

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Задорожная Людмила Ивановна

Должность: Проректор по учебной работе

Дата подписания: 05.09.2022 16:47:26

Уникальный программный ключ:

faa404d1aeb2a023b5f4a331ee5ddc540496512d

**Н.С. ХИШТОВА**

# **Лекции по общей микробиологии**

**Майкоп  
2010**

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ  
ГОУ ВПО «МАЙКОПСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЛЕЧЕБНЫЙ ФАКУЛЬТЕТ

**Хиштова Н.С.**

**Лекции**  
**по общей микробиологии**  
(УЧЕБНО- МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ)

**Майкоп**  
**2010**

УДК 579.2 (042. 3)  
ББК 52. 54  
Х 54

*Утверждено на совместном заседании учебно- методического совета  
медицинского института ГОУ ВПО «Майкопский государственный  
технологический университет» и Минздравсоцразвития РА  
(протокол № 5 от 18 января 2011 года)*

**р е ц е н з е н т ы :**        **Лысенков С.П.,** д.м.н., профессор директор медицинского института Майкопского государственного технологического университета.  
**Агиров А.Х.,** д.м.н., профессор, руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Адыгея.

**Хиштова Н.С.**

Лекции по общей микробиологии / Н.С. Хиштова.- Майкоп: ОАО «Полиграфиздат» «Адыгея», 2011- 174 с.

Сборник лекций рекомендуется для подготовки к практическим занятиям и семинарам студентов медицинских вузов. Сборник написан в соответствии с программой по медицинской микробиологии для студентов медицинских ВУЗов. Большое внимание уделено вопросам иммунологии: механизмам противоиного иммунитета, проблемам вакцинологии. Состоит из 3 глав, включающих 23 лекции, приведены контрольные вопросы для подготовки к итоговым занятиям. Представлены современные методы диагностики вирусных инфекций.

Лекции предназначены для студентов медицинских вузов, преподавателей и практикующих специалистов.

УДК 579.2 (042. 3)  
ББК 52. 54

## Содержание:

<b>Список сокращений</b>		<b>6</b>
<b>Номер лекции</b>		
<b>Глава I. Морфология и физиология микроорганизмов</b>		<b>7</b>
1.	Введение в микробиологию	<b>7</b>
2.	Основные принципы классификации и систематики микроорганизмов. Происхождение и пути эволюции жизни на Земле	<b>10</b>
3.	Ультраструктура бактериальной клетки	<b>14</b>
4.	Особенности обмена веществ у бактерий (метаболизм)	<b>22</b>
5.	Антибиотики и лекарственная устойчивость	<b>29</b>
Вопросы к итоговому занятию по теме: «Морфология и физиология микроорганизмов»		<b>35</b>
<b>Глава 2. Инфекция. Иммуитет. Реакции иммунной сыворотки</b>		<b>38</b>
6.	Основы учения об инфекции.	<b>38</b>
7.	Иммуитет. Видовой иммуитет.	<b>46</b>
8.	Приобретенный иммуитет. Антигены, вакцины.	<b>54</b>
9.	Приобретенный иммуитет. Антитела.	<b>63</b>
10.	Основные популяции иммунокомпетентных клеток. Клеточные основы иммуитета.	<b>70</b>
11.	Другие формы иммунного ответа	<b>75</b>
12.	Реакции иммунной сыворотки	<b>82</b>
Вопросы к итоговому занятию по теме: «Инфекция. Иммуитет. Реакции иммунной сыворотки»		<b>87</b>
<b>Глава 3. Вирусология</b>		<b>90</b>
13.	Основные свойства вирусов и их молекулярно-генетическая организация.	<b>90</b>
14.	Бактериофаги	<b>98</b>
15.	Острые кишечные вирусные инфекции (ОКВИ).	<b>101</b>
16.	Острые респираторные вирусные инфекции. Вирус гриппа А.	<b>109</b>
17.	Парентеральные гепатиты.	<b>118</b>
18.	ВИЧ – инфекция	<b>127</b>
19.	Герпесвирусы	<b>135</b>
20.	Арбовирусы	<b>141</b>

21.	Генетика бактерий	<b>152</b>
22.	Особенности противовирусного иммунитета. Персистенция вирусов.	<b>158</b>
23.	Риккетсиозы.	<b>163</b>
	Вопросы к итоговому занятию по теме « Вирусология»	<b>170</b>
	Литература	<b>173</b>

## Список сокращений

АГ	- антиген
АТ	- антитело
БФ	- бактериофаг
ГЗТ	- гиперчувствительность замедленного типа
ГНТ	- гиперчувствительность немедленного типа
Гр (+)	- грамположительные
ГЭ	- гастроэнтерит
ИИ	- источник инфекции
ИФА	- иммуноферментный анализ
КК	- культура клеток
КОА	- ко- агглютинация
КС	- клеточная стенка
ЛПС	- липополисахарид
Л/У	- лимфотический узел
ЛТК	- липотейхоевые кислоты
М/О	- микроорганизм
ММ	- молекулярная масса
МПК	- минимальная подавляющая концентрация
МФА	- метод флуоресцирующих антител
НК	- нуклеиновая кислота
НМ	- наружная мембрана
ОКИ	- острая кишечная инфекция
ОФР	- опсоно – фагоцитарная реакция
ПГ	- пептидогликан
ПМ	- полиомиелит
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РА	- реакция агглютинации
РАГА	- реакция агрегатгемагглютинации
РИФ	- реакция иммунофлуоресцирующих антител
РН	- реакция нейтрализации
РНГА (РПГА)	- реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации
РНИФ	- реакция непрямой иммунофлуоресценции
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РСК	- реакция связывания комплемента
ТК	- тейхоевые кислоты
ЦИК	- циркулирующие иммунные комплексы

# Глава 1. Морфология и физиология микроорганизмов

## Лекция № 1. Введение в микробиологию

**Микробиология** - наука, изучающая организмы, неразличимые невооруженным глазом, только с помощью оптического (микробы) или электронного микроскопа (вирусы).

micros - малый (греческий);

bios - жизнь;

logos - учение.

### Изучает:

- морфологию микроорганизмов;
- физиологию;
- генетику;
- систематику;
- экологию;
- взаимоотношения с другими формами жизни.

### Направления:

1. *Медицинская*. Изучает м/о, патогенные и условно- патогенные для человека, методы их выделения, идентификации, специфической терапии и профилактики;
2. *Общая*. Изучает фундаментальные закономерности жизнедеятельности всех классов микроорганизмов;
3. *Техническая* (промышленная, биотехнология). Исследует микробиологические процессы, используемые при производстве биологически активных препаратов и веществ. Например,
  - антибиотики, которые являются продуктами жизнедеятельности микроорганизмов;
  - инсулина, который синтезируется кишечной палочкой, которой введен ген, отвечающий за его синтез.
4. *Сельскохозяйственная*. Изучает:
  - а) состав микрофлоры почвы и её влияние на структуру и плодородие;
  - б) болезни растений, вызванные микроорганизмами (биологическое оружие) и способы борьбы с ними;
  - в) консервирование кормов;
5. *Ветеринарная* и (или) *медицинская*. Изучает свойства патогенных микроорганизмов, вызывающих заболевание у человека и у животных.

6. *Космическая*. Изучает:

- нормальную микрофлору человека и животных в условия космоса;
- вынос и внос м/о из космоса на Землю и обратно.

**Медицинская микробиология подразделяется на:**

1. Общую микробиологию и вирусологию;
2. Инфектологию – учение об инфекции - взаимодействие микро и макроорганизма;
3. Иммунологию- невосприимчивость макроорганизма;
4. Частную микробиологию. Состоит из 7 частей:
  - медицинская бактериология;
  - медицинская вирусология;
  - медицинская микология;
  - медицинская паразитология;
  - медицинская микробиология стоматологических заболеваний;
  - санитарная микробиология – изучает микрофлору окружающей среды и её влияние на здоровье человека;
  - клиническая микробиология – изучает этиологию, патогенез, иммунитет микробных заболеваний в неинфекционной клинике, методы лабораторной диагностики, специфической терапии и профилактики. Исследует условно- патогенные микроорганизмы, вызывающие оппортунистические инфекции в условиях больничных стационаров. Основоположник – Красильников А.П.

**Периоды развития науки.**

1. - период до открытия м/о;
  - период обнаружения м/о, но не известна их роль (А. Левенгук);
2. - физиологический период (Луи Пастер, XIX век);
3. I половина XX века – углубленное изучение свойств м/о, изучение вирусов;
4. II половина XX века – революция в биологии;  
1347-52 гг. – пандемия чумы, обратили внимание, что не все заболели и на источник инфекции.  
1546 – «О заразах и заразных болезнях». Высказывания о живых контариях.  
Конец XVII века, 1695 г – голландец *Антоний Левенгук* изобрел микроскоп, который давал увеличение в 300 крат. В дождевой воде обнаружил «живых зверьков», издал трактат «Тайны природы от А. Левенгука».

*Поль Де Круин* «Охотники за микробами». Пытался объяснить остроту перца, искал крючки, делал настои и обнаружил, что количество микроорганизмов увеличивается в накопительных средах.

Итальянец *Лаццаро Спаллацини* (1729-1799гг) обнаружил процесс деления бактерий под микроскопом и значительное увеличение количества м/о в мясных настоях, чем в обычной воде. Была теория самозарождения м/о в мясных отварах, но после кипячения сред, рост бактерий отсутствовал.

До 1800г. – морфологический период. Французский химик *Луи Пастер* (1829-1895гг):

- работал с виноделами, доказал, что спиртовое брожение вызывается определенными м/о. Предложил пастеризацию виноградного сока;
- поиск м/о, вызывающих заболевание шелкопряда;
- в птицеводстве «холера птиц»; получил культуры, без болезнетворных свойств. Привитые такими штаммами куры не заболевали при последующих заражениях болезнетворными м/о;
- сибирская язва - выделил культуры, которые не вызывали заболевания у животных, но и предохраняли от заражения. Публичный опыт на животных. Разработал технологию получения этих препаратов. Назвал в честь Дженнера «вакцины»;
- бешенство. Не выделяя вирус, перевивал мозговую ткань собак, а затем кроликов. Получил аттенуированный (ослабленный) штамм. Привил мальчику, укушенному бешеным волком - остался жив. В России в 1886 г было налажено производство антирабической вакцины.

*Роберт Кох* (1843- 1910гг). Немецкий ученый.

- роль м/о в этиологии заболевания - триада Коха;
- усовершенствовал оптический микроскоп;
- открыл большое количество патогенных м/о: туберкулезную палочку, вибрион холеры, дифтерийную палочку, палочку брюшного тифа. Получил туберкулин.

*Мечников И.И.* (1845-1916). Заложил основы иммунологии.

*Ивановский Д.И.* – открытие вируса табачной мозаики в 1892 г.

## **Лекция № 2. Основные принципы классификации и систематики микроорганизмов. Происхождение и пути эволюции жизни на Земле.**

*Систематика* - биологическая наука, изучающая разнообразие организмов и их взаимоотношения друг с другом. Т.е. это целое, состоящее из отдельных частей.

*Таксономия* – распределение по группам (таксонам) на основании морфологии и физиологии м/о.

Основная таксономическая единица – *вид* (species).

*Порядок категорий*: вид → род → семейство → порядок → класс → отделы → царство → надцарство.

Различают 11 групп микроорганизмов. К 1 группе относят бактерии - *Schizomycetes*: грибы – дробянка (*Schizo* – расщепляю и *mycetes* – грибы).

**М/о относят к 4 царствам жизни:**

1. вирусы;
2. плазмиды;
2. прокариоты (объединяют эубактерии и архибактерии);
3. эукариоты.

К *прокариотам* относят: бактерии, сине-зеленые водоросли, спирохеты, актиномицеты, риккетсии, микоплазмы.

К *эукариотам* относят: дрожжи, простейшие, нитчатые грибы, все животные и растительные организмы.

**Вирусы** - особое царство, отличаются от про - и эукариотов:

- нет собственных рибосом;
- нет белоксинтезирующей системы;
- нет энергосинтезирующей системы;
- один тип н.к.

Являются абсолютными внутриклеточными организмами.

**Отличия прокариот (эубактерии и архибактерии) от эукариот:**

- 2 типа н.к.;
- наличие 70S рибосом (у эукариот – 80S);
- нет ядерной оболочки, ядрышка;
- митохондрии, эндоплазматический ретикулум, хлоропласты –

отсутствуют;

- размножаются неполовым путем – бинарным делением;
- в клеточной стенке имеется пептидогликан (муреин), отсутствуют стероиды;
- жгутики представлены белком флагеллином, у эукариот – микрофибрилы;
- дыхание – возможно анаэробное;
- размер – 1-10 мкм, у эукариот – 10-100 мкм;
- хромосома -1, гистоны отсутствуют.

**Архобактерии** – древняя форма жизни. Занимают промежуточное положение между эубактериями и эукариотами. Отличие от эубактерий:

1. часть генов устроены как экзоны;
2. рибосомы занимают промежуточное положение между 70 и 80 S = 75S;
3. клеточная стенка не содержит ПГ (муреин);
4. особая структура липидов;
5. особый состав РНК- полимераз;
6. дифтерийный токсин оказывает действие на белоксинтезирующую систему эукариот и архобактерий. Эубактерии не чувствительны.

*Архобактерии делятся на 3 группы:*

- строгие анаэробы, усваивают метан (метаногены);
- экстремальные галлофилы (растут в присутствии 30% NaCl);
- термофильные ацидофилы – ↑Т - 60-90°C, ↓ рН – 5,0-1,0 (кислая среда).

**Прокариоты подразделяются на 4 отдела:**

1. Gracilicutes ( входят грам (-) м/о);
2. Firmicutes (кожа, входят грам (+) м/о);
3. Tenericutes (входят бактерии, лишённые клеточной стенки- микоплазмы, ураплазмы);
4. Mendosicutes (архобактерии).

**Схема эволюции м/о:**

1. Все биологические вещества существовали только в одной изомерной форме – D и L;

2. После появления полимеров стали синтезироваться аминокислоты, белки и нуклеотиды;
3. Возникновение нуклеопротеидов (предшественники вирусов);
4. Возникновение клетки- предшественницы микоплазм;
5. Возникновение из неё архибактерий, эукариот, эубактерий;
6. Возникновение клетки- предшественницы животного царства (клетка-предшественник эукариот + эубактерия, которая превратилась в митохондрии);
7. Возникновение клетки- предшественницы растительного царства (клетка-предшественник эукариот + эубактерия, которая превратилась в хлоропласт);
8. Возникновение многоклеточных микроорганизмов;

**Прокариоты подразделены на 33 группы** (по справочнику Берги).

**Принципы классификации микроорганизмов:**

- морфология (величина, форма, характер взаиморасположения);
- окраска по Граму (Гр (+) и Гр (-)), т.е. тинкториальные свойства – способность окрашиваться различными красителями;
- спорообразование (форма и расположение споры в клетке);
- тип дыхания (аэробы, анаэробы, факультативные анаэробы, микроаэрофилы);
- тип питания (углеродного – аутотрофы, гетеротрофы, азотного – аминокислототрофы, аминокислотогетеротрофы);
- культуральные свойства (характер роста на жидких и плотных средах);
- биохимические свойства - сахаролитическая, протеолитическая активность, образование сероводорода, индола, уреазы;
- антигенные свойства – определяются составом клеточной стенки, жгутиками, пиллями;
- химический состав клеточных стенок;
- белковые спектры – степень гомологии ДНК;

**Ряд таксономических систем:**

- нумерическая – вид м/о устанавливается по числу совпадающих фенотипических признаков;
- хемотаксономическая - исследуются липидный, аминокислотный состав м/о;
- генотаксономическая – основана на генетических признаках.

Устанавливают по трансдукции, трансформации, конъюгации, по плазмидам и транспозонам;

- серотаксономическая – определение антигенной структуры м/о.

В настоящее время определяют филогенетическое положение прокариотов, т. е. вид и род определяются по нуклеотидным последовательностям 16 р - РНК (гомология ДНК-ДНК).

Для названия м/о используют бинарную номенклатуру Карла Линнея:

- первое слово обозначает род (с прописной буквы), часто имя автора; например, *Shigella*

- второе – вид (со строчной буквы), наименование заболевания, место обитания; например, *disenteria*.

*Вид* – совокупность популяции, имеющих общий корень происхождения, приспособленный к определенной среде обитания, близкий по генетическому аппарату и имеющий общие фенотипические свойства.

*Вид* – совокупность м/о, имеющих общий корень происхождения, сходный генотипические и максимально близкие фенотипические признаки и свойства (по Коротяеву).

*Штамм*- любая культура м/о, выделенная из определенного или одного и того же источника (человек, объект внешней среды) в разное время.

*Колония* – изолированное скопление клеток на поверхности или в толще питательной плотной среды и видимая невооруженным глазом.

*Чистая культура м/о* – потомство м/о, полученное из одной материнской колонии, в результате микробиологических манипуляций.

*Клон* – полностью генетически однородный штамм, полученный в результате прямой изоляции одной материнской клетки.

## Лекция № 3. Ультраструктура бактериальной клетки

Любая бактериальная клетка состоит из 3 компонентов:

- поверхностные структуры;
- клеточная оболочка;
- цитоплазма.

### I. Поверхностные структуры:

**1. Капсула.** Представлена слизистым слоем, толщина варьирует у разных видов бактерий. Это продукт жизнедеятельности поверхностных слоев цитоплазмы. Химический состав капсул строго специфичен. Состоит из:

- сложных полисахаридов с/без содержания азотсодержащих соединений;
- полисахаридов (менингококки, стрептококки);
- полипептидов (сибирская язва)- устойчивы к протеолитическим ферментам;

Образуется в биологическом организме, некоторые виды бактерий - на питательных средах.

*Функция:*

- защита от фагоцитоза (фактор патогенности);
- от действия антител;
- от проникновения лекарственных веществ;
- адгезия к клетке – мишени (прилипание);
- антигенная;
- экранируют бактериальные структуры, активизирующие систему комплемента.

**2. Жгутики.** Обеспечивают:

- подвижность;
- антигенную структуру.

