов вирулентности* в ходе инфекции. В состав тегумента входит белок *Vhs* (*viral host shutoff protein*), *выключающий синтез собственных белков* в клетках хозяина. Данный белок обладает РНКазной активностью, разрушая клеточные иРНК.

Многие белки герпесвирусов *подавляют активность факторов иммунитета*. Они останавливают синтез интерферонов в

зараженных клетках; нарушают презентацию вирусных АГ в комплексе с HLA I класса на мембранах; блокируют клеточный фактор транскрипции NF- κ B, что ведет к угнетению синтеза провоспалительных цитокинов.

4.2.2. Устойчивость вирионов

Устойчивость герпесвирусов к действию факторов окружающей среды сравнительно невысока и зависит от типа вируса. При высушивании они сохраняются на поверхности различных объектов в течение нескольких часов или дней (цитомегаловирусы) или даже нескольких недель (вирусы простого герпеса). ВПГ-2 в целом более чувствителен к внешним воздействиям, чем ВПГ-1.

Наименее устойчив вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ). Его нельзя выделить с объектов окружающей среды в связи с быстрой утратой жизнеспособности.

Все герпесвирусы инактивируются при $pH < 4,0$; теряют жизнеспособность под действием солнечного света и УФ-облучения.

Прогревание при температуре 60-80°C в течение 30 мин также приводит к полной утрате жизнеспособности герпесвирусов.

Их вирионы чувствительны к действию большинства дезинфектантов и антисептиков – галогенпроизводным (гипохлориту натрия, повидон-йоду), фенолу, альдегидам, этанолу, изопропанолу и другим соединениям.

4.3. Репродукция герпесвирусов

Первичное связывание вирионов с чувствительными клетками исходно обусловлено взаимодействием **гликопротеиновых рецепторов** суперкапсида с *гликозаминогликанами мембран*, такими как *гепаран сульфат*.

Дальнейшее прикрепление и последующий вход вируса в клетку зависят от связывания рецепторов в шипах герпесвирусов (таких как **gD-белок**) с группой клеточных мембранных рецепторов известных как **медиаторы входа** герпесвирусов. К ним относятся молекулы CD111, CD270 и некоторые другие. Они обеспечивают прочную фиксацию вирионов на мембранах клеток.

Вирусы проникают в клетки путем **слияния** суперкапсида с клеточной мембраной. Вирусный капсид доставляется к порам в

ядерной мембране. После депротенизации вирусная ДНК поступает в **ядро**, где происходит репродукция вирусов.

Белок тегумента *Vhs* с РНКазной активностью выключает синтез белков хозяина в зараженной клетке, разрушая клеточные иРНК.

Транскрипция вирусной ДНК происходит с помощью клеточной РНК-полимеразы II.

Первоначально на рибосомах образуются **немедленные ранние** вирусные белки, вслед за ними – **ранние** белки герпесвирусов. Они регулируют экспрессию вирусных генов и репликацию ДНК.

Синтезируются многочисленные **вирусные ферменты** (ДНК-полимераза, тимидинкиназа, хеликаза/праймаза, ДНКаза, протеинкиназы, протеазы и другие), ответственные за репликацию ДНК герпесвирусов и созревание вирусных белков. Ферменты герпесвирусов являются основными мишенями для действия противовирусных лекарственных средств.

Регуляторные вирусные белки угнетают продукцию интерферонов и других противовирусных цитокинов в зараженных клетках.

Репликация геномной ДНК выполняется вирусной ДНК-полимеразой. С момента ее начала активируется трансляция **поздних** вирусных белков. Большинство из них составляют **структурные** белки герпесвирусов. Они синтезируются в цитоплазме клетки, а затем транспортируются обратно к внутренней поверхности ядерной мембраны.

Сборка нуклеокапсидов происходит в клеточном ядре. Упакованные нуклеокапсиды покидают ядро путем почкования через ядерную мембрану.

В цитоплазме нуклеокапсид покрывается белковой оболочкой и перемещается к клеточной мембране. **Выход** герпесвирусов из клеток через мембрану происходит **экзоцитозом**; в процессе выхода вирус формирует липидный суперкапсид.

Длительность репродуктивного цикла у разных герпесвирусов существенно отличается – от 8-16 ч для вирусов простого герпеса, до 70 ч и более у цитомегаловирусов.

Завершенный цикл репродукции с накоплением и выходом новых вирусных частиц приводит к **лизису** и гибели зараженных клеток (**продуктивная инфекция**). Она характерна для герпетической инфекции, поражающей клетки эпителия.

Однако после проникновения в нейроны или клетки системы иммунитета часть герпесвирусов переходит в состояние

латентности (латентной инфекции). Их геномная ДНК в кольцевой форме присутствует в клеточном ядре.

При латентной инфекции активность вирусного генома минимальна; экспрессия литических генов останавливается. Это достигается путем синтеза *LAT-РНК* – вирусных транскриптов, ассоциированных с латентностью. *LAT* представляют собой регуляторные микроРНК, которые тормозят экспрессию основных генов герпесвирусов.

В состоянии латентности герпесвирусы сохраняются в зараженных клетках пожизненно (**персистирующая** вирусная инфекция).

Под влиянием внешних факторов и при снижении противовирусного иммунитета наблюдается периодическая реактивация латентных герпесвирусов.

4.4. Характеристика инфекций, вызванных вирусами простого герпеса (ВПГ-1 и ВПГ-2)

4.4.1. Особенности вирусов простого герпеса типов 1 и 2

В сравнении с другими герпесвирусами, геномы ВПГ-1 и ВПГ-2 обладают большей степенью гомологии (около 50%).

Всего в состав вирионов ВПГ входит более 10 гликопротеинов (от *gB* до *gN*). ВПГ-1 и ВПГ-2 имеют общие белковые АГ (гликопротеины *gB* и *gD*) и типоспецифические АГ (белки *gG* и *gC*).

Белок *gG* является основным **типоспецифическим АГ**. Его варианты *gG-1* и *gG-2* присутствуют у ВПГ-1 и ВПГ-2, соответственно. Данные белки используются для серологической идентификации ВПГ в реакциях с типоспецифическими АТ.

Гликопротеины *gB* и *gD* являются **рецепторами** вирусов простого герпеса. Они обеспечивают связывание и проникновение вирусов в чувствительные клетки. Эти белки вызывают образование вируснейтрализующих АТ.

Ряд вирусных белков воздействует на систему иммунитета макроорганизма. Гликопротеин *gC* – это комплемент-связывающий фактор, белок *gE* действует как Fc-рецептор для IgG человека.

Вирусы простого герпеса имеют короткий репродуктивный цикл – 8-16 часов.

4.4.2. Патогенез и характеристика инфекций ВПГ-1 и ВПГ-2

Инфекции, вызванные вирусами простого герпеса, имеют всеобщее распространение. Согласно оценкам ВОЗ, смертность от системных герпетических инфекций составляет до 15% от всех вирусных заболеваний и уступает только смертности от гриппа.

Возбудители обладают **тропизмом** к клеткам *эпителия* и *ЦНС*. Они поражают слизистые оболочки, кожу, ткани глаза, при системной герпетической инфекции – ЦНС и внутренние органы.

Полный спектр заболеваний, вызванных вирусами простого герпеса, весьма широк – от малосимптомного гингивита, стоматита или конъюнктивита, до тяжелых форм генитального герпеса, офтальмогерпеса, энцефалита, системной герпетической инфекции у новорожденных и лиц с иммуносупрессией.

После первичного заражения вирусы простого герпеса формируют **латентную инфекцию в ЦНС**, где персистируют **пожизненно**.

Латентная бессимптомная инфекция сопровождается периодическими обострениями, которые отмечаются у 75% инфицированных лиц.

Источники инфекции – заболевший **человек** или вирусоноситель. Вирус выделяется со слюной и другими биологическими жидкостями.

Вирусы простого герпеса проникают через слизистые или микроповреждения кожи (неповрежденная кожа непроницаема для ВПГ).

ВПГ-1 передается **воздушно-капельным** путем или **контактным** путем (прямой контакт с инфицированной слюной), в том числе при использовании нестерильного инструментария в офтальмологии или стоматологии.

ВПГ-1 является основным возбудителем герпетических инфекций с локализацией в ротовой полости (**лабиальный герпес**, **герпетический стоматит**), в области глаз (**офтальмогерпес** – герпетический кератит, конъюнктивит, увеит).

ВПГ-2 относится к заболеваниям, передаваемым **половым путем (ЗППП)**. Данный тип вируса первично поражает слизистые половых органов (**генитальный герпес**).

Помимо ВПГ-2, в развитии генитального герпеса прогрессивно нарастает доля вирусов ВПГ-1. По данным ВОЗ 2015 г., в мире насчитывается свыше 550 млн лиц, страдающих генитальным герпесом, из них 140 млн инфицированы ВПГ-1.

В свою очередь, инфекция ВПГ-2 может возникать в орофарингеальной области.

Герпес новорожденных вызывается как ВПГ-1, так и ВПГ-2. Механизм передачи – **вертикальный** от матери к ребенку (*трансплацентарно*, во время родов или в послеродовом периоде).

Первичное размножение ВПГ происходит в месте его внедрения. В инфицированных клетках вирус подавляет экспрессию НЛА I класса, тем самым нарушая презентацию вирусных АГ. Это предотвращает удаление зараженных клеток цитотоксическими Т лимфоцитами. В результате размножения вирусов эпителиоциты быстро разрушаются (*цитолитическая инфекция*).

В ходе инфекционного процесса вирусы попадают в локальные нервные окончания. Посредством ретроградного аксонного транспорта они доставляются к чувствительным нейронам дорзальных ганглиев. В ганглиях ЦНС после нескольких циклов репликации ВПГ переходит в состояние **латентности**.

При лабиальном герпесе и офтальмогерпесе **ВПГ-1** персистирует в узлах тройничного нерва (*тригеминальных ганглиях*), **ВПГ-2** при генитальном герпесе – в поясничных (*сакральных*) ганглиях.

Реактивация латентных вирусов герпеса происходит под влиянием самых разных стимулов – переохлаждение, лихорадка, УФ-облучение или воздействие солнечных лучей (повышенная инсоляция), повреждение нервных окончаний, травма, подавление иммунитета и многие другие факторы могут вызвать рецидив герпетической инфекции.

Точные механизмы повторной активации ВПГ пока не установлены. Из ЦНС по аксонам вирусы проникают на периферию в кожу или слизистые. Там они активно размножаются, вызывая обострение инфекции.

Первичная **инфекция ВПГ-1** у детей часто протекает бессимптомно.

При возникновении заболевания *инкубационный период* обычно короткий и в среднем составляет 3-4 дня. Болезнь продолжается около 2-3 недель.

Герпетический **гингивит** и **гингивостоматит** – наиболее частая форма первичной инфекции у детей; у взрослых она проявляется как стоматит, тонзиллит или фарингит.

Лабиальный герпес – основная клиническая форма **рецидива** инфекции ВПГ-1. В области губ возникает местное воспаление с образованием пузырьков (везикул) и изъязвлений.

Первичный *офтальмогерпес* обычно проявляется как тяжелый кератоконъюнктивит.

Генитальный герпес характеризуется везикулярными и язвенными поражениями гениталий, которые весьма болезненны. Из половых путей вирус выделяется до 3 недель. Наблюдаются частые рецидивы инфекции обычно с менее выраженной симптоматикой.

Одной из наиболее тяжелых форм ВПГ-инфекции является *герпетический энцефалит*, который может завершиться летальным исходом.

Генерализованные (системные) формы герпетической инфекции с поражением внутренних органов развиваются у лиц с *иммуносупрессией* (пациенты с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД, онкологические пациенты на химиотерапии и др.).

Герпес новорожденных имеет различные клинические проявления, однако часто переходит в генерализованную инфекцию с вирусемией и энцефалитом. Наиболее тяжело протекает инфекция, вызванная ВПГ-2.

Клеточный иммунитет (цитотоксические Т-лимфоциты и естественные киллеры) и *система интерферона* играют основную роль в защите от ВПГ-инфекции.

Во время первичной герпетической инфекции на короткое время появляются противовирусные АТ класса IgM, затем они сменяются антителами классов IgG и IgA. Противогерпетические АТ сохраняются длительное время. Они не предупреждают развитие рецидивов, но снижают их интенсивность.

4.4.3. Лабораторная диагностика герпетических инфекций

Материал для исследования зависит от формы инфекции – содержимое герпетических везикул, соскоб эпителия, носоглоточный смыв, отделяемое конъюнктивы, при энцефалите – спинномозговая жидкость.

В качестве *экспресс-методов* для определения вирусных антигенов в материале применяют реакцию иммунной флюоресценции (*РИФ*), иммуноферментный анализ (*ИФА*).