*Расположение:*

- перитрихи – по всей поверхности К.С.;
- монотрихи – один жгутик на одном из полюсов клетки (*Vibrio*);
- лофотрихи – пучок жгутиков на одном полюсе клетки;
- амфитрихи - пучок жгутиков на обоих полюсах клетки;

Состоят из субъединиц сократительного белка флагеллина с малой М.М.

У *Грам (-) бактерий* жгутики прикрепляются к двум парам дисков,

1 пара –S и M- погружена в наружный слой ЦПМ, 2-ая - P и L – локализована в периплазматическом пространстве. Энергизация мембраны приводит в движение диски и соответственно жгутики.

У *Грам (+) бактерий* 2-ая пара - P и L отсутствует, т.к. имеется мощный слой ПГ, который фиксирует 1 –ю пару дисков.

**3. Микроворсинки** (пили, фимбрии) – белковые волоски от 10 до нескольких тысяч.

а) обыкновенные пили.

*Функции:*

- адгезивные свойства, т.е. прикрепление бактерий к субстратам;
- утилизация питательных веществ из окружающей среды (за счет увеличения площади бак. клетки).

б) F- пили (фактор фертильности). Участвуют в конъюгации бактерий - перенос генетической информации. Вид полых белковых трубочек  $d = 0,5-10$  мкм; У бактерий - доноров их количество – 1-4 на клетку.

## II. Клеточная оболочка.

### *1. Клеточная стенка. Функции КС:*

- защищает от внешних воздействий;
- придает форму бактерии;
- через неё осуществляется транспорт питательных веществ и выделение метаболитов;
- располагаются рецепторы для бактериофагов, бактериоцинов, химические вещества;
- поддерживает постоянство внутренней среды;
- выдерживает давление изнутри (у *Гр (+) бактерий* достигает до 30 атм.);
- воспринимает красители (тинкториальные свойства).

*Состав:*

- Пептидогликан (ПГ), состоит из параллельных полисахаридных цепей из звеньев N – ацетилглюкозамина и N- ацетилмурамовой кислоты. С N- ацетилмурамовой кислотой ковалентно связан тетрапептид, состоящий из 4 разных аминокислот: L-D -аланин (начало), D-глутамин, L –лизин (конец), глицин и диамнопимелиновая кислота (только у *Гр(-)*). Пептиды связаны между собой D –аланином одного тетрапептида и ДПК

(диамнопимелиновой кислотой) у гр (-) бактерий и лизином у гр (+) бактерий второго тетрапептида. Пептиды гр (+) бактерий связаны через пептидный мостик из 5 остатков глицина, у гр(-) бактерий – через 2 однотипных тетрапептида.

- Тейхоевые кислоты (ТК), находятся между ЦПМ и ПГ Могут пронизывать ПГ насквозь и находятся на поверхности КС.

- Липотейхоевые кислоты (ЛТК): ТК с липидным компонентом - закреплены в ЦПМ, проходят ПГ насквозь или находятся между КС и ЦПМ.

#### *Функции ПГ:*

- придает эластичность, регидность;
- расположены АГ Гр (+) бактерий;
- иммуномодулятор;
- активизирует комплимент;
- противоопухолевое действие (ФНО);
- тормозит фагоцитоз;
- обладает пирогенным действием;
- участвует в процессе L- трансформации КС;
- спорообразование.

#### *Функции ТК:*

- специфические антигены;
- удерживают клетку от деформации.

#### ***КС грам (+) бактерий:***

Состоит из 6-8 слоев ПГ, связанных с тейхоевыми и липотейхоевыми кислотами (8-50 остатков многоатомного спирта рибитола или глицерина).

#### ***КС грам (-) бактерий содержит:***

- бимолекулярный слой ПГ (1-2 слоя)
- сверху расположена наружная мембрана (НМ) (толще монослоя ПГ). Входит бислоем фосфолипидов, белки, полисахариды, липополисахариды (ЛПС).
- между КС и ЦПМ расположено периплазматическое пространство, заполненное ферментами. Здесь происходит расщепление питательных веществ.

*Фосфолипиды* прикрепляются к ПГ;

*Белки:* а) раздвигают слой фосфолипидов, встраиваются в ПГ

б) интегральные белки (порины) укладываются параллельно, между ними образуются поры, осуществляется транспорт из внешней среды в периплазму.

*ЛПС* состоит из:

- липидная часть (липид А). Функция эндотоксина.
- коровый ПС - основное звено. Структурная функция. Одинаковый у всех гр (-) бактерий.
- линейный ПС – боковые звенья углеводов. Определяет О-Аг структуру бактерий, т.к. они разные у каждого вида бактерий.

*Липопротеины* - заякорены в фосфолипидном слое НМ и образуют ковалентную связь с ПГ. Образуют внутренний слой НМ.

На связь ДПК и D – аланином действуют антибиотики (пенициллины), связь нарушается - меняется форма бактерий. Образуются:

а) *L- формы*. Бактерии полностью или частично утратившие КС, но способные к размножению. Независимо от формы бактерий, L-формы имеют сферическую форму. Образуются в организме под действием АБ. Различают реверсирующие L- формы - восстанавливающие ПГ после устранения агента и неспособные к реверсии;

б) *Сферопласты* - гр (-) -частично есть КС за счет наружной мембраны и ЦПМ;

в) *Протопласты* - гр (+) – лишены КС- есть только ЦПМ. Нуждаются в изотонической среде;

Это ведет к:

- хронизации инфекционного процесса;
- рецидивам заболевания, т.к. не действуют АБ.

КС чувствительна к действию фермента лизоцима, который расщепляет связи между N – ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой.

### **Препараты, получаемые из КС:**

- вакцины;
- иммуномодуляторы (из ЛПС - пирогенал, из ПС – продигиозан).  
Регулируют защитные силы организма;
- из белка А стафилококка – антифагин;
- из продуктов обмена – антибиотики, токсины.

## **2. Цитоплазматическая мембрана.**

Состоит из 3 слоев, двойной слой фосфолипидов пронизан глобулинами – обеспечивают транспорт веществ в клетку. Химическая структура- липопротеин: содержит 15-30% липидов, 50-70% протеинов, 2-5% углеводов, небольшое количество РНК. Липидный состав непостоянен и меняется от условий культивирования и возраста культуры, вида бактерий. Белки подразделяются на структурные и функциональные (это ферменты - окислительно – восстановительные, для биосинтеза компонентов КС, пермиазы)

*Функции:*

- физический, осмотический, метаболический барьер между внутренним содержимым клетки и внешней средой;
- выраженная избирательную проницаемость;
- система электронного транспорта бактерий (диффузия, фосфорилирование, активный транспорт);
- участие в метаболизме клетки;
- в репликации ДНК;
- регуляция клеточного деления;
- спорообразование;
- участвует в образовании КС;
- берут начало жгутики;
- мезосомы- выросты ЦПМ;
- имеются ферменты, участвующие в переносе электронов.

**3. Периплазматическое пространство.** Расположено между ЦПМ и КС. Это полость, заполненная ферментами (рибонуклеазы, фосфотазы, пенициллиназа и др.). В ней происходит расщепление большинства питательных веществ, поступающих в клетку. У Гр (+) бактерий ферменты свободно изливаются в окружающую среду.

### **III. Цитоплазма.**

**1. Цитоплазма.** Коллоидная система, состоит из воды (75%), минеральных соединений, белков, РНК и ДНК (нуклеотид), рибосом, мезосом, включений. Органеллы отсутствуют, их функции выполняет ЦПМ.

**2. ДНК (нуклеотид, генофор):**

- нет ядерной мембраны;

- лежит в цитоплазме в виде клубка из двойной суперспиральной кольцевой ДНК (2-3% массы сухой клетки);
- нет гистонов;
- нет хромосом;
- не делится митозом;
- гаплоидный набор ДНК. Перед делением удваивается, во время деления увеличивается до 4 и более;
- может присутствовать дополнительная кольцевая молекула ДНК – *плазида*. Интегрированы в генофор (интегрированные) или вне (эписомы). Несет ряд дополнительной информации, часто определяет вирулентность бактерий (множественная резистентность к антибиотикам, синтез токсинов, гемолизинов, колицинов). Интегрированные F- плазмиды мобилизуют генетическую информацию и переносят её в другую клетку. Плазмиды не являются необходимыми для бактериальной клетки.

### **3. Рибосомы.** Глобулы молекул РНК и белков.

- 70S рибосомы. Состоит из 2 субъединиц – 50 и 30 S, которые объединяются перед синтезом белка. Бактерия может содержать от 5 000 до 50 000 рибосом. Антибиотики (стрептомицин, тетрациклин, левомицетин) блокируют синтез белка только на 70S, не затрагивают 80S рибосом эукариот.

### **4. Включения.** Избыток метаболитов, используется как запас питательных веществ.

- полисахариды (крахмал, гликоген, гранулеза);
- жиры (триглицериды -Candida, воска- Micobacterium);
- полифосфаты (волютин – Corynebacterium);
- сера;
- белки (протоксин – B. thuringiensis).

### **5. Мезосомы.** Производные ЦПМ, связаны с нуклеоидом. Имеют неодинаковое строение у разных видов бактерий (трубочки, пузырьки, петлеобразные). Участвуют в делении клетки и спорообразовании.

### **6. Споры.** Форма сохранения наследственной информации в неблагоприятных условиях внешней среды. Генетически детерминированный признак, имеют небольшое число бактерий, из патогенных - Bacillus и Clostridium. Каждая клетка образует одну

эндоспору, резистентную к нагреванию, радиации, высыханию, химическим веществам. Форма споры круглая или овальная. Продолжительность жизни спор 200-1000 лет.

#### *Резистентность спор:*

- выдерживают кипячение 1-2 часа - (возбудитель столбняка), до 5 часов - возбудитель ботулизма;
- автоклавирование 120°C – до 40 минут;
- не чувствительны к низким температурам, рассеянному солнечному свету;
- не чувствительны к химиопрепаратам;
- 5% р-р фенола уничтожает их через 12-14 часов (**возб.** столбняка); 20% р-р формалина – через 24, 10% HCl – через 1 час (**возб.** ботулизма).

#### *Спорообразование.*

Образуется уплотненный участок информации с нуклеоидом, который отделяется от остальной цитоплазмы проростом внутрь клетки ЦПМ (спороплазма). Формируется проспора с двуслойной ЦПМ. Внешняя сторона мембраны уплотняется (двухслойная оболочка споры). В нее входят белки, липиды, кальцевая соль дипиколиновой кислоты, которая обеспечивает термоустойчивость. Между наружной и внутренней оболочками образуется кортекс из особого ПГ. Вегетативная часть клетки отмирает. Процесс занимает 18-20 часов.

При спорообразовании синтезируются АБ:

- эдеины - блокируют синтез ДНК (противоопухолевые);
- бацитрацины - блокируют синтез КС;
- грамицидин, полимиксин – действуют на гр (-) бактерии.

*Проростание споры* происходит при попадании в благоприятные условия. Время 4-5 часов. Увеличивается количество воды, клетка набухает, активируются ферменты, спора разрушается, в произвольном месте выходит ростовая трубка, синтезируется КС. Образовавшаяся вегетативная клетка делится. Для некоторых спорообразующих бактерий, почва - естественная среда обитания. Проростание споры и деление клетки происходит в летнее время при наличии питательных (органических) веществ.

*Патогенные спорообразующие бактерии:*

- *Bacillus anthracis*- сибирская язва. Спора не превышает диаметр клетки, не деформирует её, расположена центрально;

- *Clostridium botulinum*- возбудитель ботулизма. Спора превышает диаметр клетки, деформирует её, расположена субтерминально – «теннисная ракетка»;

- *Clostridium tetani* – возбудитель столбняка. Спора превышает диаметр клетки, деформирует её, расположена терминально – «барабанная палочка»;

- *Clostridium perfringens* – возбудитель газовой гангрены. Спора превышает диаметр клетки, деформирует её, расположена центрально или субтерминально – «веретено»/

Жизненно важные структуры клетки (постоянные):

- цитоплазма;
- цитоплазматическая мембрана;
- клеточная стенка;
- нуклеоид.

Необязательные структуры клетки (непостоянные):

- капсула;
- споры;
- включения;
- жгутики;
- ворсинки (фимбрии, пили);
- плазмиды.

## **Лекция № 4. Особенности обмена веществ у бактерий (метаболизм).**

### **Поступление веществ в бактериальную клетку.**

Биополимеры поступают в клетку после их расщепления экзоферментами до простых соединений.

1. *Пассивная диффузия* – перемещение вещества за счет разности его концентрации по обе стороны клетки (по градиенту концентрации). Без затрат энергии. Поступает  $H_2O$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ , N.

2. *Облегченная диффузия* – участвуют белки – пермиазы, которые проходят через мембрану по градиенту концентрации с субстратом или без него. Различают:

- транспортные белки;
- узнающие;
- связывающие;
- снимающие субстрат с транспортера и оставляющие его в цитоплазме.

3. *Активный транспорт.* Транспорт против градиента концентрации с использованием энергии (расщепление АТФ).

Участвуют белки:

а) пермиазы. Каждая пермиаза переносит определенное соединение.

б) транслоказы. Происходит фосфорилирование переносимой молекулы.

### **Выход из бактериальной клетки синтезируемых соединений:**

1. *Фосфотрансферазная реакция.* Происходит фосфорилирование переносимой молекулы;

2. *Контрансляционная секреция.* Молекулы имеют лидирующую последовательность аминокислот для прикрепления к мембране и формируют канал, через который молекулы белка проходят в окружающую среду (токсины).

3. *Почкование мембраны.* Молекулы окружаются мембранным

пузырьком и отшнуровываются в окружающую среду.

Генетический контроль биосинтеза ферментов проявляется в виде индукции и репрессии. В соответствии с этим **различают три группы ферментов:**

1. *Конститутивные* - постоянно синтезируются в микробной клетке в определенных концентрациях.
2. *Индукцибельные*. Их синтез индуцируется при наличии субстрата. Например,  $\beta$ -лактамаза- разрушает пенициллин, галактозидпермиаза – осуществляет транспорт лактозы,  $\beta$ -галактозидаза – катаболизм лактозы. При отсутствии субстрата ферменты определяются в следовых концентрациях.
3. *Репрессибельные*. Синтез ферментов прекращается при избытке накопления продуктов реакции, катализируемой данным ферментом.

**Ферменты бактерий.** Генетически закрепленный признак для каждого вида бактерий. Используется для идентификации и диагностики. Локализуются в цитоплазме, ЦПМ, периплазматическом пространстве. Экзоферменты расщепляют макромолекулы в окружающей среде, затем транспортируют их в клетку. Эндоферменты обеспечивают протекание метаболических реакций (различают: структурные и функциональные). Существует 6 классов ферментов:

- оксиредуктазы;
- трансферазы;
- лиазы;
- гидролазы;
- изомеразы;
- лигазы.

Некоторые ферменты (нейраминидаза, гиалуронидаза, коагулаза) – являются факторами патогенности, т.к. субстрат на который они действуют, входит в состав клеток и тканей организма человека.

### **Источники углерода и типы питания:**

По способности усваивать углерод м/о делятся на:

- *автотрофы* - синтезируют все углеродсодержащие компоненты клетки из  $\text{CO}_2$ ;
- *гетеротрофы* - используют разные органические углеродсодержащие соединения (гексозы, многоатомные спирты,

углеводороды, аминокислоты, органические кислоты и др).

### **Источники энергии:**

- *фототрофы* – используют солнечную энергию. К ним относятся сапрофиты.
- *хемотрофы* – энергия окислительно- восстановительных реакций. К ним относятся патогенные бактерии.

От природы **доноров электронов хемотрофы** подразделяются на:

- *хемотрофы* (хемотрофы). Источник С – неорганические соединения, доноры электронов –  $H_2$ ,  $H_2S$ ,  $CH_4$ ,  $Fe^{2+}$  . Сапрофиты.
- *хемотрофы* (хемотрофы). Источник С, доноры электронов – органические соединения. Сапрофиты и паразиты.

### **Источники азота:**

- *Азотфиксирующие:*
- усваивают азот из атмосферы;
- неорганический азот из солей аммония, нитратов, нитритов;
- азотсодержащие органические соединения.

*Прототрофы* – синтезируют органические соединения (углеводы, аминокислоты) из глюкозы и солей аммония;

*Ауксотрофы* – не способны синтезировать органические соединения, ассимилируют их и другие факторы роста в готовом виде из окружающей среды или организма хозяина. Часто это патогенные и условно – патогенные бактерии. Факторы роста: аминокислоты, пуриновые, пиримидиновые основания, липиды, витамины ( $B_1$ - тиамин, фолиевая кислота, биотин, никотиновая кислота), железопорфины (гем).

**Пластический метаболизм:** биосинтез углеводов, аминокислот, липидов.

### **Энергетический метаболизм:**

- *аэробы*. Используют в качестве акцептора электронов кислород. Молекулы АТФ образуются при окислительном фосфорилировании, выделяется большое количество энергии.
- *анаэробы*. Получают энергию путем ускоренного, но неполного расщепления питательных веществ. Получают АТФ окислением углеводов, белков, липидов путем субстратного фосфорилирования до пирувата. Выделяется небольшое количество энергии.

Облигатные (строгие) анаэробы не переносят даже следов  $O_2$ . Акцепторами электронов служат нитриты, сульфаты, сера, карбонаты, трехвалентное железо.

- *факультативные анаэробы*. Растут и размножаются как в присутствии кислорода, так и без него. АТФ образуется при окислительном и субстратном фосфорилировании.

- *микроаэрофильные* (капнофильные) бактерии лучше растут при повышенном содержании  $CO_2$  (пламя свечи).

### **Причины токсического действия кислорода на строгие анаэробы:**

- угнетаются анаэробные процессы энергообразования;

- отсутствует фермент каталаза. Накапливается  $H_2O_2$ , которая оказывает бактерицидное действие;

- отсутствует система регуляции О-В потенциала (редокспотенциала). В питательную среду добавляют вещества с восстановительными свойствами (аскорбиновая кислота, цистин), снижающие  $rH_2$  – строгие анаэробы начинают расти в присутствии  $O_2$ .

**Размножение** – увеличение числа клеток в популяции. Большинство прокариот размножаются поперечным делением, некоторые почкованием, грибы – спорообразованием.

1. Сигнал поступает из мезосом.

2. Репликация ДНК происходит полуконсервативным методом.

Генетический материал равномерно распределяется между дочерними клетками - нити ДНК расплетаются, на каждую начинает нарабатываться комплементарная ей нить, и они расходятся в противоположные стороны. Репликация ДНК начинается в определенном локусе и идет в двух противоположных направлениях. Синтез дочерних цепей идет ступенчато, короткими фрагментами, которые «сшиваются» ферментом лигазой.

3. Образуется межклеточная (поперечная) перегородка: с обеих сторон клетки происходит вращение двух слоев ЦПМ (инвагинация). Между ними синтезируется ПГ.

4. Клетка растет, синтезируются биополимеры ЦПМ, рибосом, цитоплазмы. Увеличиваются масса нуклеотида, количество рибосом. Дочерние клетки отделяются друг от друга. Число клеток растет в геометрической прогрессии. Функцию аппарата митоза

играет ЦПМ, которая удлиняясь раздвигает хромосомы (и плазмиды) друг от друга по разные стороны клеточной перегородки в равных соотношениях.

**Время генерации** - период, в течение которого происходит деление клетки. Продолжительность времени генерации зависит от вида бактерий, возраста, популяции, состава питательной среды, температуры и т.д.: у *E.coli* – 20 минут, микобактерий туберкулеза – до 24 часов.

**Нарушение генетического контроля деления клетки:**

1. Межклеточная перегородка не формируется – образуются нитевидные формы.
2. Образуются несколько межклеточных перегородок и сегрегация хромосом не происходит, появляются мини - клетки без хромосом: жизнеспособны, но не способны размножаться.

**Рост бактерий** - увеличение количества живого вещества, обусловленное делением клетки (увеличение массы клетки).

Оценка роста проводится в жидких средах:

- увеличение клеточной массы – по увеличению массы на единицу объема;
  - увеличение количества клеток - по концентрации бактерий в 1 мл.
- Рост палочковидных бактерий происходит в длину, сферических – во всех направлениях.

***Рост бактерий разделен на фазы:***

В жидкой питательной среде происходит последовательная смена фаз в развитии популяции.

- лаг-фаза – исходная стационарная фаза, число бактериальных клеток не увеличивается, м/о увеличиваются в размерах. Фаза адаптации;
- *фаза положительного ускорения* – начало интенсивного роста клеток, скорость их деления невысокая;
- фаза логарифмического роста (экспоненциальная) – скорость размножения клеток максимальная, численность бактериальной популяции увеличивается в геометрической прогрессии. У бактерий с коротким периодом генерации продолжается несколько часов;
- *фаза отрицательного ускорения* – активности клеток уменьшается, удлиняется период генерации;

- стационарная фаза – равновесие между количеством погибших, вновь образующихся и находящихся в состоянии покоя клеток;
- фаза ускоренной гибели - уменьшение количества жизнеспособных клеток в результате истощения источников энергии, нарушение регуляции рН, гН<sub>2</sub> среды, накопления продуктов метаболизма;
- фаза логарифмической гибели;
- фаза уменьшения скорости отмирания.

*В стационарную фазу роста происходит:*

- у грамположительных бактерий синтез токсинов;
- у грамотрицательных бактерий синтез некоторых факторов вирулентности (ферменты, капсулы, токсины и т.д.).

*В фазу ускоренной гибели происходит:*

- формирование олиготрофов;
- спорообразование у бацилл;
- цистообразование у спирохет;
- формирование некультивируемых форм бактерий;
- переход в реверсируемые L- формы;
- гибель микроорганизмов.

### **Способы культивирования.**

Для получения большого выхода биомассы используют методы:

- *стационарный*. Состав питательных сред остаётся постоянным. Выход биомассы небольшой, например E.coli через 20 часов составляет 1-2 млрд. клеток /мл;
- *глубинный с аэрацией*. Используют специальные аппараты – реакторы. Состав сред постоянно обновляется, поддерживается оптимальная температура, рН, гН<sub>2</sub> (окислительно-восстановительный потенциал) среды. Среды продуваются стерильным воздухом и перемешиваются. Энергетические процессы происходят в аэробных условиях, выход биомассы максимальный: E.coli через 14 часов составляет 50-60 млрд. клеток/мл;
- *проточные питательные среды*. Используются условия непрерывного роста культуры (экспоненциальная фаза). В специальных аппаратах непрерывно добавляется свежая питательная среда, перемешивается и аэрируется, часть бактериальной популяции удаляется.

**Колония бактерий** (стр. 55-56 пособия к практическим занятиям).

Это популяция микробных клеток одного вида, сформировавшееся в результате деления одной клетки при культивирования на плотной питательной среде при оптимальной температуре.

Каждому виду микробов на определенной питательной среде присуща типичная форма колонии. Изучают невооруженным глазом или с помощью лупы.

*Характеристики (морфология) колонии* (стр. 55-56 пособия к практическим занятиям).

**Типы колонии:**

- *S (гладкие)* – круглая, выпуклая форма, гладкая поверхность, влажная консистенция;
- *R (шероховатые)* – шероховатая поверхность, неровные края, сухая консистенция. Образуются из *S* в результате мутации.
- *M (слизистые)* – тягучая слизистая консистенция.

Морфология колонии и сроки их роста - родовой и видовой признак. Позволяет морфологически отличить один вид микроорганизма от другого.

Большинство микроорганизмов образуют колонии через 18-24 часа культивирования (энтеробактерии);

Палочка дифтерии, стафилококки образуют видимые колонии через 24 (мелкие, точечные) и 48 часов роста;

Холерный вибрион образует колонии на щелочном агаре через 12 часов роста.

## **Лекция № 5. Антибиотики и лекарственная устойчивость**

**Антибиотики (АБ)** – химиотерапевтические средства, образуемые микроорганизмами или получаемые из других природных источников, а также их производные, обладающие способностью избирательно подавлять в организме больного возбудителей заболеваний или задерживать развитие злокачественных новообразований.

З. Ермольева – «Это вещества природного происхождения, обладающие выраженной биологической активностью. Могут быть получены из микробов, растительной, животной тканей и синтетическим путем».

АБ – продукт жизнедеятельности микроорганизмов или их полусинтетические аналоги. АБ выделяются микроорганизмами в процессе антибиоза в результате антагонистических взаимоотношений между видами.

Соломон Ваксман ввел термин «**антибиотик**» в 1942 г .

В настоящее время в биологии и медицине используется 800 антибиотиков. Всего исследовано 6000 АБ, практически используется только 2-3% из них.

Романовский – заложил основы химиотерапии (1891). Доказал возможность воздействия на микроорганизм лекарственного средства (хинина на малярийного плазмодия).

Эрлих – ввел понятие химиотерапевтического индекса: максимально переносимая доза должна быть в 3 раза быть выше,

чем лечебная.

Г. Домагк в 1932г. предложил для лечения использовать сульфаниламиды (SA): брюшной тиф, дизентерия, гнойно-воспалительные заболевания.

Флеминг в 1928г работал с нитчатым грибом *Penicillium notatum*, обнаружил, что его вытяжка угнетающе действует на стафилококк.

1940г – получили 13 кг пенициллина

Первые АБ – тиротрицин и грамицидин - получен в чистом виде Дюбо в 1939г. из *Bacillus brevis*.

1944г – Ваксман получил стрептомицин из *Actinomyces griseus* (для лечения tbc).

1958г совещание по антибиотикотерапии. Лекарственная устойчивость микроорганизмов происходит на уровне генома клетки. Основу пенициллинов составляет б-аминопенициллановая кислота состоящая из β- лактамного кольца и тиазолидинового цикла. В- лактамазы – ферменты, вырабатываемые микроорганизмами. Расщепляют β – лактамное кольцо с образованием неактивной пенициллановой кислоты.

### **Источники получения АБ:**

1. *Биосинтетический* – из бульонной культуры микроорганизма-продуцента.
2. *Полусинтетические* антибиотики – получают из биосинтетических, модификацией макромолекулы антибиотика. Изменяются физико-химические и антибактериальные свойства. Получены тысячи АБ;
3. *Синтетические* – молекула АБ синтезируется полностью. Получено мало АБ (синтомицин, хлорамфеникол, циклосерин).

### **Требования к антибиотикам:**

1. при низких концентрациях (10 - 30 мкг/мл) должны убивать возбудитель или подавлять его рост и размножение;
  2. активность их не должна существенно снижаться в биологических жидкостях организма;
  3. антибиотики должны быстро действовать на микроорганизмы;
  4. не должны обладать токсичным, аллергическим действием ни после однократного и многократного применения;
  5. не должны препятствовать процессу выздоровления;
  6. не должны подавлять или снижать иммунные реакции.
- Например, **циклоспорин А** оказывает мощное

иммуносупрессивное и выраженное нефротоксическое действие. Противоопухолевые АБ действуют на атипичные клетки.

## **Классификация.**

*По направленности:*

### 1. антибактериальные антибиотики

- активные в отношении грам (+) микроорганизмов;
- широкого спектра действия;
- противогрибковые;

### 2. противовирусные

### 3. противоопухолевые

*По химической структуре (антибактериальные препараты):*

## **I. $\beta$ - лактамные АБ.**

1) *пенициллины*. Бензилпенициллина натриевая и калиевая соли; оксациллин, ампициллин - п/синтетический АБ.

2) *цефалоспорины*. Продуценты природных цефалоспоринов – грибы рода *Serphalosporium*.

3) *монобактамы* (азтреонам). Содержат только  $\beta$  – лактамовое ядро. Нет тиазолидинового цикла. Устойчивы к В- лактамазам. Узкий спектр действия.

4) *карбепенемы* (имипенем, меропенем). Широкий спектр действия.

**II. Макролиды и азалиды** – эритромицин, азитромицин, олеандомицин.

**III. Аминогликозиды** – гентамицин, амикацин, нетилмицин.

**V. Хлорамфеникол** – левомецитин, синтомицин.

**V. Тетрациклины** – тетрациклин, доксициклин.

**VI. Гликопептиды** - ванкомицин. Продуцент грибы *Streptomyces*. Действует на грамположительную флору. Per os не всасывается, в/м – некроз, применяют в/в для лечения тяжелых ГВЗ и лечения псевдомембранозного колита – антибиотикоассоциированный колит.

**VII. Линкозамины** – линкомицин, клиндомицин.

**VIII. Полиеновые** – нистатин, амфотерицин В.

**IX. Рифамициды**- рифампицин, рифамицин.

**X. Полипептиды**- полимиксин В и М; бацитрацин - продуцент – *Bacillus subtilis* и *B. licheniformis*. Действует на грамположительную флору, грамицидин.

**XI. Фторхинолоны-** ципрофлоксацин, ломефлоксацин, офлоксацин. Широкий спектр действия.

### **Проблемы антибиотикотерапии:**

1. увеличение количества антибиотикорезистентных (АБР) штаммов микроорганизмов;
2. постоянное внедрение в практику новых антибиотиков, активных в отношении таких штаммов.

Частота выделения устойчивых штаммов – 50-90%. К разным АБ резистентность микроорганизмов неодинаковая:

- пенициллины, хлорамфеникол, полимиксины, тетрациклины, цефалоспорины, аминогликозиды - устойчивость развивается медленно;
- стрептомицин, эритромицин, рифампицин, линкомицин, фузидин - устойчивость развивается быстро ( во время проведения одного курса лечения).

### ***Механизмы резистентности микроорганизмов.***

1. *Модификация АБ с образованием неактивной формы под действием ферментов.*

-стафилококки вырабатывают  $\beta$ - лактамазу, которая размыкает бета - лактамное кольцо пенициллинов;

- грам (-) м/о вырабатывают ацетилирующие и фосфорилирующие ферменты, разрушающие аминогликозиды и ацетилтрансферазу - разрушающую хлорамфеникол.

2. *Модификация мишени с которой связывается АБ.* Например, потеря или изменение специфического белка на 30 S рибосоме – аминогликозиды. Изменение или потеря пенициллинсвязывающего белка – пенициллины, цефалоспорины.

3. *Изменение проницаемости микробной клетки для АБ.* Стрептококки имеют естественный барьер проницаемости для аминогликозидов.

4. *Интенсивная выработка ферментов, ингибирующие и разрушающие АБ.*

5. *Появление у микроорганизмов новых альтернативных путей метаболизма АБ.*

6. *Выведение АБ из микробной клетки (эффлюкс).* Резистентные штаммы синегнойной палочки выводят карбапенемы.

## **Различают лекарственную резистентность:**

- *генетическую.*

а) хромосомная - мутации в месте бактериальной хромосомы, контролирующей чувствительность к АБ.

б) внехромосомная – связана с плазмидами. Плазмиды имеют гены, необходимые для образования ферментов для разрушения АБ и уменьшения проницаемости КС (тетрациклины).

- *негенетическую.* АБ действуют на метаболически активные м/о. Не действуют на неактивную туберкулезную палочку в стадии ремиссии, но действуют на активное потомство.

### ***Преодоление резистентности.***

1. Использование препаратов, подавляющих фермент  $\beta$ - лактамазу – клавулановая кислота, сульбактам, тазобактам. Но это АБ со слабой активностью. Комбинируют с сильными АБ.

Аугментин – смесь амоксициллина и клавулановой кислоты. Клавулановая кислота ацетилирует  $\beta$ - лактомазу обезвреживая её, затем начинает действовать амоксициллин.

Тиментин - тикарциллин/клавулановая кислота;

Уназин – ампициллин/сульбактам.

2. Использование препаратов с разными механизмами действия.

### **Осложнения антибиотикотерапии.**

1. аллергические;

2. токсические;

3. связанные с действием АБ:

- дисбактериоз;

- реакции обострения (бактериолиза)- эндотоксиновый шок.

Возникает при введении ударных доз бактериоцидных АБ, массовой гибели м/о и высвобождении эндотоксина;

- угнетение иммунитета - подавление образования иммуноглобулинов, комплемента, лизоцима;

- псевдомембранозный колит (при развитии анаэробных м\о – клостридий при нерациональной антибиотикотерапии);

### **По действию АБ различают:**

- бактериостатические – блокируют репликацию и деление клеток.

Но не вызывает их гибели. М/о способны к росту и размножению после удаления АБ.

- бактерицидные – вызывают гибель клетки.

## **Механизм действия антибиотиков.**

### *1. Ингибиторы синтеза компонентов клеточной стенки.*

Общие свойства:

- бактерицидное действие
- не действуют на покоящиеся клетки
- не действуют на бактерии, утратившие КС.

Различают:

- а) ингибиторы синтеза ПП – блокируют ферменты транспептидазы, отвечающие за соединение аланина и глицина на терминальных участках пептидной цепи и образование поперечных мостиков (пенициллины, цефалоспорины);
- б) ингибиторы сборки других компонентов КС - подавление синтеза или сборки промежуточных предшественников синтеза КС (ванкомицин, циклосерин на tbc);

### *2. Нарушающие структуру и функцию цитоплазматической мембраны:*

(полимиксины, полиеновые антибиотики (нистатин, леворин, амфотерицин В- противогрибковые препараты));

### *3. Подавление биосинтеза белка на рибосомах на разных стадиях его синтеза.*

- а) связываются с 50S-субъединицей рибосомы - ингибируют активность пептидилтрансферазы с образованием дефектных молекул (хлорамфеникол, макролиды, линкозамиды)
- б) связываются с 30 S-субъединицей рибосомы, подавляют инициацию (необратимо – аминогликозиды),
- в) связываются с 30 S-субъединицей рибосомы, блокируют присоединение т-РНК к комплексу рибосома - матричная РНК, что нарушает встраивание аминокислот в полипептидную цепь (тетрациклины)

### *4. Ингибиторы синтеза РНК (транскрипции) на уровне ДНК-зависимой РНК - полимеразы - (рифампицины);*

5. *Нарушение спирализации ДНК* – ингибиторы ДНК-гиразы (хинолоны, фторхинолоны);

6. *Нарушение синтеза нуклеотидов* – блокирование образования дигидроптероатсинтетазы и дигидрофолатредуктазы, т.е. нарушение синтеза фолиевой кислоты (сульфаниламиды, триметоприм)

7. *Нарушение синтеза ДНК* (нитрофураны, производные хиноксалина, нитроимидозола, оксихинолина)

### **Вопросы к итоговому занятию по теме: «Морфология и физиология микроорганизмов»**

1.	Отличие прокариот от эукариот.
2.	Архобактерии. Положение. Свойства.
3.	Принципы классификации микроорганизмов.
4.	Понятие вид, штамм, колония, чистая культура микроорганизмов, клон.
5.	Капсула. Структура, функции. Методы определения.
6.	Жгутики. Строение, функции, расположение на клетке.
7.	Пили. Строение, функции.
8.	Функции клеточной стенки бактерий.
9.	Строение клеточной стенки грамотрицательных бактерий.
10.	Строение клеточной стенки грамположительных бактерий.
11.	Строение и функции пептидагликана.
12.	L-формы бактерий, сферопласты, протопласты.
13.	Строение и функции наружной мембраны грамотрицательных бактерий. Роль ЛПС в патологии человека.
14.	Цитоплазматическая мембрана: строение, функции.
15.	Особенности генетического аппарата бактерий.
16.	Включения бактерий: состав, функции.
17.	Споры бактерий: строение, функции. Этапы спорообразования и прорастания споры.
18.	Принципы классификации микроорганизмов.
19.	Поступление веществ в бактериальную клетку.
20.	Конститутивные, индуцибельные, репрессибельные

	ферменты бактерий.
21.	Ауксотрофы, автотрофы, гетеротрофы, прототрофы.
22.	Типы дыхания бактерий.
23.	Причины токсического действия кислорода на анаэробы.
24.	Требования, предъявляемые к питательным средам.
25.	Классификация питательных сред по назначению.
26.	Селективные питательные среды. Принцип действия. Состав среды Плоскирева.
27.	Дифференциально-диагностические среды. Принцип действия. Состав среды Эндо, Левина.
28.	Принцип конструирования сред «пестрого» ряда Гисса – изучение сахаролитических свойств.
29.	Расщепление белков в средах «пестрого» ряда Гисса.
30.	Время генерации. Нарушение генетического контроля деления клетки.
31.	Размножение бактерий. Этапы клеточного деления.
32.	Фазы роста бактерий.
33.	Способы культивирования бактерий: стационарный, глубинный с аэрацией, проточный.
34.	Характеристика колонии бактерий. Типы колоний.
35.	Модификации бактерий.
36.	Мутации бактерии, индуцированные, спонтанные, R-S-диссоциации.
37.	Генетические рекомбинации. Трансформация бактерий.
38.	Генетические рекомбинации. Трансформация бактерий.
39.	Генетические рекомбинации. Трансдукция.
40.	Генетические рекомбинации. Конъюгация.
41.	Плазмиды. Функции.
42.	Плазмиды. Свойства. Значение.
43.	Синтетические, полусинтетические питательные среды.
44.	Пигменты бактерий. Функции.
45.	Методы микробиологической диагностики.
46.	Прямые и косвенные признаки определения подвижности бактерий.
47.	Методы создания анаэробных условий культивирования бактерий.
48.	Выделение чистых культур анаэробов.
49.	Среды для культивирования анаэробов: среда Вильсона - Блера, Кита-Тароцци.