Иногда используют *цитологический метод* – из содержимого везикул делают мазок и окрашивают по Романовскому-Гимзе. Выявляют многоядерные клетки с характерными эозинофильными *внутриядерными включениями*.

Ведущим методом лабораторной диагностики герпетической инфекции является **ПЦР**. С ее помощью выявляют ДНК возбудителей в исследуемом материале.

Культивирование герпесвирусов (*вирусологический метод*) проводят в первичных и перевиваемых клеточных культурах, куриных эмбрионах.

Индикацию вирусов в культурах производят по ЦПД (образование многоядерных клеток с включениями, лизис клеток); в хорионаллантоисной мембране куриных эмбрионов наблюдаются бляшки.

Для **идентификации** применяют **реакцию нейтрализации ЦПД** в культуре клеток, а также иммунофлюоресценцию.

При проведении **серодиагностики** первичной герпетической инфекции на 4-7 день от начала заболевания обнаруживают противовирусные АТ. Уровень АТ нарастает и достигает максимума через 2-4 недели. Для их определения используют метод ИФА. В целом серодиагностика герпеса имеет ограниченное клиническое значение с учетом широкого распространения герпетической инфекции в популяции.

4.4.4. Лечение и профилактика

Для **лечения** инфекций, вызванных вирусом простого герпеса применяется ряд эффективных противовирусных средств. К ним относятся **ацикловир** и его производные (*валацикловир* и некоторые другие). Эти средства ингибируют синтез вирусной ДНК. Местное применение ацикловира используется при лабиальном герпесе. Однако противовирусные препараты не действуют на латентный вирус, находящийся в ЦНС.

Эффективной вакцины для **специфической профилактики** герпетической инфекции пока *не разработано*. С целью профилактики рецидивов иногда применяют многократное введение инактивированной вакцины из штаммов ВПГ-1 и ВПГ-2. Ведутся интенсивные исследования по созданию новых вариантов противогерпетических вакцин.

Для профилактики перинатальной герпетической инфекции проводят регулярные обследования беременных, которым при необходимости назначают противовирусное лечение.

4.5. Характеристика инфекций, вызванных вирусом ветряной оспы и опоясывающего лишая (герпесвирусом человека 3 типа)

4.5.1. Особенности вируса ветряной оспы и опоясывающего лишая

Вирус ветряной оспы и опоясывающего лишая (герпесвирус типа 3; варицелла-зостер вирус) является типичным представителем герпесвирусов с общей для них морфологией и жизненным циклом развития.

Один и тот же вирус вызывает разные по эпидемиологии и клинической картине заболевания – ветряную оспу и опоясывающий лишай. Изоляты вирусов, выделенные от пациентов, обладают высокой степенью генетического сходства друг с другом.

Ветряная оспа развивается после заражения человека от внешнего источника (*экзогенная инфекция*), **опоясывающий лишай** – это результат повторной активации латентного герпесвируса 3 типа, присутствующего в организме (*эндогенная инфекция*).

Данные вирусы хорошо размножаются в клеточных культурах эмбриона человека, где дают характерные внутриядерные включения.

4.5.2. Патогенез, клинические проявления и иммунитет при ветряной оспе и опоясывающем лишае

Ветряная оспа – это *первичная инфекция*, вызванная герпесвирусами 3 типа. Болеет только человек (*антропонозное* заболевание).

Восприимчивость к ветряной оспе весьма велика – практически у всех непривитых лиц после контакта развивается заболевание.

В Республике Беларусь ежегодно регистрируется до 60 тыс. случаев ветряной оспы и 10-15 тыс. случаев опоясывающего лишая.

Инфекции, вызванные герпесвирусами 3 типа, передаются **воздушно-капельным** путем. Возможен **контактный** путь передачи (через содержимое везикул).

Источник инфекции – заболевший **человек** (пациент с ветряной оспой или опоясывающим лишаем).

Основная группа пациентов с ветряной оспой – дети в возрасте до 7 лет (около 80% случаев).

Инкубационный период при ветряной оспе – 10-21 день.

Входные ворота – эпителий слизистых верхних дыхательных путей или конъюнктивы глаз. Оттуда вирусы проникают в лимфу и кровь с развитием **вирусемии**. В ходе циркуляции они накапливаются

и окончательно локализуются в коже. В результате повреждающего (цитопатического) действия вируса образуются гигантские многоядерные клетки с внутриядерными включениями.

Начало болезни острое. У заболевшего ребенка возникает лихорадка с последующим появлением папулезно-везикулезной сыпи по всему телу. Первоначально на коже возникают розовые пятна, которые переходят в папулы и везикулы (пузырьки). При разрешении инфекции на месте элементов сыпи образуются корочки.

Общее течение инфекции благоприятное – болезнь завершается выздоровлением с развитием **пожизненного иммунитета** к ветряной оспе.

Осложнения возникают редко (поражение внутренних органов, энцефалит). Обычно они затрагивают лиц с выраженным иммунодефицитом.

После первичной инфекции вирус переходит в **латентное состояние**. Он персистирует в нейронах ЦНС – ганглиях черепно-мозговых нервов и спинальных ганглиях.

Опоясывающий лишай или *herpes zoster* возникает после реактивации герпесвируса 3 типа, находящегося в латентном состоянии в ЦНС. Причинные факторы, способствующие активации вируса, могут быть различными (переохлаждение, УФ-облучение, повреждения, стресс, обострения различных системных заболеваний и др.); их механизм действия до конца не установлен.

Обычно болезнь поражает лиц старше 50 лет со сниженным иммунитетом. Нарушение иммунологического надзора является условием для начала репликации вирусов. Развивается воспаление в спинальных ганглиях и задних корешках спинного мозга; вирусы перемещаются по периферическим нервам в кожу и слизистые. По ходу нервов (межреберных и других) у пациента возникает везикулезная сыпь; места высыпаний весьма болезненны.

В области иннервации пораженных нервов боли могут сохраняться в течение длительного времени после ликвидации высыпаний (**постгерпетическая невралгия**).

Инфекция *herpes zoster* обычно развивается в присутствии достаточного уровня вируснейтрализующих АТ, поэтому основную роль в предупреждении или подавлении инфекции играет **клеточно-опосредованный противовирусный иммунитет**.

Повторные эпизоды опоясывающего лишая у лиц без сопутствующего иммунодефицита наблюдаются редко. Однако они

неоднократно возникают у пациентов с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД.

4.5.3. Лабораторная диагностика инфекций

В большинстве случаев диагностика ветряной оспы и опоясывающего лишая проводится на основании типичной клинической картины. Дополнительное лабораторное исследование подтверждает вирусную природу заболеваний.

Микроскопия мазков из соскоба везикул выявляет многоядерные клетки с *внутриядерными включениями*.

Антигены возбудителей определяются в реакции иммунной флюоресценции (*РИФ*), либо иммуноферментным анализом (*ИФА*).

Вирусная ДНК обнаруживается в жидкости из пузырьков или содержимом корочек методом *ПЦР*.

Выделение вирусов из содержимого пузырьков проводится на клеточных линиях эмбриона человека при культивировании в течение 3-7 дней. Для обнаружения и идентификации возбудителей применяют иммунофлюоресценцию, ПЦР, реакцию нейтрализации ЦПД.

Наращение титра противовирусных АТ для *серодиагностики* выявляют методом *ИФА*. При ветряной оспе определяют специфические АТ класса IgM, при опоясывающем лишае – IgG.

4.5.4. Лечение и профилактика

Исходя из благоприятного течения, ветряная оспа обычно не требует целенаправленных лечебных мероприятий. В противовирусном *лечении* нуждаются редкие пациенты с осложнениями инфекции (энцефалит).

В качестве противовирусных средств для подавления вируса герпеса 3 типа используют ацикловир, валацикловир, фамцикловир, препараты интерферона.

Для *специфической профилактики* инфекции разработана высокоэффективная *живая вакцина*. Она предупреждает развитие заболевания у 85-95% вакцинированных лиц и создает активный длительный напряженный иммунитет. Для детей от года до 13 лет достаточно введения 1-й дозы вакцины, для лиц старше 13 лет необходима двукратная иммунизация. При экстренной профилактике заболевания у контактных лиц введение вакцины в течение трех дней после контакта предупреждает развитие осложненных форм ветряной оспы.

4.6. Характеристика инфекций, вызванных вирусом Эпштейна-Барр (герпесвирусом 4 типа)

4.6.1. Свойства вируса Эпштейна-Барр

Вирус Эпштейна-Барр (**ВЭБ**) или герпесвирус 4 типа имеет ряд особенностей морфологии и жизненного цикла, которые отличают его от других герпесвирусов.

В геноме ВЭБ содержится около 100 генов. Они кодируют 3 основные группы вирусных белков (антигенов). Среди них различают:

- **антигены латентной фазы**, которые поддерживают вирус в состоянии латентности;
- **ранние АГ** – неструктурные белки вируса, обслуживающие репликацию генома ВЭБ и его репродукцию;
- **поздние АГ**, представляющие *структурные белки* вируса (капсидные антигены и антигены оболочки вируса).

Дополнительно геном вируса кодирует ряд **ферментов** – ДНК-полимеразу, нуклеазу и др.

К специфическим вирусным АГ относятся ранний антиген **ЕА** (от англ. *early antigen*); мембранный антиген **МА**; вирусный капсидный антиген **VCA**; ядерный АГ **EBNA** (англ. *Epstein-Barr nuclear antigen*). Они используются в диагностике инфекций, вызванных вирусом Эпштейна-Барр.

Латентный мембранный белок **LMP** и белок EBNA вызывают трансформацию зараженных клеток.

Отдельные вирусные белки **подавляют апоптоз** зараженных клеток.

Жизненный цикл вируса Эпштейна-Барр имеет 2 основных варианта:

- продуктивная **литическая инфекция** с активным размножением вируса
- **латентная** инфекция.

Вирус Эпштейна-Барр поражает только человека. Инфекция ВЭБ развивается лишь в 2-х типах клеток – **лимфоцитах** (в первую очередь – в **В-лимфоцитах**) и в **эпителиальных клетках**.

С помощью рецепторных белков суперкапсида ВЭБ прикрепляется к рецепторам на мембране В-лимфоцитов.

Первоначально он взаимодействует с мембранными молекулами **CD21** (рецепторы к C3d-компоненту комплемента), а затем – с

молекулами **HLA II класса** на мембране В-клеток. Связывание с рецепторами активирует проникновение ВЭБ в В-лимфоциты посредством *эндоцитоза*.

Эпителиальные клетки связывают ВЭБ на мембранах через рецепторы семейства **интегринов**. В эпителиоцитах обычно наблюдается **литический цикл** репродукции ВЭБ с активным образованием новых вирионов.

Вирус Эпштейна-Барр обладает уникальной способностью – после инфицирования он запускает поликлональную активацию В-лимфоцитов. Под действием вируса В-лимфоциты превращаются в бластные формы (*бластная трансформация*) с последующей **пролиферацией**. При этом вирус переходит в состояние **латентности**.

Латентность обусловлена присутствием вирусной ДНК в ядре зараженного В-лимфоцита в виде кольцевой *эписомы*. Часть вирусной ДНК может встраиваться в геном человека (интегративная инфекция).

Транскрипция генов латентной фазы и синтез латентных мембранных белков стимулирует трансформацию и пролиферацию В-лимфоцитов. Некоторые из них дифференцируются в долгоживущие В-клетки памяти, где вирус персистирует пожизненно.

Образование новых вирионов в В-лимфоцитах (литическая инфекция) происходит после реактивации вируса из стадии латентности. Механизмы реактивации до конца не установлены.

Вирус Эпштейна-Барр обладает выраженными **онкогенными свойствами** и может вызывать опухолевую трансформацию зараженных клеток.

4.6.2. Патогенез, клинические проявления и иммунитет при заболеваниях, вызванных вирусом Эпштейна-Барр

Вирус Эпштейна-Барр вызывает 3 основные заболевания человека – **инфекционный мононуклеоз**, **лимфому Беркитта** и **назофарингеальную карциному**. Также ВЭБ может стимулировать развитие некоторых других видов **лимфом** – опухолей лимфоцитарного ряда.

Инфекционный мононуклеоз распространен повсеместно, лимфома Беркитта встречается в тропическом поясе (в странах Африки, Океании, в Бразилии и др.), назофарингеальная карцинома выявляется в Китае.

Инфекционный мононуклеоз – это *острая форма инфекции* вирусом Эпштейна-Барр. Субклиническое или малосимптомное

течение заболевания наблюдается у детей в возрасте до 10 лет; клинически выраженная форма – у лиц молодого и старшего возраста.

Источник инфекции – больной **человек** или вирусовыделитель (после перенесенной инфекции человек свыше одного года выделяет жизнеспособный вирус). Заболевание *антропонозное*.

Инкубационный период вариабелен, длится от 5 до 50 дней.

Вирус распространяется через **инфицированную слюну**.