50.	Химизм и механизм окраски по Граму.
51.	Окраска кислотоустойчивых бактерий по Цилю- Нильсону.
52.	Классификация шаровидных форм бактерий.
53.	Классификация палочковидных форм бактерий.
54.	Какие бактерии относятся к грам (-) ?
55.	Какие бактерии относятся к грам (+) ?
56.	Однократные методы стерилизации: прокаливание, кипячение, стерилизация сухим жаром.
57.	Однократные методы стерилизации: стерилизация паром под давлением.
58.	Простые и сложные методы окраски бактерий. Тинкториальные свойства. Информативность окраски бактерий.
59.	Контроль работы стерилизующей аппаратуры: физический, физико-химический, биологический методы.
60.	Контроль работы стерилизующей аппаратуры: посев материала на стерильность.
61.	Морфология и структура спирохет, классификация извитых форм бактерий
62.	Морфология и структура бледной спирохеты - возбудителя сифилиса.
63.	Морфология и структура лептоспиры интероганс - возбудителя лептоспирозов.
64.	Морфология и структура бореллия рекурентис - возбудителя возвратного тифа.
65.	Сходство спирохет с простейшими и с бактериями.
66.	Особенности роста на жидких и плотных питательных средах. Примеры.
67.	Бактериологический метод идентификации микроорганизмов. Этапы выделения чистой культуры и её идентификация.
68.	Дробная стерилизация. Текучим паром, тиндализация, пастеризация.
69.	Механизмы резистентности микроорганизмов.
70.	Механизм действия антибиотиков: ингибиторы синтеза компонентов клеточной стенки, нарушающие структуру и функцию цитоплазматической мембраны.
71.	Механизм действия антибиотиков: ингибиторы синтеза РНК, нарушение спирализации ДНК, нарушение синтеза

	нуклеотидов, нарушение синтеза ДНК.
72.	Механизм действия антибиотиков: подавление биосинтеза белка на рибосомах на разных стадиях его синтеза.
73.	Определение чувствительности к антибиотикам методом диффузии в агар.
74.	Определение чувствительности к антибиотикам методом серийных разведений.
75.	Состав микрофлоры толстого кишечника.

## **Глава 2. Инфекция. Иммуитет. Реакции иммунной сыворотки.**

### **Лекция № 6. Основы учения об инфекции**

**Инфекция** (infectio- заражать), инфекционный процесс (ИП) – совокупность явлений, возникающих и развивающихся в макроорганизме при внедрении и размножении в нем болезнетворных м/о.

#### **Факторы инфекционного процесса:**

- свойства микроорганизма;
- состояния макроорганизма;
- условий окружающей среды.

Крайняя форма ИП – б о л е з н ь – состояние организма, которое характеризуется повреждением органов и тканей в результате действия патогенных факторов, развертыванием защитных реакций, направленных на ликвидацию повреждений, сопровождающееся ограничением приспособляемости организма к условиям окружающей среды и снижением или потерей трудоспособности.

*Мутализм* – сожительство, выгодное существование макро- и микроорганизма. Например, молочно- кислые бактерии.

*Комменсализм* – сожительство, когда один сожитель живет за счет хозяина, не принося ему вреда. Например, кишечная палочка, некоторые стафилококки.

*Паразитизм* – «нахлебник» – один организм живет за счет другого и наносит ему вред.

## **Формы инфекции.**

### **1. по природе возбудителя:**

- *экзогенная* - патогенны поступают из окружающей среды с водой, воздухом, пищей и т.д.;
- *эндогенная* – условно-патогенные м/о самого индивидуума;
- *аутоинфекция* – разновидность эндогенной, когда м/о переносится из одного биотопа в другой в результате самозаражения.

### **2. по локализации возбудителя:**

- *очаговая* – возбудитель в местном очаге, не распространяется по организму;
- *генерализованная* – распространяется лимфогенным или гематогенным путем. Развивается:
  - а) *бактеремия или вирусемия* – возбудитель механически переносится кровью, не размножаясь в ней;
  - б) *сепсис* – размножение возбудителя в крови;
  - в) *септикопиемия* – занос с кровью м/о и образование вторичных гнойных очагов во внутренних органах и размножение возбудителя в лимфатической и кровеносной системах;
  - г) *септицемия* – присутствие и размножение возбудителя в лимфатической и кровеносной системах;
  - д) *токсемия* – циркуляция в крови бактериальных эндотоксинов;
  - е) *токсинемия* – циркуляция в крови бактериального экзотоксина и проникновение его в клетки-мишени, возбудитель в крови отсутствует.

### **3. по повторному заболеванию:**

- *реинфекция* – повторное заражение тем же возбудителем после перенесенной инфекции;
- *суперинфекция* – повторное заражение тем же возбудителем до выздоровления;
- *рецидив* – возврат симптомов заболевания без повторного заражения за счет оставшихся в организме возбудителей.

### **4. по продолжительности:**

- *острая инфекция* – протекают в короткие сроки;
- *хроническая* – длительное пребывание в организме;
- *бактерионосительство* – выделение возбудителя после клинического выздоровления больного. Клинически не проявляется.

## **5. по выраженности симптомов:**

- *бессимптомная* – без выраженных симптомов. Заканчивается выздоровлением или переходом в манифестную острую или хроническую инфекцию;
- *манифестная* – выраженный симптомокомплекс.

**Формы инфекции** в зависимости от свойств факторов инфекционного процесса различают:

- *абортивная* – возбудитель погибает или выходит из организма не принося ему вреда;
- *латентная (инаппаратная)* – длительное бессимптомное существование макро- и микроорганизма. Формируется приобретенный иммунитет;
- *дремлющая* – длительное, бессимптомное существование макро- и микроорганизма, но при снижении резистентности макроорганизма переходит в заболевание или рецидив;
- *типичная* – вызывается характерная для данного заболевания клиника с цикличностью проявлений;
- *атипичная* – формируется активный иммунитет, но клиника не выражена, атипична, стерта;
- *персистентная (хроническая)* – возбудитель вызывает активную форму болезни, но под влиянием иммунной системы и химиопрепаратов переходит в L- форму и длительно переживает в организме (persistence- живучесть). Может реверсировать (восстанавливаться в обычную форму) и вызывать рецидив заболевания. Например, туберкулез;
- *медленные* – возбудитель длительно сохраняется внутриклеточно в латентном состоянии. При благоприятных для него условиях размножается, вызывает тяжелую инфекцию с летальным исходом. Пример – СПИД;
- *микст-инфекция* – одновременное возникновение двух инфекционных процессов, вызванных двумя м/о;
- *оппортунистические (вторичные)* – при ослаблении иммунитета (иммунодефицит) на фоне инфекционного заболевания. Вызываются непатогенными и малопатогенными для здорового человека м/о;

## **Динамика развития инфекционного процесса**

1. *Инкубационный период* – от нескольких часов (дизентерия) до нескольких дней и лет (лепра). Возбудитель связывается с

чувствительными клетками, проникает и размножается в них. Клинических проявлений нет. Возбудитель не выделяется.

2. *Продромальный период* – общие проявления заболевания : слабость, разбитость, головная боль, повышение T°. Идентификация заболевания невозможна. Возбудитель не выделяется. Продолжительность 1-2 дня.

3. *Разгар заболевания*. Появляются специфические симптомы заболевания. Возбудитель активно выделяется во внешнюю среду. Появляются иммунологические реакции. Различают стадии:

- нарастания симптомов
- расцвета
- угасания

4. *Период выздоровления (рековалесценция)*. Восстанавливаются функции пораженных клеток и органов. Клинические симптомы исчезают раньше бактериологического выздоровления. После выздоровления может наблюдаться в течение 1-2 недель бактерионосительство

### **Источники инфекции:**

- человек (больной, рековалесцент, бактерионоситель);
- животные и объекты внешней среды, контаминированные выделениями от животных или человека:

Различают заболевания:

**А н т р о п о н о з н ы е** - болеют только люди (дизентерия, брюшной тиф, холера);

**З о о н о з н ы е** – болеют только животные (чума свиней);

**З о о а н т р о п о н о з н ы е** – болеют и животные и люди (чума, бруцеллез, туляремия, птичий грипп).

**С о п р о н о з ы** (гнилая болезнь) – вызываются возбудителями, естественной средой обитания которых служат объекты внешней среды: растения, морская вода (легионеллы, иерсинии, галофильные вибрионы).

**Персистенция** (persistence – постоянство, продолжительность, переживание) – длительное нахождение м/о в организме хозяина. Обусловлена как факторами самого м/о, так и со сниженной реактивностью (иммунным статусом) макроорганизма.

Микробные факторы персистенции:

- образование L- форм под действием химиопрепаратов, ферментов, антител. Нарушается синтез клеточной стенки бактерий, в частности ПГ. Теряется мишень для действия повреждающих факторов, но бактерия остается жизнеспособной. После устранения этих факторов L- формы реверсируют в исходное состояние и вызывают хроническую форму заболевания;

- АЛА – антилизозимная активность;

- АИА – антиинтерфероновая активность;

- капсула. Защищает от фагоцитоза, АТ, химиопрепаратов. Способствует переходу острой инфекции в хроническую, например, гонорея;

- множественная устойчивость к антибиотикам;

- возникновение атипичных свойств возбудителя приводит к латентному и хроническому течению заболевания;

**Патогенность** – способность микроорганизма вызывать патологический процесс в макроорганизме (т.е. заболевание). Это генетически обусловленный видовой признак.

**Вирулентность** – степень или мера патогенности. Это полидетерминантный признак, обусловлен многими свойствами, кодируется хромосомами и плазмидами. Например,

- хромосомный контроль – продукция Vi- Ag;

- плазмидный контроль - токсигенность бактерий (Ent- плазида – у возбудителей кишечных инфекций (колиэнтеритов);

**Количественное выражение вирулентности** (см. пособие к практическим занятиям с. 79-80).

### **Факторы патогенности.**

**I. Адгезия.** Адсорбироваться на поверхности чувствительных клеток организма – хозяина. Обеспечивается структурами микробной клетки, которые распознают клеточный рецептор:

- пили;

- белки наружной мембраны;

- ЛПС;

- капсула;

- тейхоевые кислоты и ЛТК.

**II. Колонизация.** Образование на клеточной мембране

микрocolоний в виде биопленки в месте адгезии.

**III. Инвазия.** Проникновение внутрь клеток организма – хозяина: эпителиальных клеток, лейкоцитов, лимфоцитов. Бактерии проникают в межклеточное пространство, взаимодействуют с мембранными белками, что приводит к впячиванию мембраны и попаданию бактерий внутрь клетки. Например, шигеллы, эшерихии. М/о внутриклеточно размножаются и проникают в соседние клетки без выхода в окружающую среду, нарушается целостность эпителиального покрова.

- *нейроминидаза* – разрушает нейраминовую кислоту оболочки клеток.
- *фибринолизин* – растворяет фибрин, что способствует распространению м/о;
- *лецитиназа* - разрушает лецитин клеточных оболочек, клетка разрушается;
- *протеаза* – разрушение белков;
- *ДНК – аза* – разрушение ДНК разрушенных клеток

#### **IV. Факторы защиты** (от макроорганизма):

- *капсулообразование*

а) подавляет фагоцитоз (сибирская язва – предохраняет от захвата фагоцитом; синегнойная палочка – угнетает захват и внутриклеточное переваривание);

б) препятствует действию АТ;

в) препятствует прохождению химиопрепаратов.

- *фермент плазмакоагулаза*

а) переводит фибриноген организма хозяина в фибрин, который окружает микробную клетку как чехол. АТ не могут распознать патоген, т.к. фибрин является своим веществом;

б) способствует коагуляции плазмы, нарушаются реологические свойства крови.

- *поверхностные белковые структуры* - препятствуют фагоцитозу:

а) белок А стафилококка;

б) М- протеин стрептококка;

в) К- Аг ЛПС.

#### **V. Синтез токсинов** (tox - яд).

**1. Экзотоксины** – продукт метаболизма микробной клетки, секретлируемый в окружающую среду. Белок, поэтому небольшая

устойчивость к внешним факторам (исключение – нейротоксин палочки ботулизма, энтеротоксин стафилококка – выдерживают кратковременное кипячение).

Микробы, выделяющие экзотоксины, называют *токсигенными*. К ним относятся:

*Clostridium tetani* – возбудитель столбняка;

*Clostridium perfringens* – газовой гангрены;

*Clostridium botulinum* – ботулизма;

*Staphylococcus aureus* – золотистый стафилококк;

*Vibrio cholerae* – холерный вибрион;

*Yersinia pestis* – возбудитель чумы;

*Bacillus anthracis* – возбудитель сибирской язвы;

*Corynebacterium diphtheria* – возбудитель дифтерии;

*Shigella dysenteriae* 1 – возбудитель дизентерии.

*Свойства экзотоксинов:*

1. свободно выделяется во внешнюю среду;

2. имеют белковую природу;

3. термолабильны (исключение – энтеротоксин стафилококка, вызывающий пищевое отравление – выдерживает кипячение 2-3 часа);

4. обладают тропизмом действия (специфичностью, органотропностью)

- *C. tetani* – нервная система, центры продолговатого мозга,

- *C. diphtheria* – миокард, периферийные нервы;

5. при попадании в организм вызывают выработку специфических АТ – антитоксинов, которые действуют на токсин, но не на микроб;

6. под влиянием тепла (40°C) и формалина (0,4%) в течение 1 месяца переходит в *анатоксин*. Это Аг, лишенный токсических (ядовитых) свойств, но сохранивший иммуногенность (иммунный ответ);

7. в основном образуются грамположительными бактериями.

*Получение экзотоксина.*

Токсигенную культуру выращивают в течение 7 дней на жидкой питательной среде, фильтруют через бактериальные фильтры (задерживают бактерии, корпускулярные Аг, продукты распада и метаболизма), в жидкой фазе содержится токсин.

Различают *4 типа экзотоксинов по механизму действия:*

- *цитотоксины* - блокируют синтез белка на субклеточном уровне. например, дифтерийный гистотоксин инактивирует фермент трансферазу II, ответственную за элонгацию (наращивание) полипептидной цепи на рибосомах.

- *мембранотоксины* – повышают проницаемость мембран, вследствие образования канала, по которому в клетку попадает вода. Гибель клетки от осмотического шока.

- *функциональные блокаторы* – активируют клеточную аденилатциклазу, что приводит выходу ионов Ca и Mg и воды из клетки. Нейротоксины блокируют передачу нервных импульсов в ЦНС.

- *эксфолианты и эритрогенины* – влияют на взаимодействие клеток между собой и с межклеточными веществами.

## **2. Эндотоксины. Свойства:**

1. химическая природа - липополисахаридопротеиновый комплекс (ЛПС);
2. выделяется только после разрушения микробной клетки;
3. малотоксичны, по сравнению с экзотоксинами;
4. вызывают общие явления интоксикации (температура, головная боль, разбитость и т.д.);
5. термостабильны;
6. под действием формалина частично обезвреживаются (анатоксин не получен);
7. образуются только грамотрицательными бактериями;
8. обнаруживается при в/к введении кролику экстрагированного трихлоруксусной кислотой микроорганизма. Проявляется воспалительной реакцией.
9. Структура эндотоксина у всех гр (-) бактерий одинаковая – липид А; а ПС часть разная - определяет О-Аг специфичность. Поэтому разные виды гр (-) бактерий дают одну клиническую картину интоксикации.

***Практическое применение экзотоксина*** (см. пособие к практическим занятиям с.89-90).

1. Для получения анатоксинов и приготовления: вакцин;
2. Для получения антитоксических лечебных, и профилактических сывороток. Анатоксинами иммунизируют животных или людей. Антитоксические сыворотки используются так же диагностических

целях: в реакции нейтрализации на животных (см. пособие к практическим занятиям с. 89-90).

**3.** Для постановки внутрикожной пробы с целью выявления иммунитета у здоровых людей (реакция Дика при скарлатине).

**Единица измерения экзотоксинов см.** (см. пособие к практическим занятиям с.79-80).

**Методы обнаружения экзотоксинов** (см. пособие к практическим занятиям с.59-60, 81).

## **Лекция № 7. Иммунитет. Видовой иммунитет.**

**Иммунитет** – невосприимчивость к заразным болезням. Это система биологических механизмов самозащиты организма для распознавания и уничтожения чужеродного, генетически отличающегося от него.

**Видовой иммунитет**- невосприимчивость, которая определяется врожденными, биологическими особенностями, присущими данному виду человека или животных (см. пособие к практическим занятиям с. 84).

### **Особенности:**

- наследственная передача;
- отсутствие специфичности – защитная роль проявляется независимо от природы вводимого АГ;
- стойкий, но не абсолютный, т. е. при изменении условий внешней среды иммунитет может быть преодолен. Лягушка, невосприимчивая к столбняку, заболевает типичной формой болезни, если поместить её при 37°C.