Пути передачи инфекции – **воздушно-капельный** и **контактный**. Частым является заражение вирусом при поцелуях.

Возбудители поступают в рото- и носоглотку, где инфицируют лимфоидную ткань и эпителий. Вирусы проникают в **В-лимфоциты** местных лимфоидных образований и *эпителиоциты* слюнных желез, вызывая воспаление. После начальной репродукции в носоглотке ВЭБ поступает в кровь – развивается **вирусемия**. Возбудители распространяются по организму, заражая В-лимфоциты.

Вирусы запускают программу **трансформации** и размножения (**пролиферации**) В-лимфоцитов. Поликлональная активация В-клеток ведет к усилению синтеза антител различной специфичности.

Инфицированные В-лимфоциты представляют на своих мембранах вирусные АГ. Такие клетки распознаются и разрушаются цитотоксическими CD8⁺ Т-лимфоцитами. Киллерная активность Т-лимфоцитов и действие интерферонов приводят к постепенной элиминации вируса и выздоровлению.

Несмотря на действие факторов иммунитета, некоторая часть вирусов переходит в состояние **латентности** и пребывает в зараженных клетках пожизненно. В основном эти вирусы находятся в **В-клетках памяти** в костном мозге.

Развернутая **клиническая картина** инфекционного мононуклеоза включает *триаду симптомов* – лихорадку, ангину и увеличение лимфоузлов (лимфаденопатию). В дальнейшем увеличиваются печень и селезенка (*гепатолиенальный синдром*).

Обычно инфекция начинается остро с повышением температуры до 38-39°C. Воспаление и отек миндалин сопровождаются болями в горле. В процесс вовлекаются лимфоузлы всех локализаций, типичным является увеличение шейных лимфоузлов.

Гематогенное распространение вируса приводит к поражению внутренних органов. В печени и селезенке возникает лимфоидная инфильтрация, могут быть очаги некроза.

Наблюдаются характерные изменения в крови – развивается выраженный лимфоцитоз с большим количеством **атипичных мононуклеаров**.

Появление этих клеток характерно для инфекционного мононуклеоза. По происхождению они представляют собой активированные CD8⁺ цитотоксические Т-лимфоциты.

В большинстве случаев болезнь длится 2-4 недели. Выздоровление происходит медленно; пациент продолжает выделять вирус в течение многих месяцев после исчезновения симптомов.

После заболевания развивается **стойкий клеточный и гуморальный иммунитет**. Антитела класса IgG против вирусных АГ VCA и EBNA циркулируют пожизненно. Однако решающую роль в поддержании иммунитета играют клеточные иммунные реакции и действие системы интерферонов.

Реактивация латентной ВЭБ-инфекции возможна, но обычно протекает бессимптомно. Тяжелые случаи возвратной ВЭБ-инфекции возникают у лиц, находящихся на иммуносупрессивной терапии, таких, как пациенты после аллогенной трансплантации.

Лимфома Беркитта – это злокачественная опухоль В-лимфоцитарного происхождения с локализацией в области верхней челюсти, илиоцекального угла кишечника, реже – в других органах. Наибольшее распространение имеет в Африке. Данная патология чаще встречается у лиц мужского пола (детей и юношей).

Лимфома Беркитта имеет сильную ассоциацию с вирусом Эпштейна-Барр. Более чем в 90% случаев в опухоли обнаруживается ДНК и антигены ВЭБ. Предполагается, что вирус задействован на ранних стадиях развития опухоли, вызывая злокачественную трансформацию В-лимфоцитов. Заболевание малярией играет роль кофактора процесса, ускоряя опухолевое развитие. В результате в геноме В-лимфоцитов возникают хромосомные транслокации, затрагивающие гены иммуноглобулинов и нарушающие нормальную экспрессию ключевого регуляторного гена *c-myc*.

Назофарингеальная карцинома – это низкодифференцированная эпителиальная злокачественная опухоль, распространенная в Китае, главным образом, среди мужчин. При данной патологии в клетках карциномы также постоянно выявляется ДНК вируса Эпштейна-Барр; у пациентов наблюдается высокий уровень специфических противовирусных АТ. Опухолевые клетки инфильтрированы лимфоцитами. Заболевание отличается скрытым течением и быстрым прогрессированием. Прогноз без лечения неблагоприятный.

С учетом высокого онкогенного потенциала, в настоящее время ВЭБ рассматривается как **биологический канцероген**. Предполагается, что он может принимать активное участие в развитии и некоторых других видов онкопатологии – *лимфогранулематоза* или болезни Ходжкина, *лимфом, рака желудка*.

Кроме того, ВЭБ может *провоцировать развитие аутоиммунных заболеваний*, поскольку поликлональная активация В-лимфоцитов сопровождается усилением синтеза аутоантител.

4.6.3. Лабораторная диагностика инфекционного мононуклеоза

Каждый клинический случай инфекционного мононуклеоза требует лабораторного подтверждения с идентификацией вируса Эпштейна-Барр.

Основным методом лабораторной диагностики инфекции ВЭБ является **ПЦР**. Методика с высокой чувствительностью позволяет обнаружить **ДНК ВЭБ** в различном клиническом материале (слюне, крови, пунктате лимфоузлов).

Вирусные **АГ** в материале выявляются *методом иммунной флюоресценции*.

В мазках крови обнаруживаются **атипичные мононуклеары** – лимфоциты с широкой цитоплазмой крупного размера в количестве свыше 10-15%.

Для диагностики инфекционного мононуклеоза широко используется **серологический метод**. Обнаружение **анти-VCA AT класса IgM** подтверждает диагноз острой инфекции.

Вирусологический метод применяется лишь в исследовательских целях и в стандартной лабораторной практике не используется из-за сложностей культивирования вируса.

4.6.4. Профилактика и лечение

Профилактика инфекционного мононуклеоза **неспецифическая**. Ведется активная исследовательская работа по созданию вакцин против инфекции ВЭБ.

Лечение мононуклеоза симптоматическое. Показана эффективность валацикловира при манифестных формах заболевания.

4.7. Характеристика инфекций, вызванных цитомегаловирусом (герпесвирусом 5 типа)

4.7.1. Свойства цитомегаловирусов

Цитомегаловирус (ЦМВ) или герпесвирус 5 типа имеет самое широкое распространение в человеческой популяции. Считается, что более 90% населения инфицировано данными вирусами.

ЦМВ является ведущим возбудителем **врожденных вирусных инфекций**, сопровождающихся **поражением ЦНС** у новорожденных (нейросенсорная тугоухость с потерей слуха, нарушения нервно-психического развития, микроцефалия и др.).

Цитомегаловирусы имеют ряд характерных особенностей:

- ЦМВ-инфекция – полностью **антропонозная**, вирус способен размножаться только в клетках человека;

- ЦМВ обладает наибольшим по величине геномом среди всех герпесвирусов; геном ЦМВ характеризуется высокой степенью изменчивости;

- невысокая скорость и **длительный цикл репродукции** вируса (свыше 70 часов) обуславливает продолжительный инкубационный период ЦМВ-инфекций;

- патогенность ЦМВ для лиц с нормальным уровнем иммунитета в целом невысокая;

- ЦМВ обладает **выраженным тератогенным действием**, вызывая множественные аномалии развития плода;

- в ходе инфекции ЦМВ вызывает сочетанные поражения органов и систем человека с наибольшим вовлечением **ЦНС**; инфекция отличается значительной вариабельностью клинических проявлений;

- после первичного инфицирования ЦМВ персистирует в организме человека **пожизненно**; возможна неоднократная реактивация вируса без явных клинических симптомов;

- вирус способен размножаться в клетках системы иммунитета человека, при этом он подавляет клеточно-опосредованный иммунный ответ;

- при заражении вирусами клеточных культур развивается ЦПД с образованием гигантских клеток с внутриядерными включениями, напоминающими «**совиный глаз**».

4.7.2. Эпидемиология, патогенез и клинические проявления цитомегаловирусных инфекций

Инфекции, вызванные ЦМВ, представляют серьезную социальную проблему. В странах с низким уровнем дохода и неразвитой системой здравоохранения основная часть населения заражается ЦМВ еще в раннем детстве. Дети часто заражаются при грудном вскармливании через инфицированное материнское молоко; распространению инфекции способствуют неудовлетворительные условия проживания (скученность, отсутствие социально-бытовых удобств, нехватка средств гигиены и санитарии и т.д.)

В индустриально развитых странах распространенность ЦМВ-инфекции среди женщин детородного возраста составляет около 50%, тогда как в развивающихся странах этот показатель превышает 90%.

Большинство случаев цитомегаловирусных инфекций принадлежит к следующим основным клиническим группам:

- **врожденные** ЦМВ-инфекции;
- **генерализованные** (системные) цитомегаловирусные инфекции и **ЦМВ-пневмония** у лиц с **иммунодефицитами**; наиболее часто они встречаются у ВИЧ-инфицированных в стадии СПИД;
- **ЦМВ-инфекции** у пациентов **после пересадки органов** (реципиентов трансплантатов), находящихся на постоянной иммуносупрессивной терапии.

Единственным хозяином вируса и *источником* цитомегаловирусной инфекции является **человек**.

Инфекция ЦМВ передается многими способами. Наиболее общие пути передачи – **воздушно-капельный** и **пероральный**.

От матери ребенку инфекция передается с помощью **вертикального** механизма.

Также передача инфекции возможна **контактно-бытовым** путем через контаминированные предметы обихода; при **трансплантации** органов и тканей, переливании крови, при **половом** контакте.

У лиц с сохранным иммунитетом ЦМВ-инфекция чаще всего имеет субклиническое или легкое течение.

Инкубационный период длится в среднем 30-40 дней.

При **манифестной** или клинически явной форме ЦМВ-инфекции симптомы заболевания напоминают инфекционный мононуклеоз. При попадании вируса в кровь (**вирусемия**) возникает **лихорадка**,

появляются признаки поражения печени (*гепатит*), в крови выявляется *лимфоцитоз*.

ЦМВ способен инфицировать буквально все типы клеток – эндотелиоциты, лейкоциты, эпителиальные клетки, фибробласты, паренхиматозные клетки внутренних органов. Отмечается выраженный тропизм вируса к эпителию слюнных желез и клеткам системы иммунитета.

В зараженных клетках вирус *блокирует апоптоз*, тем самым обеспечивая их выживание.

В ходе инфекции ЦМВ активно выделяется со слюной, мочой, материнским молоком при лактации, с выделениями из половых органов.

Из-за развития интенсивных гуморальных и клеточных иммунных реакций через 2-4 недели симптомы заболевания угасают, и ЦМВ переходит в *состояние латентности*.

Латентная инфекция длится *пожизненно*. Вирус персистирует в *CD14⁺ моноцитах* и *клетках-предшественниках* костного мозга. Геном ЦМВ сохраняется в виде episомы в ядрах зараженных клеток.

Реактивация вирусов происходит регулярно, однако система иммунитета здоровых лиц эффективно справляется с вирусом. Основную роль в противовирусном *иммунитете* играют *клеточно-опосредованные реакции*.

Врожденная и *перинатальная* ЦМВ-инфекция передается *трансплацентарно* во время беременности, а также в ходе родов и последующем грудном вскармливании.

Инфицирование в ранние сроки беременности может приводить к внутриутробной гибели плода или спонтанному аборту.

ЦМВ-инфекции *у новорожденных* часто протекают как тяжелые *генерализованные* вирусные заболевания с поражением внутренних органов и ЦНС (*энцефалит*). Летальность при них достигает 30%.

Осложнения при врожденной ЦМВ-инфекции наблюдаются постоянно (нейросенсорная тугоухость с потерей или снижением слуха, поражения глаз, задержка нервно-психического развития).

Чрезвычайно тяжелые *генерализованные инфекции* ЦМВ наблюдаются у пациентов с *ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД*. Они развиваются не менее, чем у 15% ВИЧ-инфицированных. Вследствие этого ЦМВ-инфекция является ведущим *СПИД-индикаторным* заболеванием.

До 10-20% ВИЧ-инфицированных в итоге погибают от системной цитомегаловирусной инфекции.

Наконец, жизнеугрожающие ЦМВ-инфекции развиваются у лиц **после трансплантации органов** и сопровождающей ее иммуносупрессии; тем самым они становятся одной из ведущих причин смерти таких пациентов.

4.7.3. Лабораторная диагностика цитомегаловирусных инфекций

Лабораторные методы диагностики играют ведущую роль в установлении диагноза цитомегаловирусной инфекции вследствие невысокой специфичности клинической картины заболевания.

Материалом для исследования являются смыв из носоглотки, слюна, моча, спинномозговая жидкость, кровь, аутопсийный материал.

В качестве **ускоренных методов** диагностики используют *ИФА*, метод *иммунной флюоресценции* и *ПЦР*.