## **Факторы видового иммунитета (неспецифической защиты):**

### **1. Кожа.**

- а) *механическая целостность*. Непроницаема для большинства возбудителей (кроме возбудителей чумы, лептоспироза, бруцеллеза);
- б) *бактерицидная активность*. Наличие в секрете сальных и потовых желез ненасыщенных жирных кислот (олеиновой);
- в) *фунгистатическое действие* – наличие в секрете сальных желез свободных насыщенных алифатических кислот;
- г) *бактерицидное и бактериостатическое действие секрета потовых желез*:  $H_2O_2$ , уксусная кислота, аммиак, мочевины, желчные пигменты;
- д) *нормальная микрофлора кожи*. Например, дифтероиды – имеют большой набор липолитических ферментов, освобождаются жирные кислоты, оказывающие бактерицидное и бактериостатическое действие;

### **2. Слизистые оболочки.**

- а) *слизь (муцин)* - гелеобразная гликопротеидная решетка, задерживающая и фиксирующая микроорганизмы;
- б) *транспорт слизи* – однонаправленные движения и перемещения пленки слизи и микроорганизмов по поверхности эпителия;
- в) *сурфактант* – поверхностно- активные вещества в нижних отделах дыхательных путей: фиксируют и удаляют многие микроорганизмы;
- г) *выселение клеток на поверхность эпителия*. На поверхность однослойного эпителия ЖКТ выселяются лимфоидные клетки, а в зоны газообмена мигрируют макрофаги;
- д) *секреция Ig A* происходит постоянно на поверхность однослойного эпителия;
- е) *собственный слой слизистой оболочки кишечника* – лимфоидная ткань – содержит иммунокомпетентные клетки;
- ж) *«слезная жидкость» - лизоцим* (N- ацетидмуромидаза) – разрушает  $\beta$ - гликозидные связи между аминами сахарами ПГ (слюны, носовой секрет, сыворотка крови, околоплодные воды). Синтезируется в лизосомах макрофага;
- з) *дифенсины* – находятся в муцине слизистой оболочки, обладают ранозаживляющим действием;
- и) *кислая среда желудочного сока*.

### **3. Нормальная микрофлора организма.**

Мощный конкурент и антагонист патогенной микрофлоры. Механизмы: конкуренция за питательные вещества, выделение антибиотических веществ, изменение рН в сторону, неблагоприятную для патогенна.

**4. Воспаление** – характерно для организмов, обладающих кровеносной и нервной системами. Признаки воспаления: *rubor, tumor, dolor, calor, functio laesa*. Любое инфекционное заболевание начинается с запуска комплементарного каскада и активации свертывающей системы, компоненты которых известны как *медиаторы воспаления*:

- *гистамин* – вызывает расширение поверхностных венул кожи и слизистых оболочек, увеличение сосудистой проницаемости, стимуляцию нейронов типа С, высвобождающих нейропептиды;
- *кинины* – повышают проницаемость сосудов и высвобождение других медиаторов фагоцитами;
- *лейкотриены, простагландины* – повышают проницаемость сосудов, вызывают сокращение гладкой мускулатуры;
- *цитокины* – около 17, выделяются клетками макрофагально – моноцитарной системы и лимфоцитами. Стимулируют развитие клеточных реакций, повышают проницаемость сосудов, адгезивные свойства эндотелия, активируют моно- и полиморфно-ядерные фагоциты.

При повышении проницаемости капилляров в зоне воспаления появляются макрофаги и экссудат, содержащий комплемент, лейкотоксин, фибриноген, антитела. Развивается отек. Усиливается миграция полиморфно-ядерных лейкоцитов. Фагоциты образуют вал, препятствующий распространению м/о. Фибриноген коагулируется в фибрин, который закупоривает мелкие сосуды, что препятствует распространению возбудителя лимфогенным и гематогенным путем. Развивается местный ацидоз, гипоксия, гипертермия, что ведет к угнетению метаболизма бактерий.

### **5. Лихорадка.**

- ускорение кровотока;
- усиление обменных процессов в организме;
- Т 38-40 °С – оптимальная для активации макрофагов;
- мутагенное действие на м/о;
- угнетается способность м/о размножаться;

- угнетает внутриклеточное размножение вирусов;

### **6. Барьерная функции лимфоузлов.**

- «фильтруют лимфу»- удаляют из лимфы м/о;
- при незавершенном фагоцитозе в л/у развивается воспалительный процесс;
- л/у содержат лимфоциты различной степени зрелости, которые играют важную роль в специфическом иммунитете;
- клетки л/у вырабатывают медиаторы воспаления.

**8. Выделительная система.** Удаление м/о из макроорганизма через:

- ЖКТ - диарея, усиление перистальтики;
- мочевыводящие пути;
- потовые железы;
- дыхательную систему.

### **9. Гуморальные факторы видового иммунитета.**

Бактерицидная активность сыворотки крови (БАС) определяется следующими факторами:

- *комплемент*;
- *лизоцим*;
- *пропердин* (в сочетании с ЛПС запускает активацию комплемента);
- *вирусные ингибиторы*;
- *система фагоцитоза*;
- *$\beta$ - лизины* – катионные сывороточные белки, обладают антибактерицидной активностью в отношении сапрофитных *Bacillus*. В острую фазу их количество увеличивается в 2-3 раза. Продуцируются макрофагами.
- *белок лактенин* – из женского молока- сильное бактерицидное действие на стрептококки группы А;
- *пептиды*
  - а) с большим содержанием лизина действуют на стафилококки, стрептококки, бациллы сибирской язвы;
  - б) с большим содержанием аргенина – на туберкулезную палочку.

Главными системами, обеспечивающими видовой иммунитет, являются системы макрофагов, комплемента, интерферонов, Т - цитотоксических лимфоцитов и главная система

гистосовместимости (МНС).

**Система макрофагов** - клетки, обладающие высокой фагоцитарной активностью. К ним относятся: полиморфноядерные нейтрофилы (главным образом), моноциты, макрофаги РЭС (ретикулоэндотелиальной системы): гистиоциты соединительной ткани, купферовские клетки печени, альвеолярные макрофаги, микроглиальные клетки нервной ткани и т.д.

### **Этапы фагоцитоза.**

#### **1. Хемотаксис;**

- а) положительный – фагоцит движется к микроорганизму;
- б) отрицательный – фагоцит уходит от м/о (сибирская язва).

#### **2. Аттракция (адгезия)– прилипание бактерии к фагоциту;**

#### **3. Инвагинация (поглощение). Захват м/о внутрь фагосомы фагоцита. Происходит слияние лизосомы и фагосомы;**

#### **4. Исход:**

- а) завершённый – полное переваривание м/о;
- б) незавершённый – приживление и размножение м/о внутри фагоцита;
- в) выталкивание м/о из фагоцита в окружающую среду.

**Изучение фагоцитоза** (см. пособие к практическим занятиям с 85-86).

### **Причина незавершённого фагоцитоза.**

1. ферменты фагоцита не могут расщепить клеточную оболочку микроба (лепра);
2. микроорганизм блокирует действие ферментов в фаголизосомах (гонорея);
3. препятствие слиянию фагосомы и лизосомы (туберкулез);
4. покидают фагосому и размножаются в цитоплазме фагоцита (риккетсии);

### **Механизм фагоцитоза.**

Происходит «окислительный взрыв», который приводит к образованию активных форм кислорода:  $H_2O_2$ , супероксидного аниона  $O_2^-$ , радикала гидроксида  $OH\cdot$ , оказывающих бактерицидный эффект. Убитые клетки подвергаются действию ферментов лизосом.

### **Функции макрофагов.**

- хемотаксис;

- фагоцитоз;

- секреция биологически активных соединений - более 50.

а) простагландины – являются медиаторами воспаления и иммунного ответа, контролируют активность макрофагов по типу положительной и отрицательной связи;

б) некоторые компоненты системы комплемента: C1q, C2, C3, C4, C5, факторы В, D, Р; ингибиторы – факторы Н, I; C1 – инактиватор;

- переработка (процессинг) антигена и представление (презентация) его с участием белков МНС II класса иммунокомпетентным клеткам.

### **Пути стимулирования макрофагов.**

1. Факторами иммунного ответа – антителами, лимфокинами, комплементом;

2. Микробными и другими факторами.

На ЦПМ макрофагов имеются рецепторы для разных стимуляторов. Активированные макрофаги увеличиваются в размерах, обогащаются лизосомами, возрастают их адгезивные свойства, повышается проницаемость мембран лизосом, начинают синтезировать ФНО (фактор некроза опухоли).

### **Опсонизирующие свойства иммунных сывороток.**

*Опсонины* (opson - пища) - АТ нормальных и иммунных сывороток, изменяющие м/о и подготавливающие их к более эффективному фагоцитозу.

*Опсонизация* (иммунный фагоцитоз) – связывание АТ с клеточной стенкой микроорганизма с последующим поглощением образовавшегося комплекса фагоцитом при взаимодействии Fc-фрагмента АТ с соответствующим FcR (рецептором) на мембране фагоцита. Опсонизированные м/о становятся более доступными для системы комплемента и макрофагов. Фагоцитоз становится более эффективным, антигенспецифическим. Видовой иммунитет дополняется приобретенным.

### **Система интерферонов.**

IFN –  $\alpha$  – лейкоцитарный;

IFN –  $\beta$  – фибробластный;

IFN –  $\gamma$ - иммунный.

Химическая природа – гликопротеиды.

$\gamma$  - IFN продуцируют Т- лимфоциты, НК (натуральные киллеры), активированные макрофаги.

Противовирусное действие IFN связано с подавлением внутриклеточного размножения вирусов. IFN не взаимодействует с вирусом, не препятствует его адсорбции на клетке и проникновению в клетку - мишень. *IFN активирует ферменты клеточного обмена:*

*1 путь* – активирует протеинкиназы, фосфорилирование факторов инициации и трансляции, что ведет к нарушению синтеза белка;

*2 путь* – синтез и накопление  $\gamma$ - олигоадениловой кислоты, активация клеточной эндонуклеазы, что ведет к разрушению РНК и м- РНК.

### ***Биологические свойства интерферона:***

1. Универсальность (против широкого круга вирусов);
2. Тканевая специфичность – активен в гомологичных системах (человеческий интерферон действует только в организме человека);
3. Эффект последствия – после отмывки IFN, в клетках сохраняется способность подавлять размножение вирусов;
4. Отсутствие токсического эффекта;
5. Эффективность действия в небольших количествах;

### ***Действие IFN:***

- противовирусное;
- антибактериальное (особенно в отношении гр (+) бактерий);
- противоопухолевое;
- иммуномодулирующее - стимулирует активность природных киллеров, Т-цитотоксических лимфоцитов, стимулируют фагоцитоз, антителообразование, фиксацию комплемента.

### **Система комплемента.**

*Комплемент* - это группа белков и гликопротеидов сыворотки крови.

Существует 9 фракций комплемента - C1-C9.

C1 состоит из 3 белков C1q, C1r, C1s.

C1q имеет рецептор для связывания с Fc- фрагментом Ig.

Белки C5, C6, C7, C8, C9 образуют МАК – мембрано - атакующий комплекс.

Система комплемента вызывает лизис Гр (-) бактерий, а лизоцим действует больше на Гр (+) бактерии (больше ПГ).

### ***Пути активации комплемента.***

**1. Классический.** Происходит при выработке АТ к Аг и образовании комплекса Аг + АТ (Ig G,M). Изменяется конфигурация АТ, к Fc-фрагменту присоединяется C1q в присутствии Ca<sup>++</sup>. Затем присоединяется C4, к нему - C2 в присутствии Mg<sup>++</sup>:



Присоединяется C3, комплекс приобретает эффект иммунного прилипания (прилипает к клеткам, тканям, эритроцитам, фагоцитам). Чужеродное вещество под влиянием комплекса опсонизируется (более активный фагоцитоз и цитотоксическое действие). C3 под действием C3-конвертазы делится на C3a и C3b. C3a вызывает хемотаксис фагоцитов, а C3b эффект иммунного прилипания.

Фагоциты прилипают к клетке в области покрытой C3b, выделяют гидролитические ферменты, убивают и фагоцитируют бактериальную клетку. К C3 присоединяется C5, который особым белком расщепляется на C5a и C5b.



C5a формирует воспаление воздействуя на мастоциты и вызывая выброс ими медиаторов воспаления (гистамин, серотонин). C5b инициирует образование МАК (C5-C9). МАК погружается в билипидный слой мембраны микроорганизма, формирует канал, по которому в клетку проникает вода. Клетка набухает и лопается.

**2. Альтернативный путь.** Реализуется, когда еще нет АТ. Иницируется ЛПС, микробными Аг. Не участвуют компоненты C1, C4, C2. А C3 активируется другой конвертазой на C3a с C3 b. Далее идет как классический путь.

**3. C1- шунта.** Обнаружен в сыворотке дефицитной по C4. Не образуется C3-конвертаза. Необходима активация C1.

### **Функции системы комплемента.**

1. Лизис чужеродных клеток;
2. Опсонизация – доступность для макрофагов (эффект иммунного прилипания - C3 b);
3. Стимуляция хемотаксиса – C5a, C3 b;
4. Стимуляция фагоцитоза – C1q, C3 b;
5. Повышение сосудистой проницаемости (C5a, C3a);
6. Стимуляция анафилотоксинами (C5a, C3a) внутриклеточных процессов, выброс из мастоцитов биологически активных веществ (гистамин, серотонин, брадикинин, лейкотриены), что ведет к развитию воспаления.

### **Киллерные клетки**

*T- киллеры.* По представлению МНС I класса распознают любые чужеродные Аг, собственные мутантные клетки и уничтожают их.

*NK –природные киллеры.* Не обладают свойствами зрелых Т- и В- лимфоцитов, имеют собственные маркеры. Их активность не зависит от представления им чужеродных антигенов молекулами МНС I класса. NK распознают и лизируют опухолевые клетки. Действие: белок, напоминающий перфорин. Субъединица белка встраиваются в мембрану клетки, формируя поры, в клетку поступает вода, она лопается.

## **Лекция № 8. Приобретенный иммунитет. Антигены, вакцины.**

### **Формы приобретенного иммунитета:**

#### **1. естественный:**

а) *естественный активный.* Постинфекционный. Возникает после перенесенного заболевания в той или иной форме (скрытой, легкой).

б) *естественный пассивный* - передается ребенку от матери посредством антител через грудное молоко и плаценту. К 6 месяцам исчезает.

#### **2. искусственный:**

а) *искусственный активный.* Поствакцинальный. Образуется после вакцинации.

б) *искусственный пассивный* - обусловлен введением иммунных сывороток, содержащих специфические антитела.

**Активный** иммунитет образуется через некоторое время после заболевания или вакцинации. Сохраняется долго, иногда пожизненно.

**Пассивный** – создается быстро, после введения сыворотки - «иммунитет на конце иглы», сохраняется недолго – 2-3 недели.

**Антигены** - любые вещества, содержащиеся в микроорганизмах или выделяемые ими, которые несут признаки генетически чужеродной информации и при попадании в организм вызывают развитие иммунных реакций.

### ***Свойства антигена:***

- *чужеродность*
- *высокая молекулярная масса* - более 10 КД
- *коллоидное состояние*
- *способность метаболизироваться в организме* (разрушаться макрофагами и другими клетками иммунной системы)
- *специфичность* – отличие друг от друга (генетически детерминированное строение и структура микробных тел).
- *антигенность* – способность индуцировать образование иммунного ответа (антител и других иммунокомпетентных клеток)
- *иммуногенность* – способность вызывать формирование иммунитета к соответствующему возбудителю.

### ***Имеются два вида антигенов:***

**1. полноценные** – обладают обеими функциями антигена: способны индуцировать образование антител и специфически с ними взаимодействовать

**2. неполноценные** – не могут вызывать образование антител, но могут специфически взаимодействовать с антителами, индукцию которых они вызвали после своего присоединения к белку и превращения в полноценный антиген. Подразделяют на:

а) *гаптены*- при взаимодействии с антителом происходит видимая иммунологическая реакция;

б) *полугаптены* – не происходит видимая реакция, об их присутствии судят по отсутствию видимой реакции антител с полноценными антигенами.

### ***Химическая природа антигенов.***

1. главным образом *белки* (и их комплексы с углеводами, липидами, нуклеиновыми кислотами), т.к. несут на себе признаки генетической чужеродности. Чем больше различий в аминокислотных последовательностях у белка - антигена по сравнению с белком хозяина, тем больше выражена антигенность (индукция иммунокомпетентных клеток);

2. *полисахариды, липополисахариды* – входят в состав эндотоксина;

3. *жирные кислоты, триглицериды, липиды* – это неполноценные антигены. Липиды усиливают иммуногенность других антигенов. Их используют как ***адьюванты*** (помощник) (см. пособие по ИБП с. 7). Например, адьювант Фрейнда - смесь минерального масла с нейтральным детергентом (эмульгатор) и убитых туберкулезных бактерий. При присоединении к низкомолекулярным антигенам адьюванта усиливается их иммуногенность:

а) антигены становятся доступными действию макрофагов;

б) образуется воспалительная реакция в месте введения - усиление фагоцитоза;

в) создают депо антигена;

г) митогенное действие на лимфоциты - усиление продукции цитокинов

4. *аминокислоты, моносахара, азотистые основания, химические элементы* не имеют признаков чужеродности, поэтому не могут быть антигенами.

Все природные антигены являются комплексами нескольких антигенов.

### **Антигенное строение микробной клетки.**

Бактериальная клетка- это комплекс антигенов. Антигенными свойствами обладают: жгутики, капсула, клеточная стенка, ЦПМ, рибосомы, компоненты цитоплазмы, пили, продукты белковой природы, выделяемые в окружающую среду: токсины и ферменты.

Различают:

1. ***Корпускулярные АГ*** - связанные с телом клетки.

- *О- антигены*, соматические. Термостабильны, выдерживают кипячение в течение 1-2 часов. Химическая природа: ЛПС и белки. Высокоспецифичны.

- *Н- антигены*, жгутиковые. Химическая природа- белок флагелин, термолабильны. Разрушаются при Т 60-80°C. Высокоспецифичные.

- *K* - *антигены* (капсульные) полисахаридной природы. Располагаются поверхностнее *O* - антигена, маскируют его. По термостабильности подразделяют на 3 группы:

A- разрушаются при 100°C в течение 1 -2 часов

B- разрушаются при 60°C в течение 1 часа

L- разрушаются при 60°C.

У сальмонелла тифи имеется термолабильный поверхностный Ag – Vi- относится к K-Ag

Для выявления O-Ag, требуется разрушение K-Ag нагреванием. У палочек сибирской язвы капсульный антиген белковой природы.