Быстрым и **наиболее достоверным тестом** для идентификации ЦМВ в клинических условиях является *ПЦР* для определения **ДНК** возбудителей в материале.

Выделение вирусов (*вирусологический метод*) проводится на эмбриональных клеточных линиях человека. После 1-2 недель культивирования в зараженных клетках наблюдаются характерные изменения: выявляются гигантские клетки с большими внутриядерными включениями по типу **«совиного глаза»**. Идентификация вирусов проводится в реакции нейтрализации, а также с помощью *ПЦР*.

Для **серодиагностики** ЦМВ-инфекции используют *ИФА*. Обнаружение специфических противовирусных **АТ класса IgM** подтверждает диагноз первичной ЦМВ-инфекции.

4.7.4. Принципы лечения и профилактики цитомегаловирусной инфекции

В **лечении** тяжелых форм цитомегаловирусной инфекции с успехом применяется *ганцикловир*. Для лечения острой ЦМВ-инфекции у беременных используют гипериммунный иммуноглобулин человека, содержащий противовирусные АТ в высоком титре.

Специфическая профилактика цитомегаловирусной инфекции по-прежнему **недоступна** из-за отсутствия эффективных вакцин. Несколько вакцин-кандидатов в настоящее время проходят клинические испытания.

Неспецифическая профилактика инфекции в первую очередь включает мероприятия по поддержанию надлежащего уровня личной и семейной гигиены, соблюдения санитарно-гигиенических условий пребывания пациентов в стационарах.

Своевременная изоляция новорожденных с системной ЦМВ-инфекцией позволяет предупредить передачу вируса остальным младенцам, находящимся в учреждениях родовспоможения.

Строгий контроль инфицирования донорских органов, тщательный скрининг ЦМВ-инфекции у доноров и реципиентов является необходимым условием достижения благоприятного исхода трансплантаций.

4.8. Герпесвирусы 6, 7 и 8 типов и их роль в патологии человека

К *герпесвирусам 6 типа* относятся 2 близкородственных вирусных вида – бета-герпесвирусы человека **6А** и **6В**. Точно так же, как и многие другие представители герпесвирусов, они имеют самое широкое распространение в человеческой популяции.

В период после снижения уровня защитных материнских АТ происходит быстрое инфицирование детей 1-го года жизни герпесвирусами 6 типа. В результате свыше 90% населения, начиная от детей старше 1 года, становятся серопозитивными в отношении данных вирусов, продуцируя специфические противовирусные АТ.

Герпесвирусы 6 типа могут заражать большинство клеточных линий человека (фибробласты, гепатоциты, эпителиальные и эндотелиальные клетки, клетки микроглии и др.), однако их основной мишенью являются активированные ***CD4⁺ Т-лимфоциты*** (*лимфотропные вирусы*). В отличие от других герпесвирусов, вирусы 6 типа способны встраивать свою ДНК в хромосомы человека.

Первичная острая инфекция герпесвирусами 6 типа обычно возникает у детей от 6 месяцев до 3 лет. Основная передача вирусов происходит через инфицированную слюну. Согласно принятым оценкам, не менее 10-20% всех лихорадочных состояний у детей в этом возрасте обусловлено вирусами 6 типа.

Ведущей клинической формой острой инфекции у детей является ***внезапная экзантема*** (или *roseola infantum*) – острое лихорадочное заболевание с лимфоаденопатией и пятнистой розовой сыпью на

коже, сходной с высыпаниями при краснухе. Заболевание длится около недели и заканчивается спонтанным выздоровлением.

После первичной инфекции вирусы переходят в состояние **латентности** и сохраняются в организме человека пожизненно. Наиболее часто они персистируют в макрофагах, клетках-предшественниках костного мозга и в ЦНС.

Реактивация латентных герпесвирусов 6 типа обычно происходит бессимптомно. Однако у пациентов **после трансплантации органов**, находящихся на иммуносупрессивной терапии, могут развиваться наиболее тяжелые формы инфекции герпесом 6 типа (энцефалит, гепатит, поражение глаз, угнетение кроветворения и др.). В этом отношении реактивация вирусов 6 типа является типичной **оппортунистической вирусной инфекцией**.

Предполагается также, что хроническая инфекция герпесвирусами 6 типа может быть связана с развитием таких заболеваний, как рассеянный склероз, аутоиммунный тиреоидит, миокардит и кардиомиопатия, лимфогранулематоз, синдром хронической усталости.

Лимфотропные **герпесвирусы 7 типа** в целом сходны с вирусами типа 6, вместе с которыми они входят в общий род *Roseolovirus*. Массовое инфицирование вирусами 7 типа происходит в раннем детстве. Длительная персистенция вирусов устанавливается в слюнных железах. Инфекция имеет повсеместное распространение – АТ к вирусу 7 типа регистрируются у 85% населения в возрасте старше 40 лет.

Точная роль герпесвирусов 7 типа в патологии человека пока не установлена. У детей они могут вызывать острые респираторные инфекции, не исключена ассоциация данных вирусов с синдромом хронической усталости.

Гамма-герпесвирус типа 8 или **герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши** был впервые обнаружен в биоптатах саркомы Капоши у пациентов с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД.

Вирус обладает **тропизмом к лимфоидным клеткам** человека. По имеющимся оценкам, 4-10% населения в зависимости от страны проживания инфицировано герпесвирусом типа 8. У лиц с сохраненной функцией системы иммунитета патология не развивается.

Среди ВИЧ-инфицированных возбудитель часто передается при гомосексуальных половых контактах. В странах с высоким уровнем распространенности он передается от инфицированной матери к

ребенку. В ходе инфекции вирус выделяется со слюной. Также вирус может передаваться при трансплантации органов и тканей.

Репликация возбудителей происходит очень медленно. Инфекция переходит в стадию *латентности*; вирусная ДНК сохраняется в виде episомы в ядре клетки.

Белки фазы латентности активно влияют на транскрипцию генов хозяина, ответственных за клеточную пролиферацию и участие клеток в иммунном ответе (секрецию цитокинов, экспрессию хемокиновых рецепторов и т.д.). Кроме того, они подавляют процессы апоптоза. В итоге зараженные клетки с нарушенным циклом клеточного деления подвергаются опухолевой трансформации.

Как результат инфекции герпесвирусом 8 типа у пациентов в стадии СПИД может возникать редкая опухоль – *саркома Капоши*. Основная локализация опухолевого процесса наблюдается в коже, однако наиболее вероятный источник трансформированных клеток – эндотелиоциты лимфатических сосудов.

Эффективная антиретровирусная терапия ВИЧ-инфицированных, приводящая к восстановлению иммунитета, способна остановить или затормозить прогрессирование заболевания.

V. СЕМЕЙСТВО *Papillomaviridae*. ВИРУСЫ ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Название «**папилломавирусы**» происходит от лат. *papilla* – «сосочек» и греч. *-ома* – «опухоль». Данные вирусы способны активировать опухолевый рост в коже и слизистых оболочках человека и животных. Обычно они вызывают доброкачественные опухоли – **папилломы**, однако во многих случаях приводят к образованию злокачественных опухолей – **карцином**.

Еще в 1906 г. Дж. Чуффо (Италия) впервые продемонстрировал инфекционную природу кожных папиллом. В опыте самозаражения он воспроизвел папиллому на коже руки после местного введения экстракта из ткани папилломы. Предварительно экстракт опухоли пропускали через фильтр, задерживающий бактерии. Тем самым были получены прямые доказательства вирусной этиологии папиллом человека.

В 1933 г. Р. Шоуп с соавт. (США) доказали вирусное происхождение папилломатоза кроликов. По результатам исследования авторы пришли к заключению, что открытые ими вирусы являются опухолеродными агентами с высокой трансформирующей активностью. В дальнейшем были найдены многочисленные папилломавирусы, специфичные для разных видов животных и человека.

Наконец, в 1974 г. Х. цур Хаузен (Германия) впервые обнаружил ДНК отдельных типов папилломавирусов в тканях опухолей человека. Впоследствии он доказал этиологическую роль этих вирусов в развитии карциномы шейки матки – одной из наиболее частых злокачественных опухолей, возникающих у женщин. За это открытие в 2008 г. Х. цур Хаузен был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине.

5.1. Классификация

Папилломавирусы имеют самый широкий круг природных хозяев – от рептилий и птиц, до млекопитающих и человека.

К настоящему времени семейство *Papillomaviridae* насчитывает 49 вирусных родов, обозначаемых буквами греческого алфавита – от альфа-папилломавирусов до зета-папилломавирусов.

Каждый род включает одноименные с ним вирусные виды, отличающиеся только собственным порядковым номером (например, *Alphapapillomavirus 1*).

Виды объединяют сходные генетические штаммы папилломавирусов, которые традиционно называют «**типами**». Гомология консервативных участков ДНК у представителей одного типа составляет 90% и более. Каждому типу присвоен порядковый номер. Разные типы папилломавирусов значительно отличаются друг от друга по патогенности.

К настоящему времени известно свыше 200 типов вирусов папилломы человека (**ВПЧ**), которые принадлежат к 5 вирусным родам. Подавляющее большинство из них относится к 3-м родам – альфа-, бета- и гамма-папилломавирусам.

Наиболее высоким онкогенным потенциалом обладают **ВПЧ 16-го и 18-го типов**, с которыми связано не менее 70% случаев рака шейки матки у женщин. **ВПЧ 16 типа** относится к виду *Alphapapillomavirus 9*; **ВПЧ 18 типа** – к виду *Alphapapillomavirus 7*.

5.2. Свойства папилломавирусов

5.2.1. Морфология и ультраструктура

Вирионы папилломавирусов имеют *сферическую* форму, *кубический* тип симметрии и малые размеры (50-60 нм). У них отсутствует внешний липидный суперкапсид (*простые* вирусы).

Геном ВПЧ представлен *кольцевой двухцепочечной ДНК*. Он включает гены, кодирующие 2 структурных белка *L1* и *L2* и 6 неструктурных белков – *E1-E7* (нет *E3*). Также геном содержит регуляторный участок, контролирующий экспрессию генов и репликацию вирусов.

Капсомеры вируса состоят из мажорного белка ***L1*** и меньшего по размеру белка ***L2***. Белок *L1* содержит типоспецифические АГ папилломавирусов, белок *L2* – группоспецифические.

Ранние белки ***E1-E4*** обслуживают репликацию генома ВПЧ, транскрипцию вирусных белков, сборку и выход вирусных частиц.

Белки ***E6*** и ***E7*** являются основными *трансформирующими факторами* онкогенных папилломавирусов. В норме их синтез находится под строгим контролем регуляторного белка ***E2***.

Протеин ***E6*** высокоонкогенных ВПЧ стимулирует *разрушение белка p53* – основного индуктора апоптоза зараженных клеток.

Также E6 активирует клеточную *теломеразу*, поддерживая тем самым многократное клеточное деление.

Белок *E7*, связываясь с белками-регуляторами клеточного цикла (протеин Rb), поддерживает непрерывный процесс размножения зараженных клеток.

Белок *E5* усиливает трансформирующую активность факторов E6 и E7.

Кроме того, вирусные белки *E6* и *E7* *подавляют реакции врожденного клеточного иммунитета*, включая синтез интерферона и других цитокинов.

Суммарное действие белков E6 и E7 значительно повышает вероятность опухолевой трансформации зараженных клеток.

5.2.2. Устойчивость вирионов

Папилломавирусы обладают достаточной устойчивостью к внешним воздействиям (высушиванию, нагреванию). После выделения из организма они сохраняют жизнеспособность в окружающей среде в течение нескольких суток.

Вирионы чувствительны к УФ-облучению; быстро погибают при температуре 100°C.

Обработка 90% этанолом или глутаровым альдегидом свыше 1 минуты или хлорсодержащими дезинфектантами (гипохлорит) необратимо инактивирует папилломавирусы.

5.2.3. Культивирование

Папилломавирусы обладают исключительной *видовой* и *тканевой* (клеточной) *специфичностью*.

Папилломавирусы человека *не размножаются* в традиционных клеточных культурах, курином эмбрионе или лабораторных животных.

К настоящему времени для культивирования ВПЧ разрабатываются генно-модифицированные монослойные клеточные линии, а также экспериментальные 3D-культуры клеток и тканей, в основе которых – дифференцирующиеся клетки кожи человека.

5.3. Репродукция папилломавирусов человека

Последовательные *этапы репродукции* папилломавирусов человека реализуются только в *различных слоях клеток многослойного плоского эпителия кожи и слизистых*.

В коже репродукция ВПЧ происходит в *кератиноцитах*, находящихся на разных стадиях дифференцировки.

На начальном этапе вирус заражает эпителиоциты (кератиноциты) самого глубокого базального слоя эпидермиса, доступные в местах *микроразрывов* кожи.