## **2. Растворимые АГ** - токсины и ферменты.

- *Токсины* – имеют свойства полноценных антигенов, если являются растворимыми соединениями белковой природы. Экзотоксины бактерий (энтеротоксин и токсин, вызывающий СТШ золотистого стафилококка) являются *суперантигенами*.

а) активируют переменный домен боковой β-цепи CD 4<sup>+</sup> рецептора Т-лимфоцита. Т.к. V-домен β-цепи одинаков у большинства Т-лимфоцитов, происходит активации многих клонов антиген-реактивных клеток (Т-клеток) и формирование иммунного ответа на многие антигены, в т.ч. собственные - происходят аутоиммунные реакции.

б) Т-хелперы вызывают повышенную секрецию интерлейкина - 2 (IL-2), что ведет к отравлению организма и токсическому шоку.

в) активированные Т-лимфоциты могут погибнуть, наступает состояние иммунодефицита, сопротивление к инфекции становится невозможным.

- *Ферменты* - имеют свойства полноценных антигенов.

## **3. Протективные антигены** (защита)- обладают высокой иммуногенностью, используют для приготовления вакцин при некоторых инфекционных болезнях - сибирской язвы, чумы. Образующиеся АГ называют протективными.

## **4. Перекрестно-реагирующие антигены (ПРА)** - имеются общие антигены у клеток млекопитающих (эритроциты человека) и некоторых микроорганизмов (стафилококки, стрептококки, вирус гриппа и т.д.). Макроорганизм не способен вырабатывать на них иммунитет, что ведет к тяжелому течению болезни, бактерионосительству, неэффективности вакцинации. Но перекрестно-реагирующие антигены находятся в комплексе с

другими высокоиммуногенными антигенами, на них вырабатывается иммунный ответ: гуморальные и клеточные антитела реагируют с антигенами хозяина - возникают иммунопатологические реакции. Например, гемолитические стрептококки имеют ПРА с клетками почек, эндокарда, нервной ткани, что приводит к развитию гломерулонефрита, ревматизма, хореи.

**Специфичность антигенов.** Имеется несколько уровней специфичности:

а) *видовая* - Аг присущие данному виду м/о;

б) *групповая* – Аг определенной группы внутри данного вида. Их называют изоантигенами. Позволяют выделить серогруппы в иммунологических реакциях (р. агглютинации на стекле);

в) *типовая* – антигенные различия среди особей одной группы. Позволяют выделить серотипы и сероварианты. Осуществляется тонкая дифференцировка внутри данного вида м/о;

Для индикации и идентификации антигенов используются иммунологические реакции (т.е. реакции для обнаружения антигена) с групповыми, видовыми, типовыми иммунными сыворотками, содержащими антитела к данным антигенам. Выделяется вид, серотип и серогруппа микроорганизма, например: вид- *Shigella*, серогруппа- *flexneri*, серотип- 2а.

**Строение антигена. Состоит из 2 компонентов:**

**1. активной химической группы, определяющей специфичность** (детерминантность) – *эпитоп*. Специфичность определяется орто-мета- или парарасположением химической группировки и её изометрией. Изомеры детерминантных групп индуцируют образование антител с различной специфичностью. Может быть несколько детерминантных групп и на каждую вырабатываются антитела особого типа, реагирующие только с данной детерминантой (эпитопом);

**2. белковой части - шленпер**, в которую вводится фактор специфичности. Белок - *носитель антигенности* (способность вызывать выработку антител и других иммунных клеток).

**Использование АГ.**

**1. Для диагностики.**

- при бактериологическом методе по известному АГ

(диагностическая сыворотка) ищут АГ - иммуннодиагностика;  
- при серологическом методе – по известному АГ (диагностикуму) ищут АГ в сыворотке больного - серодиагностика;  
- при аллергическом методе – выявляют повышенную сенсибилизацию организма к АГ (аллергену), т.е. организм встречался с данным антигеном раньше.

## **2. Для лечения.**

- когда имеется хроническая, рецидивирующая инфекция, вводят *убитые* вакцины для повышения иммунного ответа (гонорея, стафилококковая инфекция, герпетическая инфекция).

**3. Для профилактики.** АГ входят в состав вакцин.

## **Вакцины и иммунопрофилактика.**

**Иммуногенность** - способность антигена вызывать эффективный иммунитет, в т.ч. и искусственный.

Применяют **вакцины** (вакцина корова; прививка против натуральной оспы с помощью вакцины коровьей оспы) (см. пособие по ИБП с 5-7, 12).

Вакцины должны обладать **определенным требованиям** (см. пособие по ИБП с.7):

1. высокая иммуногенность (образование прочного и длительного специфического иммунитета);
2. безопасность;
3. низкая реактогенность;
4. не вызывать побочных реакций;
5. стабильность при правильном хранении;
6. возможность входить в комплексные вакцины;
7. отвечать международным нормам и стандартам.

### **Классификация вакцин**

#### **I. По количеству составляющих компонентов:**

1. моновакцины (содержит АГ одного серовара)
2. поливакцины (АГ нескольких сероваров)
3. комплексные (комбинированные, ассоциированные) - содержат АГ нескольких м/о или одного и того же, но в разных вариантах (корпускулярные, химические).

#### **II. По природе составляющих компонентов:**

- живые;
- убитые (инактивированные);

- химические;
- молекулярные (анатоксины);
- синтетические;
- генно- инженерные.

**Живые вакцины** (см. пособие по ИБП с.5,12):

– готовят из штаммов живых м/о, вирулентность которых ослаблена (аттенуированные штаммы), но сохранены иммуногенные свойства. Вызывают бессимптомную (латентную) инфекцию, приобретенный иммунитет не отличается от естественного активного, является прочным, продолжительным, иногда пожизненным. Создается весь механизм иммунного ответа, т.е. напряженный иммунитет, т.к. введенные бактерии размножаются и вызывают реакцию, сходную с естественным инфекционным процессом. *Недостатки* – могут вызывать сенсibilизацию макроорганизма, включают в себя перекрестно - реагирующие АГ, несут большую антигенную нагрузку, возможно восстановление вирулентности вакцинного штамма (реверсия). Некоторые живые вакцины могут вызывать генетическую перестройку организма и вызвать тяжелую персистирующую инфекцию.

**Получение аттенуированных живых вакцин:**

1. *Выращивание м/о на неблагоприятных питательных средах.* Например, вакцина БЦЖ получена выращиванием туберкулезных палочек (*Mycodacterium bovis*) на картофельном агаре с желчью в течение 14 лет, было проведено 240 пересевов.
2. *Пассирование через организм маловосприимчивых животных.* Например, вакцина Пастера против бешенства – вируссодержащим материалом последовательно заражали кроликов в мозг.
3. *Отбор естественных маловирулентных штаммов* (ЕV- чумная вакцина).

**Примеры живых вакцин:**

- БЦЖ (против туберкулеза);
- чумная;
- туляремийная;
- СТИ (сибиреязвенная);
- гриппозная;
- полиомиелитная (Себина);

- корьевая;
- оспенная;
- сыпнотифозная;
- против Ку-лихорадки;
- паротитная;
- против желтой лихорадки;
- бруцеллезная.

### **Убитые (инактивированные) вакцины** (см. пособие по ИБП с. 6,12):

Менее иммуногены, но имеют те же недостатки, как и живые.

- гретые (холерная, стафилококковая);
- спиртовые (брюшнотифозные);
- формалиновые (коклюшная);
- ультразвуковые.

**Химические.** Используются только «нужные» АГ, нет дополнительной нагрузки на иммунную систему. Готовят из различных антигенных компонентов бактериальной клетки (клеточная стенка, Vi- АГ, Н-АГ (жгутиковый), рибосомы и вирусов (субвирионные, субъединичные). Липосомные вакцины – состоят из АГ и липофильных носителей – стимулируют выработку антител и пролиферацию Т-лимфоцитов.

### **Анатоксины (молекулярные вакцины)** (см. пособие по ИБП с.6):

Анатоксины получают воздействием на бульонную культуру бактерий, продуцирующих экзотоксин (дифтерия, столбняк, газовая гангрена, ботулизм, стафилококк). Впервые получил Рамон, действуя на столбнячный и дифтерийный токсины 0,4% формалином и теплом (40°C) в течение 1 месяца. Получил обезвреженный, лишенный ядовитых свойств, но с сохраненными иммуногенными свойствами препарат. Иммунитет носит антитоксический характер, обусловлен наличием в крови анитоксинов.

### **Вакцины нового поколения:**

#### **1. Искусственные (синтетические),** (см. пособие по ИБП с.7):

Состоят из биоорганического комплекса, вызывает сильный иммунный ответ, даже при его генетически заложенной низкой иммуногенностью. Выявляют главный детерминант (эпитоп), ответственный за специфичность, химически синтезируют его и

химически сшивают с носителем антигенности (шлеппер). Шлеппером служат полиэлектролиты - мощные иммунные стимуляторы, вызывают сильный иммунный ответ.

**2. Генно- инженерные.** Получают встраивая гены протективных Ag в самореплицирующуюся генетическую структуру (плазида, осповакцина, клон дрожжевых клеток). Носитель гена размножается и формируется иммунитет не только против вируса или бактерий, но против того возбудителя, чей ген встроен в его геном. Например, ген, отвечающий за синтез HBs-Ag вирусного гепатита В, встроен в клон дрожжей.

**3. Кассетные (экспозиционные).** Носитель антигенности – белок, на поверхность которого вводится соответствующие детерминанты, созданные генно- инженерным или химическим путем. Обладает высокой антигенностью и несет только необходимые специфические детерминанты.

**Применение адъювантов при создании вакцин** (см. пособие по ИБП с.7).

**Расширенная программа иммунизации (РПИ)** принята ВОЗ в 1974 г. (см. пособие по ИБП с. 56).

В детском возрасте проводят в плановом порядке иммунизацию против туберкулеза, коклюша, столбняка, дифтерии, полиомиелита, эпидемического паротита, кори. В настоящее время задачи:

- ликвидация полиомиелита во всем мире;
- ликвидация кори;
- включение в календарь прививок новых препаратов: против желтой лихорадки , гепатита В, краснухи, паротита.

**Методы введения вакцин:**

- накожно
- подкожно
- внутрикожно
- внутримышечно
- интраназально
- перорально
- ингаляционно (использование аэрозолей).

**Иммунологические основы вакцинации** (см. пособие по ИБП с. 10).

## **Лекция № 9. Приобретенный иммунитет. Антитела.**

**Антитела (АТ)** – совокупность сывороточных белков, способных взаимодействовать с Аг. При электрофорезе сыворотки они располагаются в  $\gamma$ - фракции, в настоящее время называют иммуноглобулинами – Ig.

### **Свойства АТ:**

- синтезируются в ответ на попадание Аг в организм;
- способны с ним взаимодействовать.

### **Структура молекулы Ig:**

- Молекула Ig. Состоит из 2 идентичных полипептидных тяжелых (H) и 2 идентичных легких (L) цепей. Четыре цепи ковалентно связаны дисульфидными связями.
- Существует два варианта легких цепей:  $\chi$  (каппа) и  $\lambda$  (лямбда).
- Различают пять классов тяжелых цепей:  $\alpha$  (альфа),  $\gamma$  (гамма),  $\epsilon$  (эпсилон),  $\mu$  (мю),  $\delta$  (дельта). Соответственно им различают 5 классов Ig: A (подклассы A1-A2), G (подклассы G1-G4), E, M, D.
- М.М. легких цепей около 23 кД, М.М. тяжелых цепей 50-70 кД.
- При обработке папаином Ig G распадается на 3 фрагмента.
- Два из них одинаковые (с М.М. по 45 кД): состоят из легкой цепи и половины тяжелой цепи, фрагменты способны связываться с Аг. Их назвали F(ab)1 и F(ab)2 (antigen binding), образуются под действием Аг. Каждый фрагмент обладает одним активным центром. Отвечают за специфичность.
- Третий фрагмент состоит из оставшихся двух половин H-цепей. Т.к. имеет постоянный аминокислотный состав, назвали Fc-фрагмент (constant- постоянный).
- Легкие цепи по аминокислотным последовательностям состоят из 2-х равных областей - доменов по 110 аминокислотных остатков (внутрицепочечная петля при замыкании дисульфидного мостика внутри цепи). Первая область очень изменчива, составляет V (вариабельную) часть- VL, вторая область постоянна и составляет константную (C) часть- CL.
- Тяжелая цепь состоит из 4-х областей (доменов): V - части (110 а.о.)- VH и C- части (330 а.о) - CH1, CH2, CH3.
- В вариабельных участках L- и H- цепей имеются каркасные последовательности и три (L-цепь) и четыре (H- цепь) гипервариабельных участка, которые определяют структуру активного центра. L- и H- цепи.
- Участок соединения CH1 и Fc- фрагмента – шарнирная область.
- У каждого класса Ig H-цепи имеют своеобразное строение и определяют различие между классами Ig по аминокислотной последовательности.

### **Константные участки ответственны за:**

- CL и CH1 – изоантигенные различия;
- CH2 и CH3 – связывание C1q компонента комплемента, фиксация на клетках.

- СH<sub>2</sub> – с ним связаны цепочки углеводов. Ig разных классов отличаются по числу и локализации углеводных групп. Углеводные компоненты влияют на реализацию биологических свойств антител в норме и при заболеваниях, поддерживают конформацию доменов, защищают АТ от разрушения.

#### **Функции Fc- фрагмента:**

- прохождение антител через плаценту;
- усиление фагоцитоза;
- нейтрализация вирусов;
- связывание с комплементом;
- фиксирование на клетках кожи, с тучными клетками в РНЗТ;
- не способны связываться с Аг.

#### **Макромолекулярная структура разных классов Ig.**

**1. Ig G-** мономер, имеет 2 активных центра, является двухвалентным, М.М. – 150 кД, % содержание в сыворотке – 75-80%, содержание в сыворотке 1,25 г/ на 100 мл;

#### **Функции Ig G:**

- в реакции нейтрализации токсинов;
- взаимодействие с гр (+) микроорганизмами;
- нейтрализация вирусов;
- авидность (способность соединиться с Аг быстрее, чем другие АТ);
- прохождение через плаценту: врожденный иммунитет (1-5 месяцев). Например, противокоревой, противодифтерийный;
- период полураспада – 18-23 дня.

**2. Ig A-** мономер, димер, тример. Различают 2 вида молекул: Ig A – сывороточный (мономер) и секреторный (димер, тример). Ig As (секреторный) находится на слизистых носовых ходов, пищеварительного тракта, дыхательных, пищеварительных, мочевыводящих путей, в молозиве, слюне, слизи. Обеспечивают местный иммунитет. М.М.160 кД, % содержание в сыворотке 7-15%, содержание в сыворотке 0,25г/ 100мл, валентность- 2, 4, 6. Соединение в димер происходит с помощью J- цепи (джоинт), расположенной в области Fc- фрагмента. Секреторный компонент (гликопротеин) вырабатывается эпителиальными клетками слизистых и присоединяется к Ig A, при его прохождении через них. СК повышает устойчивость Ig к действию протеолитических ферментов.

### *Функции Ig A:*

- препятствует связыванию Аг со слизистыми оболочками – местный иммунитет;
- транспортирует полимерные иммунные комплексы (Ig A + Аг);
- нейтрализуют вирусы на эпителии слизистых- противовирусный иммунитет.

### **3. Ig M.**

- на поверхности зрелых Т-лимфоцитов – мономер;
- в сыворотке – пентамер. Связь мономеров через J- цепь, Fc- фрагменты расположены к центру, Fab- фрагменты – наружу. М.М. 950 кД, % содержание в сыворотке –5-10%, содержание в сыворотке- 0,125 г/100 мл, валентность – 2 или 10.

### *Функции Ig M:*

- действует в основном на гр (-) флору;
- активизирует комплимент;
- при первичном иммунном ответе вырабатывается в большем, при вторичном – в меньшем количестве;
- участвует в антимикробном иммунитете;
- к ним относятся: АТ Вассермана, ревматоидный фактор, холодовые агглютинины, изоагглютинины, опсоины, лизины;
- не проходит через плаценту;
- период полураспада 5 дней.

**4. Ig E** – мономер, М.М. 190 кД, содержание в сыворотке низкое – 0,03 мг/100 мл. Fc- фрагментом фиксируется на тучных клетках, мастоцитах и базофилах, что ведет к выделению биологически активных веществ и реакции гиперчувствительности немедленного типа. Защитное действие направлено против гельминтов – при паразитарных инфекциях происходит увеличение концентрации Ig.

**5. Ig D**- мономер, М.М. 175 кД, содержание в сыворотке низкое, концентрация увеличивается при беременности, СКВ, бронхиальной астме, иммунодефицитах. Является рецептором В-лимфоцитов.

### **Антигенные детерминанты АТ.**

Т.к. АТ - белок, поэтому является АГ и имеет эпитопы:

- изотипы – детерминанты, по которым отличаются классы и

подклассы тяжелых и варианты легких цепей;

- аллотипы- детерминанты, возникающие в пределах изотипа при мутациях;

- идиотипы – детерминанты активных центров Ig.

**Валентность АТ** - количество активных центров, способных реагировать с Аг. Например,

Ig G – двухвалентные;

Ig M – 10- валентные.

### **Полные и неполные АТ**

- *неполные АТ* имеют один активный центр (1- валентные), 2-ой недоразвит. Соединяется с Аг одним активным центром, образование конгломерата не происходит, реакция невидимая. Но сам Аг блокирован присоединившимися 1-валентными АТ. Выявляют в *реакции Кумбса*;

- *полные АТ* имеют 2, 4 ,6, 10 активных центров. АГ соединяются между собой посредством АТ, образуется видимый конгломерат.

### **Формы иммунного ответа.**

1. Биосинтез антител;

2. Образование клеток иммунологической памяти;

3. Реакции гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ).

6. Идиотип – антиидиотипические отношения.

Предусматривают в основном образование АТ, относится к гуморальным формам иммунного ответа (АТ растворены в сыворотке крови).

4. Реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ);

5. Иммунологическая толерантность (устойчивость) – трансплантационный иммунитет.

Предусматривают клеточные формы иммунного ответа.