С помощью белка **L1** ВПЧ связывается с мембранными рецепторами кератиноцитов (гепарансульфатом, интегринами и др.). В клетки ВПЧ поступает посредством *эндоцитоза*. Закисление содержимого эндосомы раскрывает вирусный капсид, при этом ДНК ВПЧ остается в комплексе с белком L2. В ходе митоза базальных кератиноцитов вирусная ДНК поступает в *ядра* клеток, где происходит репликация вирусного генома. Она обеспечивается клеточными ферментами, так как папилломавирусы не имеют собственных ферментов синтеза ДНК, кроме хеликазы (белка E1).

Продуктивная папилломавирусная инфекция тесно связана с процессом дифференцировки кератиноцитов. Незрелые кератиноциты базального слоя эпидермиса активно делятся. После их заражения начальная репликация ВПЧ происходит здесь с низкой скоростью – образуется всего 50-100 копий вирусного генома, которые сохраняются в ядрах клеток в виде кольцевых episом. Трансляция вирусных белков (помимо E1 и E2) на этой стадии минимальна.

В процессе дифференцировки кератиноциты мигрируют наружу в шиповатый и зернистый слой эпидермиса, где их митотическая активность падает. Это активизирует репродукцию папилломавирусов – образуется большое количество копий генома ВПЧ (>1000 на клетку). Одновременно запускается синтез ранних вирусных белков, в том числе E6 и E7, которые поддерживают деление зараженных кератиноцитов. В дальнейшем синтезируются поздние структурные вирусные белки, и начинается сборка вирионов.

На последнем этапе дифференцировки кератиноциты образуют наружные слои плоского эпителия, которые в итоге слущиваются. Вместе с ними в окружающую среду выделяются зрелые вирионы папилломавирусов. Самостоятельным цитолитическим действием вирус не обладает.

Длительность полного цикла репродукции папилломавирусов с момента заражения составляет от 3 недель до нескольких месяцев.

Трансформирующая инфекция ВПЧ особенно характерна для высокоонкогенных типов папилломавирусов. В этом случае стандартный цикл репродукции вирусов многократно прерывается, препятствуя образованию полноценных вирионов. Такая инфекция может длиться годами (**персистенция вирусов**).

При длительном пребывании генома ВПЧ в эпителиоцитах ДНК вируса регулярно переходит из кольцевой эписомы в линейную форму и встраивается в клеточный геном. При этом возникают мутации как в клеточном, так и вирусном геноме.

В результате мутаций в зараженной клетке подавляется синтез регуляторного вирусного белка **E2**. Это ведет к резкому усилению синтеза вирусных трансформирующих факторов **E6** и **E7**. Они стимулируют бесконтрольную пролиферацию эпителиоцитов и подавляют реакции клеточного врожденного иммунитета, что может приводить к *дисплазии* и *опухолевой трансформации* зараженных клеток.

5.4. Характеристика папилломавирусных инфекций человека

Свыше 200 типов папилломавирусов могут заражать человека. Данные инфекции являются **антропонозными**, так как папилломавирусы разных типов проявляют строгую видовую специфичность.

Специфичные **клетки-мишени** для ВПЧ – **эпителиоциты**, входящие в **многослойный плоский ороговевающий** (кожа) и **неороговевающий эпителий** (слизистая полости рта, глотки, анальный отдел ЖКТ, влагалище и влагалищный отдел шейки матки).

Наиболее восприимчивы к вирусу клетки *переходных зон* между различными видами эпителия (влагалищный отдел шейки матки/цервикальный канал, пенис, анальная область, конъюнктивы).

Инфекция ВПЧ является чрезвычайно распространенной в человеческой популяции. Считается, что подавляющее большинство людей хотя бы однократно в течение жизни заражались ВПЧ.

Ряд типов ВПЧ относится к установленным **биологическим канцерогенам** человека.

Различают следующие группы патогенных папилломавирусов человека:

- неонкогенные ВПЧ;
- онкогенные ВПЧ низкого риска;
- онкогенные ВПЧ высокого риска.

Неонкогенные ВПЧ (типы 1-4 и др.) являются причиной кожных **бородавок**. Это наиболее общая форма инфекции ВПЧ, не приводящая к опухолевой трансформации.

Онкогенные ВПЧ низкого риска (типы 6, 11 и др.) вызывают **остроконечные кондиломы** и бородавки в аногенитальной области, ларингеальный папилломатоз у детей, **папилломы** конъюнктивы и слизистой полости рта. Вероятность малигнизации у них низкая.

Онкогенные ВПЧ высокого риска (типы **16, 18** и многие другие; всего более 25 типов) вызывают **карциному шейки матки**, влагалища, вульвы, пениса, анальной области, **плоскоклеточный рак** ротоглоточной области.

В отдельных случаях высокоонкогенные штаммы ВПЧ выявляются при раке молочной железы, простаты, легкого, гортани, колоректальном раке.

Источник инфекции ВПЧ – человек.

*Механизм передачи – **контактный*** через микроповреждения кожи и слизистых.

Основные *пути передачи* – **половой**, а также любой другой **прямой контакт** с источником инфекции; не исключается **контактно-бытовая** передача.

Папилломавирусная инфекция считается наиболее частым вирусным заболеванием, передаваемым половым путем.

Заражение новорожденных происходит **перинатально** (**трансплацентарно** или **интранатально** в процессе родов). В этих случаях у ребенка может развиваться ларингеальный папилломатоз.

Инкубационный период инфекции весьма **длительный** и обычно составляет от нескольких месяцев, до нескольких лет. Вирус локализуется только в эпителии; виремия не возникает.

У 95% зараженных инфекция протекает бессимптомно; лишь у 1-5% контактных лиц развиваются какие-либо клинические формы инфекции, зависящие от пути передачи.

Среди всех видов патологии, ассоциированной с ВПЧ, наибольшую угрозу представляет **карцинома шейки матки**. Она составляет более 5% от всех случаев онкозаболеваний (у женщин развивающихся стран – свыше 10%).

По данным ВОЗ, в мире регистрируется 500-600 тыс. новых случаев рака шейки матки ежегодно; число смертельных исходов превышает 270 тыс. человек.

Республика Беларусь относится к странам с относительно высоким уровнем распространенности карциномы шейки матки. В среднем регистрируется 12-14 случаев на 100 тыс. населения в год.

До 70% заболеваний раком шейки матки обусловлено высокоонкогенными ВПЧ **16** и **18** типов; причина остальных – более редкие типы ВПЧ из группы высокого риска (31, 33, 35, 45 и мн. др.).

Кроме того, ВПЧ часто вызывают другие формы генитального рака и рака анальной области, а также карциному ротовой полости, глотки.

Опухолевая трансформация под влиянием ВПЧ протекает **медленно** – между моментом заражения и развитием карциномы может пройти свыше 10 лет. Процесс малигнизации включает несколько промежуточных стадий **дисплазии** эпителия – **предраковой трансформации** эпителиальных клеток.

Уровень естественного **иммунитета** к ВПЧ-инфекции достаточно высокий. В основном он обусловлен **клеточными** факторами. Наибольшее значение среди них имеют цитотоксические Т-лимфоциты и естественные киллеры, противовирусная активность Toll-like рецепторов, действие интерферона и других цитокинов.

Под влиянием факторов иммунитета в течение 2-3 лет от момента заражения **элиминация** вируса наступает более чем у 90% инфицированных лиц. Тем не менее, нередко случаи повторного заражения.

Активность специфических АТ в ходе инфекции невелика из-за малой доступности вируса в эпителии. Гораздо более важную роль противовирусные АТ играют в поддержании **поствакцинального иммунитета** к ВПЧ.

5.5. Лабораторная диагностика папилломавирусных инфекций человека

Для диагностики большинства ВПЧ-ассоциированных заболеваний нецелесообразно проводить лабораторное тестирование ВПЧ, учитывая чрезвычайно широкую распространенность данной инфекции в популяции.

При клиническом осмотре пациентов выявляются бородавки, остроконечные кондиломы. Цитологическая диагностика злокачественных опухолей аногенитальной области, плоскоклеточного рака ротовой полости и глотки проводится с помощью биопсии и патоморфологического исследования.

Наибольшее значение идентификация онкогенных типов ВПЧ высокого риска имеет в **диагностике карциномы шейки матки**.

С этой целью в ряде стран мира (США, Канада, страны Евросоюза и др.) разработаны программы первичного скрининга рака шейки матки, где используются различные лабораторные тесты. Аналогичная государственная программа принята в Республике Беларусь.

Первичное обследование женщин рекомендовано проводить в возрасте 21 года цитологическим методом для выявления атипичных эпителиальных клеток.

В последующий период с 25 до 65 лет здоровая женщина должна обследоваться через каждые 3-5 лет. Диагностика включает 2 лабораторных теста – *молекулярно-генетическое исследование* для обнаружения онкогенных ВПЧ высокого риска и *цитологический* метод.

Материалом для исследования служит соскоб эпителия шейки матки, переходной зоны и цервикального канала.

Цитологический метод включает микроскопию мазков эпителия с *окраской по Папаниколау (Пап-тест)*. Метод выявляет различные стадии трансформации эпителиальных клеток.

Молекулярно-генетические тесты основаны на использовании *мультиплексной ПЦР* или метода *гибридизации* нуклеиновых кислот. С их помощью обнаруживают все основные типы высокоонкогенных ВПЧ в материале. При необходимости методом ПЦР дополнительно устанавливают наличие ВПЧ 16 и 18 типов.

При положительных результатах лабораторных тестов проводят кольпоскопию.

Помимо первичного скрининга, определение высокоонкогенных типов ВПЧ проводят для контроля рецидива опухоли после лечения. Также тестирование на ВПЧ включено в протокол обследования женщин при беременности.

5.6. Лечение и профилактика папилломавирусных инфекций человека

Системного **противовирусного лечения** папилломавирусных инфекций человека **не проводится**. До сих пор не разработаны химиотерапевтические средства, обладающие доказанной специфической активностью в отношении ВПЧ.

Лечению подлежат местные проявления ВПЧ-инфекции. Удаление бородавок и кондилом проводится методами крио-, электро-, хемо- или лазерной деструкции. Иногда используется местная терапия иммуномодуляторами (имиквимод, вагинальные свечи с интерфероном и т.д.).

Значительным достижением в предупреждении ВПЧ-инфекции и связанной с ней онкопатологии у женщин стало внедрение в медицинскую практику высокоэффективных противовирусных вакцин.

В настоящее время для **специфической профилактики** инфекций, вызванных высокоонкогенными типами ВПЧ, применяется 2 варианта **генно-инженерных субъединичных вакцин**. Они представляют собой **рекомбинантные вирусоподобные частицы**, состоящие из **белков L1** ВПЧ разных типов. Вакцины, сконструированные таким образом, обладают высокой иммуногенностью.

Одна из вакцин включает белки ВПЧ 16 и 18 типов, другая представляет собой квадριвалентную вакцину из белков ВПЧ 16, 18, 6 и 11 типов. Они зарегистрированы и разрешены к применению в Республике Беларусь.

Двух- или трехкратная внутримышечная иммунизация этими вакцинами создает прочный **активный иммунитет** и защищает от инфекций ВПЧ данных типов при последующих контактах.

Тем самым вакцинация полностью **предупреждает возникновение рака шейки матки** у привитых женщин. Показано также, что после вакцинации может развиваться перекрестный иммунитет к другим типам папилломавирусов.

Наиболее оптимальным периодом для проведения иммунизации считается возраст 9-13 лет (т.е. до первого сексуального контакта).

Вакцина против ВПЧ входит в национальные программы иммунизации многих стран. В Республике Беларусь специфическая профилактика инфекции ВПЧ проводится на добровольной основе.

Неспецифическая профилактика включает проведение эффективного первичного скрининга инфицированных лиц, мероприятия по санитарному просвещению населения (необходимость регулярных профилактических осмотров, пропаганда барьерных методов контрацепции, избегание частой смены половых партнеров и т.д.), соблюдение мер личной гигиены.

VI. СЕМЕЙСТВО *Poxviridae*. ВИРУС НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ

Натуральная оспа до момента ее полной ликвидации на рубеже 1970-1980-х гг. являлась одной из наиболее опасных инфекций человека.

В прошлом разрушительные эпидемии оспы происходили во многих странах мира. Только в Европе до конца XVIII века от оспы погибло около 150 млн человек. В России в XVIII веке от натуральной оспы погибал каждый 7-й ребенок. После получения Э.Дженнером противооспенной вакцины (1796 г.) началась активная борьба с этой болезнью.

Тем не менее, в течение XX века до принятия и реализации программы ВОЗ по ликвидации оспы во всем мире (1967-1980 гг.), от оспы по различным оценкам погибло от 300 до 500 млн человек.

В СССР оспа была ликвидирована к 1937 г., но завозные случаи болезни регистрировались до 1960 г.

В 1892 г. Г. Гварниери описал цитоплазматические включения (тельца Гварниери) в клетках роговицы инфицированного кролика, а в 1906 г. Э. Пашен обнаружил элементарные тельца (вирусные корпускулы) в жидкости оспенных везикул.

Прямые доказательства вирусной природы заболевания были получены в 1905-1906 гг. усилиями многих исследователей из разных стран (А. Негри, П. Ремленже, С. Провачек, М. Николь и др.)

6.1. Классификация

Семейство *Poxviridae* включает 2 подсемейства, 14 родов и более 70 вирусных видов. К данному семейству принадлежат многочисленные поксвирусы животных, птиц, рептилий, моллюсков, насекомых.

Согласно современной классификации, вирус натуральной оспы относится к подсемейству *Chordopoxvirinae*, роду *Orthopoxvirus*, виду *Variola virus*.

Другие виды, способные вызывать патологию человека и принадлежащие семейству *Poxviridae*, принадлежат родам *Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus*, *Molluscipoxvirus*.

Род *Orthopoxvirus* включает вирус натуральной оспы, осповакцины и вирус оспы обезьян, род *Parapoxvirus* – вирусы

псевдооспы рогатого скота, род *Molluscipoxvirus* – вирус контагиозного моллюска.

6.2. Свойства вируса натуральной оспы

6.2.1. Морфология и ультраструктура

Вирус натуральной оспы крупный – 200-300 нм, имеет кирпичеобразную форму с закругленными углами. В центре располагается *сердцевина* в форме гантели, окруженная белковым капсидом. В ней содержится ДНК, внутренние белки. Наружная оболочка вириона (*суперкапсид*) содержит липиды и трубчатые белковые структуры, которые образуют выступы.

ДНК вируса двунитевая, нефрагментированная. Вирусный геном кодирует до 200 вирусных белков. При этом свыше 50 белков появляются в инфицированных клетках; около 10 белков являются ферментами метаболизма вирусных нуклеиновых кислот.

Нуклеопротеиновый антиген **NP** располагается в сердцевине вириона, он является общим для всего семейства. Во внешней оболочке содержится вирусный *гемагглютинин*, имеющий липопротеиновую природу, термолабильный и термостабильный растворимые антигены.

6.2.2. Устойчивость вирионов

Поксвирусы выдерживают высушивание и сохраняют жизнеспособность в патологическом материале в течение многих месяцев при комнатной температуре, в 50% растворе этанола инактивируются в течение 1 часа, в 50% растворе глицерина при 4°C сохраняются в течение нескольких лет, 1% фенол или 0,2% формальдегид при комнатной температуре инактивирует их только через 2 часа, 5% хлорамин – в течение 2 часов.

6.2.3. Культивирование

Вирус культивируется в *куриных эмбрионах*, на хорионаллантоисной оболочке которых образуются белые вирусные бляшки; в первичных и перевиваемых культурах клеток, где дает характерно **ЦПД** в виде очаговой дегенерации клеточного пласта. Индикация вируса проводится в реакции гемагглютинации и гемадсорбции, идентификация – в реакции нейтрализации.

6.3. Репродукция поксвирусов

Поксвирусы – единственные из ДНК-геномных вирусов, которые размножаются в **цитоплазме** клеток хозяина. В цикл репродукции входит адсорбция на поверхности чувствительных клеток, проникновение в цитоплазму путем рецепторного *эндоцитоза*, далее происходит двухэтапное раздевание вириона. Сначала под действием протеаз разрушается наружная оболочка, происходит транскрипция и синтез ранних иРНК, кодирующих синтез ранних белков. Параллельно идет репликация вирусной ДНК, дочерние копии ДНК транскрибируются, синтезируются поздние иРНК. Затем идет трансляция и синтезируется около 80 вирусспецифических белков; часть из этих белков являются структурными, а другие представляют ферменты и растворимые антигены.

Далее идет созревание вирусных частиц и их выход при *лизисе* клетки или путем *почкования*. Цикл репродукции вируса оспы непродолжительный и составляет 6-7 часов.

6.4. Патогенез и характеристика натуральной оспы

Заболевание натуральной оспой **антропонозное**. *Источником инфекции* являются больные **люди** в течение всего периода болезни.

Пути передачи – **воздушно-капельный** и **контактный** через предметы обихода и одежду больного.

Входные ворота – слизистая оболочка верхних дыхательных путей. *Первичное размножение* происходит в лимфоидной ткани глоточного кольца Пирогова-Вальдейера. Далее вирус проникает в кровь (*вирусемия*), поражая эндотелий, лейкоциты и другие клетки. В них возбудитель активно размножается; при разрушении клеток вновь возникает *вирусемия*.

Дерматропное действие вируса связано с его способностью проникать из крови в эпидермис.

Инкубационный период при натуральной оспе длится 8-18 дней, заболевание начинается остро, возникают головные боли, лихорадка, боли в мышцах. Через 2-4 дня на слизистой оболочке полости рта и коже появляется характерная **сыпь**. В своем развитии сыпь проходит стадии *папулы*, *везикулы*, *пустулы*, а затем образуется *рубец*.

Все элементы сыпи появляются одновременно и локализуются на лице и конечностях. С появлением сыпи температура снижается, а

затем повышается, когда образуются пустулы. От момента появления сыпи до отпадения корочек проходит около трех недель. При классическом тяжелом течении болезни («*большая оспа*») летальность достигала 40-50%, при легкой форме заболевания («*малая оспа*» или *аластрим*) летальность не превышает 0,1-0,2%.

Согласно действующим Международным медико-санитарным правилам, потенциальные случаи оспы по-прежнему подлежат мониторингу и незамедлительному уведомлению в ВОЗ, так как относятся к событиям, которые «...могут представлять собой чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения, имеющую международное значение».

Среди других представителей рода *Orthopoxvirus* серьезную опасность представляет **вирус оспы обезьян**. Данная зоонозная инфекция первоначально была выявлена у многих видов обезьян, обитающих в Азии, Западной и Центральной Африке. В дальнейшем оказалось, что вирус активно циркулирует среди различных видов африканских грызунов, главным образом – белок.

Первые случаи заболеваний человека были зарегистрированы в Африке в 1971 г. Инфицирование происходило после употребления в пищу термически необработанного мяса грызунов. Сравнительно недавно (в 2003 г.) массовая вспышка оспы обезьян среди людей наблюдалась в США.

Клиническая картина оспы обезьян весьма сходна с натуральной оспой. Свыше 90% заболевших составляют дети. При вспышках болезнь может передаваться от человека к человеку. Средняя летальность достигает 9-10%; среди детей она может превышать 30%.

Как и вирус натуральной оспы, вирус оспы обезьян относят к патогенным биологическим агентам наивысшей **IV группы** биологического риска.

6.5. Лабораторная диагностика натуральной оспы

Материалом для исследования является содержимое высыпных элементов (*везикул, пустул*).

Возможно проведение **световой микроскопии** окрашенных по Морозову мазков (серебрение). При этом выявляют оспенные **тельца Пашена** и внутриклеточные **включения Гварниери**, которые располагаются в цитоплазме клеток.

Эффективным методом обнаружения вирионов является **электронная микроскопия** материала, полученного из везикул.

Выделение вируса проводят на хорионаллантоисной оболочке куриных эмбрионов, в культурах фибробластов эмбриона человека. Характер клеточных повреждений, предельная температура размножения позволяют дифференцировать возбудитель натуральной оспы от вирусов оспы животных.

Идентификация вируса включает постановку **реакции нейтрализации** на куриных эмбрионах или культурах клеток, применение ИФА и ПЦР.

6.6. Лечение и профилактика натуральной оспы

Для **лечения** и экстренной профилактики оспы используется **метисазон** (марборан), подавляющий внутриклеточную репродукцию вируса оспы. Он особенно эффективен на ранних стадиях заболевания и в инкубационном периоде.

В 1967 г. ВОЗ разработала детальную программу мероприятий по ликвидации оспы во всем мире, широкую материальную помощь ей оказали СССР, США, Швеция и другие страны. Использовались **живые вакцины**, в состав которых входил вирус осповакцины.

Иммунизация осповакциной защищала также от инфекции вирусом оспы обезьян.

В результате выполнения программы натуральная оспа как заболевание была глобально ликвидирована. В 1977 г. в Сомали был зарегистрирован последний случай оспы в мире. Таким образом, оспа исчезла как нозологическая форма благодаря вакцинации населения.

В дальнейшем согласно рекомендациям ВОЗ обязательная вакцинация населения против оспы была отменена. Ее следует проводить только персоналу лабораторий, работающих с вирусом оспы обезьян и другими ортопоксвирусами, а также сотрудникам научных и медицинских групп, обследующих природные очаги оспы обезьян.

С учетом длительного срока, прошедшего после отмены противооспенной вакцинации, у подавляющего большинства населения Земли иммунитет к вирусу натуральной оспы в настоящее время отсутствует.

VII. ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

7.1. Общая характеристика онкогенных вирусов

Опухолевый процесс характеризуется *беспредельным размножением трансформированных* под действием *канцерогенных факторов* клеток в организме человека.

Ряд вирусов относятся к группе *биологических канцерогенов*. Их называют *онкогенными вирусами*.

К ним принадлежат отдельные виды и типы ДНК-содержащих и РНК-содержащих вирусов.

К *ДНК-содержащим* онкогенным вирусам относят вирус папилломы человека (основные онкопатогены – ВПЧ 16 и 18-го типов); вирус герпеса 8-го типа, вирус Эпштейна-Барр, вирус гепатита В и некоторые другие.

К наиболее изученным *РНК-содержащим* онковирусам, относится вирус 1-го типа Т-клеточного лейкоза (HTLV-1), вирус гепатита С.

Общий механизм действия онкогенных вирусов связан с их воздействием на определенные точки мишени генетического аппарата клетки: *протоонкогены*, *гены-супрессоры*, гены, контролирующие *апоптоз*, и гены, ответственные за *репарацию*. При повреждении этих генов клетки трансформируются, перестают подчиняться механизмам тканевого управления процессом пролиферации и приобретают способность к неограниченному делению.

Согласно оценкам, до 20% всех случаев злокачественных новообразований может быть связано с опухолеродными вирусами.

7.2. Онкогенные вирусы папилломы человека (ВПЧ)

7.2.1. Общая характеристика

Само название «*папилломавирусы*» происходит от лат. *papilla* – пузырь и греч. *-ота* – опухоль. Они относятся к ДНК-содержащим вирусам, которые вызывают образование папиллом на коже или слизистых оболочках человека и животных. Как биологические канцерогены, данные вирусы могут вызывать у человека злокачественные опухоли шейки матки, внешних половых органов, прямой кишки.

В больших количествах ВПЧ содержатся в папилломатозных образованиях (бородавках). Возбудители передаются при тесном контакте; распространены повсеместно.

7.2.2. Патогенез онкогенного действия папилломавирусов человека

Геном вируса кодирует 8-10 белков. Наибольшее значение для бластоматозной трансформации клеток принадлежит белкам **E6** и **E7**, которые в обычных условиях участвуют в репликации клеточной ДНК. Инфицированию подвергаются базальные эпителиальные клетки.

После инфицирования базальных эпителиальных клеток в их ядрах происходит репродукция вирусов. При завершении сборки вириона клеточное ядро разрушается, инфицированная клетка лизируется, вирус освобождается.

Возможен другой вариант развития событий: после **интеграции ДНК** вируса в клеточный геном под действием вирусных белков **E6** и **E7** нарушается контроль деления клетки, индуцируются мутации клеточной ДНК, что ведет к нестабильности генома, появлению клона клеток с мутантной ДНК, содержащей ДНК вируса. Дальнейшая пролиферация клеток ведет к росту опухоли.

Среди *вирусов папилломы человека (ВПЧ)*, ассоциированных с опухолями шейки матки и прямой кишки, выделяют **ВПЧ 16-го** и **18-го типов**.

Гены E6 и E7 этих вирусов кодируют соответствующие вирусные протеины, которые являются основной причиной трансформации клеток. После интеграции вирусной ДНК в ДНК зараженной клетки в геноме вируса происходит разрыв, в результате которого усиливается экспрессия вирусных белков **E6** и **E7**.

Главной мишенью для протеина **E6** является клеточный белок **p53**, который под его влиянием инактивируется.

Роль белка **p53** для контроля опухолевого роста в клетке является определяющей. Он действует как **фактор транскрипции** – усиливает экспрессию одних генов и подавляет экспрессию других. В частности p53 активирует ген **p21**, продукт которого ингибирует *циклинзависимые киназы* и тем самым действует на регуляцию клеточного цикла.

Также белок p53 вызывает экспрессию генов отвечающих за репарацию клеток.

Наконец, p53 увеличивает экспрессию генов, участвующих в *апоптозе*, что особенно важно для уничтожения подвергшихся мутационным изменениям клеток. Таким образом, под действием вирусов папилломы человека основная *супрессорная функция p53* в опухолевом росте человека *подавляется*.