### **Генетический контроль биосинтеза АТ**

Антигензависимая дифференцировка начинается после попадания в организм Аг. Участвуют только тот клон – предшественник клеток, который способен синтезировать АТ против данного Аг. Происходит интенсивное размножение клеток данного клона. Потом происходит переключение классов синтезируемых Ig.

- 1-ми синтезируются Ig M – связано с  $\mu$ -геном H- цепи;

- 2-ми – Ig G и Ig A;
- затем Ig D и E.

В течение первой недели синтезируется Ig M, затем в клетках этого клона происходит переключающая класс генетическая рекомбинация,  $\mu$ -ген вырезается, сближаются следующие гены. В молекуле Ig G активный центр тот же, а Fc- фрагмент в H –цепи заменен.

L	V1	V2	V200	D1	D4	J1	J30	C $\mu$	C $\gamma$ 1-4	C $\alpha$ 1-2	C $\delta$	C $\epsilon$
---	----	----	------	----	----	----	-----	---------	----------------	----------------	------------	--------------

- L- ген - синтезирует лидерный фрагмент полипептидной цепи, необходимой для выхода молекулы за пределы клетки;
- Затем идет неизвестный участок;
- 200-300 V- генов – кодируют вариабельную часть молекулы;
- неизвестный промежуток;
- D- разнообразие;
- J1-20; Кодируют кусок полипептида, количество взрослой молекулы между V и C- фрагментами цепи;
- C- константные гены, располагаются в строго определенном порядке: C $\mu$ ; C $\gamma$ 1,2,3,4; C $\alpha$ 1,2; C $\delta$ ; C $\epsilon$ .

### Регуляция синтеза АТ.

**I. Качественная** – АТ синтезируются против данного Аг;

**II. Количественная.** Механизмы:

1. *Первичный и вторичный* иммунный ответ;
2. *С помощью генов Ir- immune response ( сила иммунного ответа).* Существует около 20 генов и в результате их действия АТ на некоторые АГ синтезируются слабее (в меньшем количестве), чем на другие АГ.
3. *Участие симпатико - адреналовой системы.* Кортикоидные гормоны угнетают, а соматотропные гормоны стимулируют синтез АТ. Обычно синтез АТ происходит под контролем ЦНС.
4. *Идиотип - антиидиотипические отношения.*

**Первичный и вторичный иммунный ответ** (см. пособие по ИБП с. 10-11).

1. *Первичный* иммунный ответ происходит, когда Аг попадает в организм впервые;
2. *Вторичный* – при повторном попадании в организм через 1-2 недели того же Аг (и при всех последующих поступлениях).

Обусловлен клетками иммунной памяти.

№ п/п		первичный	вторичный
1	Латентный период	3-5 дней	Несколько часов (6)
2	Скорость синтеза АТ	невысокая	высокая
3	Титры АТ	низкие	высокие
4	Последовательность синтеза АТ	Ig M → Ig G	Ig G

Для продления пребывания Аг в организме и иммунном ответе по второму типу на 1-е введение, Аг сорбируют на гидроокиси алюминия или вводят с адьювантом (см пособие по ИБП).

### **Идиотип - антиидиотипические отношения.**

Идиотип АТ определяется структурой переменных участков – это антигенная детерминанта антитела. Идиотип комплементарен детерминантной группе АГ и чужероден как и сама детерминантная группа. К идиотипу индуцируется синтез антиидиотипических антител, это бывает всегда. Но к антиидиотипическому антителу тоже индуцируется синтез антител, они сходны с исходными идиотипами. Активный центр антиидиотипического АТ повторяет строение детерминантной группы Аг.

*Следствия:*

- играет роль в ограничении продукции идиотипических АТ – поддерживает оптимальный уровень АТ;
- обеспечивает равновесие между клонами В- и Т- лимфоцитов, основанное на идиотипических связях. Нарушение ведет к аутоиммунным заболеваниям;
- антиидиотипические АТ могут использоваться в качестве вакцины (если ввести в здоровый организм, то на них, как на АГ будут синтезироваться АТ).

### **Образование клеток иммунной памяти.**

При первичном поступлении АГ, специфические к нему Т- и В-лимфоциты начинают дифференцироваться и пролиферировать. Возникают эффекторы иммунитета: плазматические клетки и Т-эффекторы. На ранних этапах дифференцировки (2-3 деления) часть промежуточных клеток приостанавливаются в развитии и становятся долгоживущими. Это клетки иммунной памяти.

Некоторые из них существуют в организме пожизненно. В любой момент при повторном попадании АГ они готовы без «раскачки» начать дифференцировку, формируется вторичный иммунный ответ. Клетки памяти образуются из В- и Т- лимфоцитов.

**Моноклональные АТ** (см пособие по ИБП с.9).

Это антитела, продуцируемые одним клоном антителообразующих клеток (АТОК). Антитела, вырабатываемые одним клоном, идентичны - по классу Ig, по их типу, структуре полипептидных цепей и активных центров (антительной специфичности). Они взаимодействуют только с одним Аг, т.е. обеспечивают специфичность иммунологических

**Получение.**

Миеломные (опухолевые) клетки способны бесконечно размножаться *in vitro*. Применяют мышьиные или крысиные линии. Эти штаммы не содержат соответствующего фермента и поэтому гибнут в питательной среде ГАТ, содержащей гипоксантин, аминоптерин и тимидин. Получают иммунные  $\beta$ - лимфоциты (АТОК) из селезенки иммунизированных соответствующим АГ животного. Осуществляют слияние миеломных клеток и активизированных  $\beta$ - лимфоцитов с целью получения гибридом. Выделяют гибридомы интересующего клона, накапливают клетки полученного клона, помещают в среду ГАТ. Лимфоциты в такой среде не гибнут. Можно получить неограниченное количество антител высокой специфичности. Получают моноклональные антитела к разным эпитопам одного Аг. Гибридомы создаются также и на основе Т- лимфоцитов для получения лимфокинов (интерлейкинов). МАТ используются в качестве препаратов для диагностики (тонкая дифференцировка АГ) и лечения.

**Лекция № 10. Основные популяции иммунокомпетентных клеток. Клеточные основы иммунитета.**

**Центральные и периферические органы иммунитета.**

**Центральные:** костный мозг, вилочковая железа (тимус), сумка

Фабрициуса у птиц;

Из красного костного мозга через кровь попадают в *кору тимуса*, где происходит их деление и созревание. На их поверхности появляются структуры, обладающие антигенными свойствами «Cluster differentiation» - показатель дифференцировки CD.

*T- лимфоциты обладают молекулами:*

- CD2 – адгезивные свойства;
- CD3 – рецепторы для Аг;

*В тимусе T-лимфоциты дифференцируются на 2 субпопуляции:*

- CD4 – клетки-помощники (хелперы);
- CD8 – цитотоксические и супрессорные свойства.

За сутки образуются 300-500 млн. лимфоцитов, формируются рецепторы к чужеродным и к собственным АГ, в т.ч. к АГ МНС (главная система гистосовместимости). В мозговом слое завершается дифференцировка лимфоцитов – CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>, лимфоциты поступают в кровь, лимфу, ткани. Созревание лимфоцитов длится 4-6 суток.

*Костный мозг.* Место происхождения всех клеток иммунной системы, происходит созревание и дифференцировка В-лимфоцитов в плазматические клетки, которые продуцируют антитела. Макрофаги костного мозга обладают фагоцитарной активностью.

***Периферические:*** селезенка, лимфатические узлы, лимфоидная ткань желудочно-кишечного, дыхательного, мочеполового трактов.

В-лимфоциты, в ответ на поступивший в *лимфоузел* АГ, активизируются с помощью Т-клеток, делятся и дифференцируются в АТОК – зрелые лимфоциты и плазматические клетки, а так же клетки иммунологической памяти. Часть АТОК перемещается в мозговой слой л/у и другие л/у. Из Т-лимфоцитов коркового и паракортикальной зоны мозгового слоев формируются цитотоксические клетки. В мозговом слое находится большое количество макрофагов.

*Селезенка* как и другие периферические органы обеспечивают неспецифическую резистентность: удаляют чужеродные и собственные поврежденные клетки. В белой и пограничной зоне красной пульпы имеются Т-зависимые зоны (содержатся Т-лимфоциты и Т-независимые зоны (В-лимфоциты)).

Все клетки, участвующие в работе иммунной системы называют **иммунокомпетентными**.

а) *A- клетки* (accessory)- вспомогательные. Это макрофаги и другие антигенпредставляющие клетки. Могут поглощать чужеродные частица, переваривать их и представлять их АГ детерминанты на своей поверхности. Функция – презентация АГ.

б) *B – лимфоциты*.

в) *T- лимфоциты*.

г) *естественные киллеры* - НК- натуральные киллеры; Pit (тутовая ягода) – нулевые клетки, не имеющие АГ, характерных для В – и Т-лимфоцитов.

**Роль тимуса** - созревание Т- лимфоцитов. При отсутствии тимуса наступает вастинг – синдром. Опустошаются Т- зависимые зоны лимфатических узлов. Внешне: облысение, перестает отторгаться трансплантат.

В костном мозге имеются стволовые клетки (клетки-предшественники), которые выносятся в кровотока и поступают в тимус. Под действием гормонов тимуса происходит дифференцировка - появляется ядро, снижается количество цитоплазмы, на поверхности появляются специфические рецепторы и Аг: запускаются в работу определенные гены. Клетка превращается в Т- лимфоцит, определенного субкласса.

### **Гормоны тимуса:**

- тимозин
- тимопоэтин
- сывороточный тимусный фактор
- гуморальный тимусный фактор
- тимусный гормон. Всего -30.

### **Субклассы Т – лимфоцитов:**

#### **I. Помощники (активаторы)**

1. Индуктор Т-хелперов Th i.           Рецептор CD 3 (CD- клеточная детерминанта - АГ, присущий данной клетке);
2. Индуктор Т- супрессоров Ts i.       Рецептор CD 3.
3. Т-хелпер 1 – Th 1.                    CD 3,4
4. Т-хелпер 2 – Th 2.                    CD 3,4

#### **II. Т-эффекторы**

5. Тк (цитотоксические лимфоциты)    CD 3,8

### **III. Регуляторы**

6. Т- супрессоры – Ts

CD 3,8

7. Т- контрсупрессоры

CD 3, Lit-1

Для поиска рецепторов применяются моноклональные АТ.

#### ***Рецепторы Т- лимфоцитов:***

- для связывания с АГ;

- с лимфокинами;

- с АТ;

- с белками системы комплемента;

*Рецептор Т- лимфоцита имеет строение, сходное с Ig, но состоит из 2 цепей:  $\alpha$  и  $\beta$ . Имеются V участки (вариабельные) и C (константные). Рецептор заякорен в мембране Т- лимфоцита специальной гидрофобной последовательностью аминокислот. Биосинтез рецепторов сходен с механизмом для Ig: отдельно расположенные V- и C –гены, объединяются в эмбриональном периоде с образованием пре- Т, далее происходит созревание в тимусе, появляются специфические АГ.*

Два вариабельных участка  $\alpha$  и  $\beta$ - цепей формируют активный центр. Макрофаг несет АГ гистосовместимости МНС II класса. Рецептор Т- лимфоцита распознает чужеродный АГ в комплексе с МНС II класса.

#### **В- лимфоциты.**

У новорожденного вырабатываются в печени, у взрослого – в костном мозге. Антигеннезависимая дифференцировка происходит в эмбриональном периоде. Образуется огромное количество клонов В- лимфоцитов. Новые клоны вырабатываются всю жизнь, но у взрослого - в костном мозге. Источник – существующие В- лимфоциты и стволовые клетки. Если в пределах клона возникают мутации, то образуется новый клон с другой АГ специфичностью.

#### ***Субклассы В – лимфоцитов.***

1. Предшественники АТОК;

2. Vs (супрессоры)

3. Вк (киллеры)

#### ***Рецепторы В- лимфоцитов.***

- Антиген-связывающие рецепторы - молекула Ig M в мономерной форме;

- Ig D – его присутствие говорит о зрелости В- лимфоцита;
- Рецепторы для связывания с компонентами комплемента, Fc-фрагмента G, интерлейкинов (более 30) и т. д.

В- лимфоциты, несущие 1 вид рецепторов IgM, активны против одного и того же АГ. Количество рецепторов на клетке – 150 тысяч. При созревании, утрачивается якорный сегмент рецептора и IgM секретируется в среду.

**Медиаторы** – вещества, от которых идет информация от разных клеток друг другу. Медиаторы иммунной системы – ц и т о к и н ы.

- монокины – синтезируются макрофагами.
- лимфокины – синтезируются лимфоцитами. Подразделяются на:
  - а) интерлейкины – выделены в чистом виде и изучены (IL-1, IL-8)
  - б) остальные лейкины.

#### ***Свойства интерлейкинов:***

- небольшие пептиды;
- состав их не зависит от АГ;
- синтезируются в ходе иммунного ответа, в т.ч. под действием других интерлейкинов;
- полифункциональное действие.

#### **Межклеточное взаимодействие иммунокомпетентных клеток в образовании эффекторов.**

Аг, впервые попавший в организм взаимодействует одновременно с разными иммунокомпетентными клетками:

- с Аг-специфическим предшественником Т-киллера. Через 20 часов этот предшественник превращается в Th1;
- параллельно с этим поглощается и процессируется макрофагом (А -клетка). Аг детерминанты экспонируются на поверхности макрофага вместе с белками МНС II класса.

Такой макрофаг синтезирует ряд медиаторов, которые индуцируют выработку А- клеткой интерлейкина 1 (IL-1). В тоже время макрофаг представляет Аг с белками МНС зрелому Th. В результате связывания А-клетки и Th, Th получает сигнал к синтезу рецептора к IL-1.

К такому Th, несущему Аг и рецептор к IL-1, присоединяется IL-1. Существует два варианта Th: Th 1 и Th 2. Под влиянием IL-1:

Th 1 синтезирует IL-1,2,3 и  $\gamma$  – интерферон;

Th 2 синтезирует IL 4,5,6, фактор роста (ФР) и фактор дифференцировки (ФД).

#### *Образование T- эфффекторов.*

Tк - пре, несущий рецептор к данному Аг, связывается с Аг, одновременно на него воздействует IL. Он подвергается пролиферации, дифференцировке, активации и превращается в большое число зрелых T- киллеров, способных атаковать, в т.ч. трансплантат. Часть делящихся клеток превращаются в клетки иммунной памяти, готовые реагировать на последующие поступления Аг.

#### *Образование АТ.*

Аг взаимодействует с Ig или рецептором специфического клона В-лимфоцитов и заставляет В- лимфоцит синтезировать рецепторы к фактору роста (РФР) и фактору дифференцировки (РФД). После этого он воспринимает сигнал IL-1, а так же IL 4,5,6, фактора роста (ФР) и фактора дифференцировки (ФД), образуемых Th и макрофагами.

Эти два сигнала (Аг и медиаторы) запускают активацию (IL-4), пролиферацию (IL-5, ФР), дифференцировку (IL – 1,5 и ФД). Образуется антителообразующая клетка (АТОК), созревающая в плазматическую клетку и далее синтез сывороточных Ig M.

Через 1-2 недели в популяции плазматических клеток происходит переключающая класс генетическая рекомбинация и замена Ig M на Ig G.

T- к распознают Аг только в корпускулярной форме (обязательно в ассоциации с белками МНС I или II классов), не реагируют на растворимые Аг.

В- лимфоциты могут распознавать растворимый Аг, так же в комплексе с МНС.

## **Лекция № 11. Другие формы иммунного ответа**

*Аллергены* - вещества растительного и животного происхождения, в.т. ч. пища, лекарства, пыльца растений, домашняя пыль.

## **Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ).**

Опосредована антителами.

### ***ГНТ I типа.***

*Механизм:*

- На АГ синтезируется Ig E, и параллельно им Ig M и G в низких количествах (механизм неизвестен). Продукция Ig E находится в обратной зависимости от продукции Ig A, дефицит Ig A встречается у 1-2 человек из 1000. В сыворотке Ig E мало, т.к. они обладают гомоцитотропностью - способны сорбироваться Fc- фрагментом на разных клетках собственного организма - до 300 000 молекул глобулина на 1 клетку. Наибольшее значение имеет сорбция на мастоцитах (находятся в соединительной ткани почти всех органов) и базофилах. В таком состоянии Ig E находятся длительное время (несколько лет). Организм сенсibilизирован, реакция развивается через 7-14 дней. *1-ая доза АГ – сенсibilизирующая.*

- При повторном введении того же АГ (*2-ая доза АГ - разрешающая*), он не нейтрализуется Ig M и G т.к. в организме их мало, а достигает Ig E на мастоцитах и базофилах, запускается реакция ГНТ.

*Варианты ГНТ:*

- анафилактический шок;
- феномен Артюса (анафилаксия при в/к введении);
- сывороточная болезнь;
- отек Квинке;
- сенная лихорадка;
- бронхиальная астма;
- крапивница.

### **Механизм и фазы анафилактического шока.**

(анафилаксия - ана- обратный, phylaxis- защита).

*I фаза – иммунологическая* : специфическое взаимодействия АГ и Ig E;

*II фаза – патохимическая.* Из мастоцитов и базофилов под влиянием протеаз освобождаются биологически активные вещества - до 30 (гистамин, серотонин, брадикинин, лейкотриены, медленно реагирующая субстанция, гепарин т.д.). Эти вещества запускают:

*III фаза – патофизиологическая.* Происходит реакция гладкой мускулатуры на эти вещества. У разных животных определенная

клиническая картина.

- морские свинки – спазм бронхов;
- собаки – спазм мускулатуры кишечника;
- человек – резкое расширение сосудов, снижение АД, спазм гладких мышц и бронхов, понижение свертываемости крови, тромбоцитопения. Анафилактический шок развивается через несколько минут после введения.

***Профилактика анафилактического шока*** (см. пособие по ИБП с. 57-58):

- экстренная: перед введением основной дозы вещества, предварительно его дробно вводят малыми разрешающими дозами (по Безредко);
- превентивная (заблаговременная): принудительный синтез избытка Ig M и G повторным введением малых доз антигена для связывания АГ в кровотоке и препятствию его доступа к Ig E, фиксированному на клетках.