Другой вирусный протеин *E7* связывается с клеточным белком *Rb*, что приводит к освобождению фактора транскрипции *E2F* из связи с Rb белком. Данный фактор транскрипции активирует гены, облегчающие *переход клетки из фазы G1 в фазу S* клеточного цикла, что будет способствовать пролиферации клеток.

Протеины E6 и E7 от разных видов ВПЧ имеют неодинаковую чувствительность к клеточным белкам Rb и p53. *ВПЧ 16 и 18* типов имеют максимальный аффинитет к этим белкам. Это объясняет их *высокий онкогенный потенциал* по сравнению с некоторыми другими представителями папилломавирусов.

Несмотря на то, что вирусные протеины E6 и E7 подавляют функцию двух важнейших генов-супрессоров, для возникновения опухоли необходимо накопление дополнительных мутаций в клеточном геноме. Этому будут способствовать такие факторы риска как курение, гормональные расстройства, хроническое воспаление, нарушения питания, другие инфекционные факторы и т.д.

7.2.3. Лабораторная диагностика и профилактика папилломавирусной инфекции

Для лабораторной диагностики папилломавирусной инфекции используют молекулярно-генетические методы выявления вирусной ДНК, такие как гибридизация нуклеиновых кислот.

Для идентификации ВПЧ также используется ПЦР, однако в отдельных случаях применение ПЦР может приводить к гипердиагностике инфекции. Оптимальным является совместное использование гибридизации *in situ* и ПЦР.

Для специфической профилактики рекомендовано использование генно-инженерных вакцины, содержащих белки капсида вируса.

7.3. Герпесвирус 4 типа – вирус Эпштейна–Барр

7.3.1. Общая характеристика

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) вызывает инфекционный мононуклеоз и ряд опухолевых заболеваний – *лимфому Беркитта*,

В-клеточную лимфому, назофарингеальную карциному. Эти заболевания относятся к злокачественным новообразованиям ***лимфоидной*** ткани.

7.3.2. Механизм онкогенного действия вируса

Вирус Эпштейна-Барр проникает в эпителиальные клетки носоглотки с последующим инфицированием ***В-лимфоцитов***.

В ходе репродукции вируса образуется ряд белков, стимулирующих клеточную пролиферацию.

Вирусный протеин ***LMP-1*** подавляет апоптоз лимфоцитов, стимулирует образование на клетках дополнительных рецепторов для эпидермального фактора роста, нарушает клеточную дифференцировку, усиливает синтез регуляторных цитокинов, подавляющих действие цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллерных клеток.

Начального трансформирующего действия вируса недостаточно для последующего возникновения опухоли. Необходимо, чтобы в одном из клонов пролиферирующих лимфоцитов произошли и закрепились генетические изменения (мутации), стимулирующие канцерогенез.

В итоге при инфекции ВЭБ в геноме В-лимфоцитов возникают хромосомные транслокации, затрагивающие гены иммуноглобулинов и нарушающие нормальную экспрессию ключевого регуляторного гена *c-myc*. Эти изменения значительно повышают вероятность опухолевой трансформации зараженных клеток.

7.3.3. Лабораторная диагностика инфекции ВЭБ

Для выявления ДНК вируса Эпштейна-Барр используются методы ПЦР-диагностики и метод молекулярной гибридизации. С целью серологической диагностики применяют ИФА для определения специфических антител к антигенам ВЭБ.

7.4. Герпесвирус 8 типа (герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши)

7.4.1. Общая характеристика

Герпесвирус типа 8, ассоциированный с саркомой Капоши, относится к семейству *Herpesviridae* и роду *Rhadinovirus*.

Вirus может вызывать *саркому Капоши* у лиц со *стойким снижением иммунитета*, например, у ВИЧ-инфицированных в стадии СПИД или при вторичных иммунодефицитах на фоне лучевой терапии и химиотерапии.

Саркома Капоши – опухолевое поражение тканей, которое может локализоваться в коже, на слизистых (например, в ротовой полости), в различных участках желудочно-кишечного тракта.

Источником вирусной инфекции является заболевший человек или бессимптомный вирусоноситель. Пути передачи – при половом контакте, возможна контактно-бытовая и воздушно-капельная передача.

Возбудитель широко распространен в странах Африки, Южной Америки, Ближнего Востока.

7.4.2. Механизм онкогенного действия вируса

Вirus длительно персистирует в лимфоцитах и лимфоидной ткани человека, стимулирует пролиферацию лимфоцитов, подавляет апоптоз клеток, меняет экспрессию генов, контролирующих клеточное деление. В условиях выраженного иммунодефицита это может приводить к злокачественной трансформации клеток.

7.4.3. Диагностика и профилактика

С целью лабораторной диагностики инфекции используют методы ИФА и иммуноблотинга с целью обнаружения вирусных АГ, а также ПЦР для выявления вирусной ДНК.

Специфическая профилактика не разработана.

7.5. Вirus гепатита В

7.5.1. Общая характеристика

Вirus гепатита В (ВГВ) относится к ДНК-содержащим вирусам семейства *Нepadnaviridae*. Вирионы ВГВ – мелкие вирусные частицы с белково-липидным суперкапсидом, весьма устойчивые к внешним воздействиям. Передача инфекции происходит через зараженную кровь (гемоконтактный механизм) при половом контакте, внутривенном употреблении наркотиков, парентеральных медицинских вмешательствах, а также вертикально от матери к ребенку при беременности и в родах. Инфицирующая доза вируса минимальна (единичные вирусные частицы).

У заболевших развивается острый вирусный гепатит, который может переходить в хроническую форму (до 5% случаев). Одним из осложнений хронического вирусного гепатита В является развитие *гепатоцеллюлярной карциномы*. По статистике более половины всех случаев зарегистрированных гепатокарцином связано с инфицированием ВГВ. Исходя из этого, вирус гепатита В определен как биологический канцероген человека.

7.5.2. Патогенез онкогенного действия ВГВ

Онкогенное действие вируса связано с его специфическим и неспецифическим воздействием на клетки.

Неспецифическое воздействие обусловлено длительным вирусным повреждением печени с последующей пролиферацией гепатоцитов. Хронический гепатит сопровождается некрозом печеночных клеток, что стимулирует регенеративные процессы в печени. В пролиферирующих клетках могут активироваться протоонкогены; также здесь возникают мутации, нарушающие функцию генов-супрессоров и генов, контролирующих апоптоз.

Активированные в условиях хронического воспаления иммунные клетки могут дополнительно повреждать геном гепатоцитов, например, через усиление продукции активных форм кислорода.

Механизмы *специфического влияния* вируса гепатита В на канцерогенез в печени до конца не выяснены. Они связаны с активностью вирусных генов и кодируемых ими белков.

Вирус способен *встраивать свой геном* в различные участки ДНК гепатоцита с возникновением мутаций в клеточных генах по месту внедрения вируса.

В частности, неоднократная интеграция генома ВГВ в сайт гена циклина Е1 может приводить к нарушению регуляции перехода клетки из одной фазы клеточного цикла в другую. Повреждение гена, ответственного за метилирование гистонов, изменяет нормальную структуру хроматина. Внедрение ВГВ в клеточный ген ТЕРТ (ген теломеразы) способствует неограниченному делению гепатоцитов.

Вирусный протеин *НВх* может выступать в роли опухолевого промотора. Другие онкогенные эффекты этого белка связаны с его действием на различные формы протеинкиназ с нарушением внутриклеточных сигнальных путей, что в итоге стимулирует клеточную пролиферацию. Также протеин НВх оказывает ингибирующее действие на клеточный белок р53, что приводит к угнетению апоптоза.

Кроме того, белок HBx снижает экспрессию HLA I класса на гепатоцитах и угнетает секрецию клетками интерферонов I типа, тем самым подавляя местный противоопухолевый иммунитет.

7.5.3. Лабораторная диагностика

Для диагностики хронической инфекции ВГВ используют серологические методы и ПЦР.

На первом этапе выполняют серодиагностику методом ИФА (в крови обследуемых выявляют вирусный HBs AG).

При положительном результате серологического теста на втором этапе применяют ПЦР для решения вопроса о необходимости противовирусного лечения.

Для оценки тяжести гепатита выполняют биохимический анализ крови с определением билирубина, аланиновой и аспарагиновой трансаминаз.

Дополнительно пациенты с хроническим гепатитом В проходят регулярное инструментальное и лабораторное обследование с целью своевременного выявления гепатоцеллюлярной карциномы.

7.5.4. Профилактика и лечение

Для специфической профилактики вирусного гепатита В используется генно-инженерная вакцина. Своевременно проведенная вакцинация полностью защищает от инфекции ВГВ и тем самым предотвращает развитие хронического гепатита, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы.

Для лечения хронического гепатита В наиболее эффективны синтетические аналоги нуклеотидов – ингибиторы вирусной полимеразы. Также применяются препараты интерферона. Терапию необходимо вести длительно с постоянным лабораторным контролем результатов.

Эффективное противовирусное лечение позволяет остановить прогрессирование хронического гепатита В и предупредить развитие гепатоцеллюлярной карциномы.

7.6. Вирус гепатита С

7.6.1. Общая характеристика

РНК-содержащий вирус гепатита С (ВГС) относится к флавивирусам. Его вирион представляет собой сферическую частицу, окруженную липидным суперкапсидом.

Геном ВГС кодирует до 10 различных структурных и неструктурных белков. Возбудитель обладает чрезвычайной генетической изменчивостью,

Вирусный гепатит С – это инфекция с преимущественным поражением печени, парентеральным механизмом передачи и склонностью к хроническому течению с частым развитием осложнений (цирроз печени, *гепатоцеллюлярная карцинома*).

Из общего числа выявленных гепатокарцином до 25% приходится на инфицирование ВГС. Исходя из этого, вирус гепатита С наряду с вирусом гепатита В является доказанным биологическим канцерогеном человека.

7.6.2. Патогенез онкогенного действия вируса гепатита С

Неспецифическое онкогенное действие ВГС подобно воздействию вируса гепатита В. Оно связано с развитием хронического гепатита, некрозом гепатоцитов и стимуляцией регенерации с последующими изменениями в пролиферирующих клетках.

Специфическое действие вируса, вероятнее всего, обусловлено способностью вирусных белков изменять работу клеточных сигнальных путей, отвечающих за пролиферацию и клеточное деление.

В частности, вирусный внутренний белок (*кор-протеин*) и неструктурный белок *NS3* подавляют активность клеточного белка p53 – индуктора апоптоза. Подавление апоптоза под влиянием вируса препятствует физиологической остановке клеточного деления.

Кор-протеин ВГС также влияет на экспрессию основных клеточных регуляторных белков. В частности, он подавляет продукцию белка p21, что нарушает переход клетки из одной фазы клеточного цикла в другую. Его вмешательство в клеточные сигнальные пути через белки семейства Wnt и катенин приводит к тому, что клетка постепенно утрачивает контроль за клеточным ростом. Также он способен активировать протоонкогены.

Наконец, через активацию ключевого фактора транскрипции NF-κB кор-белок ВГС стимулирует воспаление в ткани печени.

7.6.3. Лабораторная диагностика и лечение вирусного гепатита С

На первом этапе производят серодиагностику – определяют АТ к вирусу гепатита С методом ИФА.

При положительном результате серологического теста выполняют ОТ-ПЦР для выявления в крови вирусной РНК.

Основным лечебным мероприятием, позволяющим добиться полного излечения пациентов с вирусным гепатитом С, является назначение курсов комбинированной терапии противовирусными препаратами прямого действия (такими, как ингибитор вирусных протеаз симепревир, ингибитор РНК-полимеразы софосбувир, антагонист вирусного белка NS5А ледипасвир и др.).

Успешное лечение хронического вирусного гепатита С отменяет риск развития у пациентов гепатоцеллюлярной карциномы.

7.7. Т-лимфотропный вирус 1 типа (HTLV-1)

7.7.1. Общая характеристика

Т-лимфотропный вирус 1 типа, известный как *вирус Т-клеточного лейкоза человека 1-го типа* или **HTLV-1** относится к семейству *Retroviridae*, подсемейству *Orthoretrovirinae*, роду *Deltaretrovirus*.

HTLV-1 может вызывать злокачественную опухоль кроветворной ткани – **Т-клеточный лейкоз**.

Заражение происходит при переливании крови, половом контакте, через грудное молоко. Вирус распространен в Южной Японии, Карибском регионе, островах Тихого океана (Папуа-Новая Гвинея). В Японии антитела к вирусу обнаруживаются у 15-30% населения; риск развития лейкоза составляет 1-4%.

подавляющее большинство людей являются лишь бессимптомными носителями вируса.

7.7.2. Патогенез онкогенного действия вируса

HTLV-1 проявляет сродство преимущественно к **Т лимфоцитам**, в большей степени – к (**CD4⁺**) Т-клеткам. Также он может взаимодействовать с другими клетками и рецепторами.

Вирусный белок **Tax** активирует клеточные гены, кодирующие интерлейкин-2, рецептор к нему, а также колониестимулирующий фактор роста моноцитов и макрофагов. Кроме того, данный протеин, действуя на циклинзависимые киназы, облегчает переход клетки из одной фазы клеточного цикла в другую.

Избыток интерлейкина 2 и его рецептора приводят к поликлональной пролиферации инфицированных Т-лимфоцитов.

Впоследствии в них накапливаются мутации, и появляется моноклон независимых трансформированных Т-лимфоцитов, который со временем становится источником опухолевого роста. Только у одного процента инфицированных в итоге развивается Т-клеточный лейкоз, при этом латентный период болезни может составлять 20-30 лет.

7.7.3. Лабораторная диагностика и профилактика инфекции

Основной метод лабораторной диагностики инфекции HTLV-1 – серологический. Для выявления противовирусных АТ используют ИФА, метод агглютинации латексных частиц и иммуноблотинг. Дополнительно при необходимости применяют количественный вариант ПЦР.

Профилактика заражения неспецифическая и включает стандартные меры по борьбе с инфекциями, передающимися парентеральным путем. Контроль донорской крови на наличие антител к данному вирусу проводится в странах с высоким уровнем распространения инфекции.

VIII. ПРИОНЫ И ПРИОНОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Прионы – это уникальный класс инфекционных агентов, принципиально отличающийся от всех остальных известных возбудителей.

Прионы (от англ. *proteinaceous infectious particle*) представляют собой инфекционные частицы **белковой природы**. У человека они способны вызывать ряд нейродегенеративных заболеваний, известных как **трансмиссивные губчатые** (или **спонгиозные**) **энцефалопатии**.

Благодаря открытию прионов (С. Прузинер, 1982 г.) было доказано, что не только нуклеиновые кислоты, но в отдельных случаях и продукты генов – белки – могут выступать в роли носителей информации. Отличие прионов от вирусов и бактерий как возбудителей инфекций заключается в том, что прионовые частицы **не имеют генома** – в них **отсутствуют ДНК** или **РНК**.

8.1. Происхождение прионов и патогенез прионовых инфекций

Идентификация прионов стала возможной благодаря клонированию гена **PRNP** (*PRioN Protein gene*), картированного на коротком плече 20-й хромосомы. Этот ген в норме кодирует неизменный прионовый белок **PrP^C**.

Ген PRNP эволюционно стабилен. Он присутствует не только у человека, но также найден у млекопитающих, птиц; прионовые белки выявлены в клетках дрожжей и других грибов.

Неизменный прионовый белок **PrP^C** экспрессируется у человека в нейронах и глиальных клетках ЦНС, а также в лейкоцитах и некоторых других клетках. Функция белка до конца не выяснена; возможно, он играет роль в передаче сигнала в нервной системе, регулируя синаптическую активность.

Патология человека возникает из-за **превращения** нормального прионового белка **PrP^C** в его патогенную форму **PrP^{Sc}**.

Установлено, что не имеющие гена PRNP организмы не заражаются прионами. Это определяется тем, что в отсутствие гена в клетках не имеется белка, подверженного конформационным изменениям и превращающегося в патологический.

В организме начальные количества измененных патогенных прионовых белков *PrP^{Sc}* образуются либо при мутации в гене *PRNP* (**наследственные формы болезней**), либо при заражении от больного организма (**инфекционная форма заболеваний**).

Патогенный прионовый белок *PrP^{Sc}* вызывает **конформационную перестройку** нормальной клеточной его изоформы *PrP^C*. Процесс представляет собой цепную реакцию с вовлечением в нее все новых и новых прионовых молекул.

При использовании различных методов исследования в составе прионовых частиц **не удалось обнаружить нуклеиновых кислот** – ДНК или РНК. Вследствие этого они устойчивы к действию нуклеаз.

В целом прионы **чрезвычайно резистентны** к внешним воздействиям. Они устойчивы к действию протеаз, 10% раствору формалина, кипячению.

Прионовые молекулы обладают **способностью к самоагрегации** с образованием **амилоидоподобных бляшек** в тканях ЦНС (головном мозге). Это ведет к развитию **нейродегенеративных заболеваний**.

Для прионовых болезней характерны следующие общие гистологические изменения головного мозга: **губчатая (спонгиозформная) дегенерация**, атрофия и утрата нервных клеток, образование **амилоидных бляшек**, содержащих прионовый белок, пролиферация астроцитной глии.

8.2. Характеристика прионовых заболеваний

Прионовые заболевания человека достаточно редки (наследственные формы встречаются с частотой 1 случай на 1 млн), однако существуют более распространенные нейродегенеративные заболевания человека с неясной этиологией, причина развития которых также может иметь прионную природу.

Различают **наследственные** (спорадические, семейные) и **инфекционные** (приобретенные) формы прионовых заболеваний. Все они проявляются как **губчатые** (или **спонгиозформные**) **энцефалопатии**.

В настоящее время известны следующие болезни человека, вызываемые прионами:

– **болезнь Крейтцфельда-Якоба (БКЯ)**, которая существует в виде спорадической, смешанной и ятрогенной форм, а также «**нового варианта**» болезни Крейтцфельда-Якоба;

- *синдром Герстманна-Штраусслера-Шейнкера*;
- *фатальная семейная инсомния* (бессонница);
- *болезнь куру*.

Из этих болезней вследствие инфекционного процесса развиваются только куру, ятрогенная форма и новый вариант болезни Крейтцфельда-Якоба, остальные являются наследственными болезнями.

Инфекционные формы прионовых болезней передаются алиментарным путем и посредством медицинских манипуляций, включая трансплантацию органов и тканей.

Интерес к прионовым болезням значительно возрос вследствие эпидемии *трансмиссивной спонгиозформной энцефалопатии коров* («*коровье бешенство*») в Великобритании в 1980-1990-х гг.

Во время эпидемии было зарегистрировано около 30 спорадических случаев **нового варианта болезни Крейтцфельда-Якоба**, возникшего в молодом возрасте, что является нетипичным для данного заболевания.

Гистологические исследования мозга умерших пациентов выявили изменения, характерные для спонгиозформной энцефалопатии коров. Возникло предположение о возможности заражения людей через продукты, полученные из этих животных. Кроме того прионовые заболевания стали обнаруживаться у животных (кошек, живущих в неволе обезьян и др.), для которых данная патология несвойственна. Это, по-видимому, также связано с кормлением животных зараженными продуктами.

Для каждого заболевания в отдельности выделяют некоторые клинические и морфологические особенности.

Болезнь Крейтцфельда-Якоба обычно начинается в возрасте 50-65 лет. Симптомы в начальном периоде заболевания неспецифичны: астения, нарушение сна, снижение массы тела, нарушение памяти, головные боли, головокружения.

Впоследствии деменция прогрессирует, выявляются характерные изменения на энцефалограмме, ликвор остается нормальным. Затем присоединяются экстрапирамидные и пирамидные нарушения. Летальный исход наступает чаще в течение первого года болезни, иногда через 2 и более лет.

Ятрогенная форма заболевания связана с передачей болезни при пересадке тканей, через зараженный инструмент, при лечении

экстрактами тканей; при этом инкубационный период может быть достаточно длительным – свыше 10-ти лет.

Новый вариант болезни Крейтцфельда-Якоба, связанный с употреблением зараженного мяса (говядины), характеризуется более ранним началом, возраст больных колеблется от 16 до 40 лет. Клинически при этом варианте заболевания отмечаются психические нарушения, неврологическая мозжечковая симптоматика. Затем присоединяется деменция, миоклонические судороги.

Куру – болезнь, выявленная среди коренных жителей восточных высокогорий Новой Гвинеи. Болезнь развивалась среди племен, практикующих ритуальный каннибализм.

Проявляется деменцией, тремором, атаксией. Смертельный исход наступает в течение года после заражения. В связи с ликвидацией каннибализма это заболевание сейчас представляет только исторический интерес.

Синдром Герстманна-Штраусслера-Шейнкера – это наследственная патология, которая в популяции встречается крайне редко (1 случай на 10000000 населения).

Носит семейный характер с аутосомно-доминантным типом наследования. Длительность заболевания составляет около 5 лет. В начале болезни преобладают мозжечковые нарушения, затем присоединяется деменция, может развиваться глухота, слепота, экстрапирамидные нарушения. Летальный исход наступает через несколько лет от начала заболевания.

Фатальная семейная бессонница также имеет аутосомно-доминантный тип наследования. Характеризуется прогрессирующей бессонницей, гипертензией, гипертермией, тахикардией, гипергидрозом, тремором, атаксией, миоклоническими судорогами, нарушением памяти. Развивается в молодом возрасте, сопровождается нарушением секреции мелатонина, пролактина, соматотропного и адренокортикотропного гормонов. Чаще она выявляется в итальянских и итало-американских семьях.

Не исключено, что различие клинических проявлений прионных болезней связано с существованием различных штаммов прионов.

Также предполагается, что ряд широко распространенных заболеваний, приводящих к инвалидизации пациентов и последующему летальному исходу, может иметь прионовую этиологию.

К таким расстройствам, в первую очередь, относят *болезнь Альцгеймера*, *болезнь Паркинсона* и *амилоидоз*.

8.3. Лабораторная диагностика прионовых болезней

Лабораторное подтверждение прионовой этиологии заболеваний представляет значительные трудности.

Проводится **патогистологическое исследование** тканей головного мозга погибших животных с обнаружением морфологических признаков, характерных для прионовых болезней.

Одним из методов исследования является **биопроба** на животных – внутримозговое заражение мышей-сосунков или хомяков экстрактом инфицированных тканей. У зараженных животных очень медленно (до 150 дней) развивается специфическая картина заболевания. Диагноз прионовой инфекции подтверждают при гистологическом исследовании биоптата ткани головного мозга погибших животных.

Возможности диагностики прионовых болезней существенно расширились с внедрением **моноклональных АТ**, высокоспецифичных к измененному прионовому белку PrP^{Sc} . Их применение позволило разработать иммунологические методы диагностики прионовых молекул – **иммуногистохимические тесты**, **ИФА** и **вестерн-блотинг**. Однако в ряде случаев даже применение современных иммунологических тестов не обеспечивает достаточной чувствительности определения малого количества прионовых белков.

В этой связи в последнее время интенсивно разрабатываются **амплификационные методы** определения прионов. Они могут обнаруживать исчезающе малое количество прионовых белков, т.е. делают возможной прижизненную диагностику прионовых инфекций в стандартном клиническом материале (например, в крови).

В группу этих анализов входят **иммуно-ПЦР** в реальном времени; тест нарушения белковой укладки «**циклическая амплификация прионовой конверсии**»; тест **прионовой конверсии встряхиванием** в реальном времени (RT-QuIC); оптоволоконный иммунологический анализ прионовых белков или **SOFIA-тест** (*surround optical fibers immunoassay*).

SOFIA-тест обладает уникальной чувствительностью и способен обнаруживать до 1 аттограмма ($1 \cdot 10^{-18}$ г) прионовых молекул.

Внедрение амплификационных тестов в широкую клиническую практику позволит существенно улучшить диагностику прионовых заболеваний.

8.4. Профилактика и лечение прионовых заболеваний

Неспецифическая профилактика прионовых болезней в настоящее время является **единственным** способом предотвращения инфекционных форм этой патологии. Поскольку ткани погибших от прионных болезней животных контагиозны, и даже фиксация формалином не устраняет их инфекциозность, то основным способом неспецифической профилактики является сжигание туш погибших животных.

Что касается профилактики ятрогенной формы болезни Крейтцфельда-Якоба, то здесь необходимо соблюдать особо тщательный контроль за подбором донорского материала и за обработкой медицинского инструментария.

До настоящего времени еще **не разработаны** эффективные **методы лечения** прионовых болезней. Одним из перспективных направлений в разработке путей лечения считается предотвращение конформационного перехода белка PrP^{C} в PrP^{Sc} .

Учебное издание

**Генералов Игорь Иванович,
Железняк Наталья Васильевна,
Окулич Виталий Константинович и др.**

МЕДИЦИНСКАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Учебное пособие

Редактор И.И. Генералов
Технический редактор И.А. Борисов
Художник В.К. Окулич
Компьютерная верстка Д.В. Покатович
Корректор Н.В. Железняк

Подписано в печать
Формат бумаги 64х84 1/16 Бумага типографская №2.
Гарнитура ТАЙМС. Усл. печ. листов . Уч.-изд. л
Тираж экз. Заказ № .

Издатель и полиграфическое исполнение:
УО «Витебский государственный медицинский университет»
ЛП № 02330/453 от 30.12.13 г.
Пр. Фрунзе, 27, 210602, Витебск