***Сывороточная болезнь*** (см. пособие по ИБП с. 57-58).

Развивается на введение гетерологичной сыворотки. Реакция появляется через несколько дней после введения. АГ (белок сыворотки) связывается с Ig E, происходит слабовыраженный эффект гистамина, это растянуто во времени (около 2 недель):

- у людей ранее не получавших чужеродную сыворотку развивается через 7-12 суток;
- при вторичном введении сыворотки – через 3-6 дней;

Наблюдается повышение температуры, потливость, озноб, слабость, уртикарная сыпь, зуд и отек кожи, лимфаденит, болезненность и отек суставов, увеличение селезенки, гипотензия. Продолжительность заболевания 5-7 суток. Через 2-недели собственные АГ уничтожаются (связываются и выводятся).

***ГНТ II типа.***

Цитотоксические реакции, при которых, АГ вырабатываются на аутоантигены клеток и тканей организма или АГ, фиксированные на клеточных мембранах (лекарственные антигены). Ig M и G связываются с АГ и активируют систему комплимента по классическому пути. Происходит цитолиз клеток - «мишеней». Этиология: химические и лекарственные вещества, тканевые АГ, аллоантигены крови.

### *Примеры:*

- лекарственная аллергия к пенициллину – происходит иммунный гемолиз, проявляется анемией;
- к сульфаниламидам – агранулоцитоз;
- переливание несовместимой крови;
- аутоиммунные заболевания

Другой механизм – блокирование АГ клеточных рецепторов. Например, при сахарном диабете – блокирование рецепторов инсулина.

### ***ГНТ III типа.***

Образующиеся ЦИК (циркулирующие иммунные комплексы) могут вызывать повреждение тканей и органов. ЦИК представляет собой макромолекулу, состоящую из множества молекул Аг и АГ. ЦИК активируют комплемент, присоединяются к макрофагам, способствуют фагоцитозу АГ, входящих в состав комплекса, нейтрализуют токсины и вирусы. Но могут фиксироваться в тканях (длительное образование ЦИК, механическая задержка в капиллярах почек, глаза, кожи и т.д.) и активировать комплемент, свертываемость крови, миграцию воспалительных клеток-макрофагов, эозинофилов, нейтрофилов. Болезни ЦИК носят системный характер, например, сывороточная болезнь, СКВ, о. гломерулонефрит.

### **Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ).**

Клеточная форма иммунного ответа, эффектором (исполнительным механизмом) являются Т - киллеры.

### *Механизм:*

АГ в клеточной форме (чужеродные клетки) или сорбированный на своих клетках, распознается Т-хелперами после процессинга и презентации его макрофагами. Т-клетки (предшественники эффекторов) дифференцируются и пролиферируют с образованием огромного числа Т-киллеров, которые несут на своей поверхности АГ - специфические рецепторы. Это первая фаза - *сенсбилизация*, т.е. попадание Аг в организм впервые.

При повторном попадании этого же АГ или его длительном сохранении (пересадка органов, туберкулез, собственная клетка организма с АГ на поверхности (вирусная, опухолевая, чужеродная бактериальная клетка)), он в комплексе с молекулой МНС I и II

класса связывается с образовавшимися эффекторами - ЦТЛ (цитотоксические лимфоциты). ЦТЛ распознает клетку- мишень (только в комплексе с МНС) и прикрепляется к ней, образуется тесный контакт двух клеток. ЦТЛ выбрасывают в просвет между клетками из своих специфических гранул белок п е р ф о р и н. Он встраивается в мембрану атакуемой клетки – мишени и формирует множество отверстий (перфориновые поры) диаметром 10-16 нм, через которые проникает вода. Происходит лизис клетки, остатки поглощаются макрофагами. Обязательно должен быть тесный контакт между ЦТЛ и клеткой – мишенью, из-за взаимодействия рецепторов ЦТЛ и АГ на поверхности клетки – мишени. Лимфоцит сам защищен от цитотоксического действия перфорины.

*Проявления:*

- бактериальная аллергия (туберкулез, бруцеллез, гельминтозы и т.д.);
- противовирусный, противоопухолевый иммунитет;
- трансплантационный иммунитет.

Сенсибилизацию организма выявляют местными *кожными аллергическими реакциями*. Используется для диагностики. *ГЗТ развивается на вводимый Аг только после предшествующей сенсибилизации организма*. Кожные реакции возникают через 6-8 часов, максимальное развитие - 1-2 суток. Проявления: покраснение, образование инфильтрата. Например, диагностика туберкулеза (реакция Манту), бруцеллеза (аллергическая проба с бруцеллином).

Сенсибилизированные Т-лимфоциты распознают гомологичные эпитопы на мембране клеток, секретируют медиаторы (лимфокины), активирующие макрофаги, которые так же выделяют биологически- активные вещества, вызывающие воспаление и гибель чужеродных клеток (цитокины, активные метаболиты кислорода, протеазы, катионные белки, лизоцим).

**Отличие ГЗТ от ГНТ. При ГЗТ:**

- местные и общие реакции, выявляющие сенсибилизацию, проявляются в более поздние сроки: в течение 1-2 суток;
- в очаге кожной реакции преобладают лимфоциты и моноциты;
- не передается пассивно другому лицу через сыворотку крови (антителами), но передается введением лимфоцитов;
- опосредуется активированными Т- лимфоцитами, которые несут

на своей поверхности рецепторы к чужеродным Аг, в т. ч. трансплантационные Аг.

### **Трансплантационный иммунитет.**

Комплекс иммунных реакций, развивающийся на пересаженные органы и ткани. «Хозяин против трансплантата» - отторжение генетически отличающегося трансплантата от хозяина. Обусловлены трансплантационными антигенами – АГ МНС, АГ эритроцитов системы АВ0 и Rh, малой системой гистосовместимости.

*Механизм* – ГЗТ. Эффекторы – Т-цитотоксические лимфоциты (Т-киллеры).

«Трансплантат против хозяина»- пересаженные клетки лимфоидной системы распознают клетки хозяина как чужеродные и атакуют их. Развивается при глубоком иммунодефиците или пересадке красного костного мозга.

### **Иммунологическая толерантность (невосприимчивость) (ИТ).**

Подавление иммунного ответа (гуморального и клеточного). В эмбриональном периоде, когда иммунная система еще не созрела, при воздействии на лимфоидную систему собственных АГ, формируется специфическая толерантность к собственным АГ организма. Если воздействовать чужеродным АГ на животное до созревания иммунной системы, то потом этот АГ будет распознаваться как собственный, не будет иммунного ответа.

#### *Особенности:*

- индуцируется только веществами антигенной природы;
- иммунологическая специфичность (только против того АГ, к которому сформирована);
- продолжительность искусственно вызванной ИТ варьирует;
- эффективнее индуцируется в эмбриональном периоде;
- легко индуцируется, если использовать носителем детерминант неиммунные АГ для данного животного;
- трудно индуцировать при большой степени генетической чужеродности;
- сохранение ИТ требует постоянного присутствия АГ.

### *Механизм получения ИТ:*

1. На собственные ткани организма в норме иммунный ответ не развивается.

- Т- и В- супрессоры узнают чужеродный АГ и специфически запрещают активированным Т- и В – лимфоцитам взаимодействовать с ним. В организме эмбриона и новорожденного Т- и В- супрессоры предотвращают образование клонов Т-цитотоксических лимфоцитов: развивается толерантность к собственным АГ - прекращается иммунный ответ матери на аллоантиген новорожденного. Заканчивается к концу 1 недели жизни. Т- супрессоры предотвращают трансформацию клонов В-лимфоцитов в антителообразующие клетки (АТОК), а Т-лимфоцитов – в Т- цитотоксические лимфоциты, способные разрушать собственные ткани.

- уничтожение или инактивация клонов Т- и В –клеток;

- ограничение взаимодействия АГ - представляющих клеток и лимфоцитов.

- отсутствие клеток иммунной памяти или снижение их количества;

- антиидиотипические АГ подавляют образование АТ, несущих данный идиотип;

2. Иногда отсутствует иммунный ответ на специфический чужеродный Аг.

### *Способы получения ИТ:*

- дробное введение Аг в возрастающих количествах. АГ перегрузки связывают все образующиеся АТ;

- однократное введение АГ в высокой дозе;

- облучение реципиента рентгеновскими лучами, применение иммунодепрессантов для преодоления трансплантационного иммунитета.

- вызывается микробными полисахаридами (не метаболизируются);

- вызывается АГ с малой М.М., но с сохраненной специфичностью;

- аутоиммунные заболевания (СКВ, ревматизм).

- введение АТ: быстро выводят толероген – нет иммунного ответа;

## **Теории образования АТ.**

### *Селективная (Эрлих, Бернет, 1957).*

В организме уже существуют готовые антитела к каждому антигену или клетки, готовые синтезировать эти антитела. Клетка

имеет готовые «рецепторы» (антитела), которые соединяются с антигеном. После их соединения, образуются антитела еще в больших количествах.

### ***Инструктивная*** (Полинг).

Аг рассматривается как «матрица» для синтеза специфических молекул антител, после проникновения его в клетку.

### ***Клонально- селекционная*** (Бернет, 1964).

В эмбриональном периоде в большом количестве присутствуют В-клетки, обладающие рецепторами ко всем АГ ( $10^7$ ). Идет пролиферация клеток с образованием и селекцией (отбором) клона, продуцирующего специфические АТ. Кодирование специфичности АТ

детерминировано генетически. АГ избирает из популяции В-клеток клон, который способен производить Ig, специфичный для данного АГ. Происходит пролиферация и дифференцировка В- лимфоцита, заселение их В- зависимые зоны в периферических лимфоидных органах, созревание в плазмобласты и плазмоциты. Продуцируют АТ со скоростью 50 000 молекул в час.

### ***Фазы:***

- фагоцитоз АГ, процессинг и представление Т- и В- лимфоцитам. Длится до 4 суток;
- синтез Ig с log увеличением их титра. К 10-14 суткам титр АТ максимальный;
- стабилизация синтеза Ig- равновесие между продукцией АТ и связыванием их в иммунные комплексы (ИК) и элиминацией;
- снижение синтеза Ig.

При повторной встрече с этим антигеном, клеток «отобранного» клона уже больше и они быстрее образуют большое количество антител.

## Лекция № 12. Реакции иммунной сыворотки

**Иммунная сыворотка** содержит известные АГ в известной концентрации.

**Неиммунная** (нормальная) сыворотка не содержит каких-либо определенных АГ (т.е. получена от неиммунизированного, никогда не встречавшегося с каким-либо определенным АГ).

**Получение иммунных сывороток** (см. пособие по ИБП с. 8, пособие к практическим занятиям с.87-88).

**1. Лечебно-профилактические сыворотки** получают гипериммунизацией крупных животных (лошадей)-гетерологичные или людей - гомологичные. Многократно иммунизируют возрастающими дозами антигена до получения максимальных титров АГ. Механизм вторичного иммунного ответа. Различают: антитоксические, антимикробные, антивирусные. Создается пассивный искусственный иммунитет. Например, для лечения ботулизма, для профилактики столбняка.

**2. Диагностические сыворотки** получают иммунизацией кроликов, т. к. мало сыворотки используется для постановки реакции. *Используются для:*

а) выявления и идентификации АГ. Бактериологический метод диагностики – иммуноиндикация.

б) выявляют АГ и их титр у больного – серологический метод-серодиагностика.

**Иммунные сыворотки различают:**

**1. Агглютинирующие** – содержат агглютинины, вызывают склеивание микробов между собой и выпадение их в осадок в виде хлопьев. АГ - корпускулярный. Применяют в реакции агглютинации.

**2. Преципитирующие** – иммунизируют животных преципитогенами (АГ)- белки животного, растительного, микробного происхождения (кровь, сыворотка, экстракты органов, тканей, пищевых продуктов), фильтраты культур микробов или тканей, пораженных ими (шерсть при сибирской язве). АГ – растворимый. Применяют в реакции преципитации в агаре и кольцепреципитации.

**3. Гемолитические** – иммунизация одного вида животного

эритроцитами другого вида животного. Образуются АТ (гемолитическая сыворотка), связывающиеся с эритроцитами (АГ). При добавлении комплемента происходит реакция гемолиза - гемоглобин выходит из эритроцитов и окрашивает жидкость в розовый цвет - «лаковая кровь». Применяют в реакции РСК.

**4. Антиглобулиновые** – иммунизация одного вида животного глобулинами (АТ) другого вида. Например, иммунизируют кролика человеческими глобулинами. Применяют в реакции иммуноферментного анализа - ИФА, РИМ (ЛСМ).

### **Получение диагностических сывороток.**

У одного и того же штамма м/о могут быть групповые, видовые, типовые, варианты Аг. При иммунизации животного образуются соответствующие им АТ (агглютинины) не только к этому виду бактерий, но и к родственным, имеющим общие Аг. Для удаления групповых АТ из иммунной сыворотки применяют метод **Кастеллани** (см. пособие к практическим занятиям с. 98-99). Иммунную сыворотку насыщают культурой гетерологичного (родственного) микроба. Происходит связывание групповых АТ. Полученная сыворотка будет агглютинировать только гомологичные микробы.

Например, к сыворотке содержащей АТ – А, В, С добавляют с избытком АГ - Д, В, С. Происходит взаимодействие В и С. В сыворотке остаются только видовые А - АТ.

### **Иммунные реакции - взаимодействие АГ и АТ.**

*Серологическая реакция* (sera- сыворотка) – определение АТ и его титра в сыворотке больного с помощью известного диагностикума (АГ).

*Иммунологическая реакция* – применяется при бактериологическом методе диагностики: определяют неизвестный Аг, выделенный из патологического материала с помощью известной диагностической сыворотки (АТ).

**1. Реакция агглютинации** (см. пособие к практическим занятиям с. 93-98)– это склеивание и выпадение в осадок микробных или других клеток под действием АТ в присутствии электролита.

АГ – агглютиноген;

АТ – агглютинин;

Осадок – агглютинат.

**1 фаза** – специфическая, невидимая – происходит адсорбция АТ на

поверхности клетки, несущей соответствующий Аг. Агглютинат образуется при присоединении одного активного центра двухвалентного АТ с детерминантной группой одного Аг, а второго активного центра с детерминантной группой другого Аг.

**2 фаза** – неспецифическая, видимая. В присутствии электролита (физиологического раствора) видно образование агглютината.

О- агглютинация - мелкозернистая, протекает медленно.

Н- агглютинация крупнозернистая, быстрая.

### *Развернутая реакция РА.*

Титром сыворотки называют её наибольшее разведение, в котором есть агглютинат.

1. Исходное разведение сыворотки 1:100 (0,1 сыв-ки + 9,9 физ.р-ра);
2. В 5 пробирок вносят по 1,0 физ. раствора;
3. 6 пробирка - контроль АГ – 1,0 физ. р-ра + АГ;
4. 7 пробирка - контроль АТ – 1,0 сыворотки + 1,0 физ.р-ра;
5. В 1 и 2 пробирки вносят по 1,0 сыворотки. Из 2-ой в 3-ю 1,0 мл сыворотки, из 3-й в 4-ю 1,0 мл и т. д. Из 5-ой выливают 1,0 мл в дез. раствор. Т.е. готовим ряд серийных разведений сыворотки.
6. Во все пробирки, кроме КС, добавляем 2-3 капли АГ.
7. Учет через 2 часа при 37°С и 18 часов при комнатной Т°.

### *Варианты РА (см. пособие к практическим занятиям с 99-100):*

- РПГА (реакция пассивной гемагглютинации)- для выявления АТ;
- РНГА (реакция непрямой гемагглютинации) – для выявления АГ;
- РОПГА (обратная пассивная гемагглютинация)- выявляют АГ;
- РНАГ (реакция нейтрализации АГ);
- РНАТ (реакция нейтрализации АТ);
- РТГА (реакция торможения пассивной гемагглютинации);
- ко- агглютинация;
- РАГА (агрегатгемаллютинация). Используется антительный эритроцитарный диалог, выявляют в сыворотке больного Аг и комплекс АГ + АТ;
- латекс - агглютинация.

**2. Реакция преципитации** (см. пособие к практическим занятиям с. 90-92).

**Классификация серологических реакций по механизму протекания, технике постановки и природе АГ** (см. пособие к практическим занятиям с. 90-107);

- р. агглютинации;
- р. преципитации;
- р. лизиса (с участием комплемента или фагоцитов);
- р. нейтрализации;
- р. иммунофлуоресценции;
- р. иммуносорбентные (ИФА).

**Методы иммуноиндикации антигенов в реакциях иммунитета.**

**I. Реакции непосредственного связывания меченных АТ известной специфичности с местами локализации АГ на м/о.** Варианты метки АТ:

- флуоресцентная. РИФ (МФА - метод флуоресцирующих АТ) прямая и непрямая (метод Кунса).
- ферментная. ИФА - иммуноферментный анализ.
- радионуклеотидная. РИА - радиоиммунный анализ.

**II. Реакции, протекающие с изменением свойств АГ после взаимодействия со специфическими АТ:** склеивание, выпадение в осадок из коллоидного раствора, утрата токсичности, подвижности.

Различают АТ:

Агглютинины - вызывают агрегацию клеток. Реакция агглютинации и её разновидности (РНГА).

Лизины – разрушение клеточных мембран; РСК

Преципитины – образуют осадок с растворимыми Аг. Реакция преципитации. Аг- прозрачный коллоидный раствор из патологического материала, объектов окружающей среды или культур.

Антитоксины – нейтрализующие токсины. Реакция нейтрализации *in vivo*.

Реакция торможения гемагглютинации - для типирования

вирусов набором типоспецифических сывороток. Учет – по отсутствию гемагглютинации.

### **Полимеразная цепная реакция.**

*Принцип* - естественная репликация ДНК, которая включает в себя:

- расплетение двойной спирали ДНК;
- расхождение нитей ДНК;
- комплементарное достраивание обеих нитей в определенных стартовых блоках;

*Механизм:*

1. Специфический участок ДНК маркируют стартовыми блоками (короткий двунитевый участок). Синтез ДНК идет только в этом участке. Происходит увеличение копий специфического фрагмента.
2. Для создания стартовых блоков используют олигонуклеиновые затравки - п р а й м е р ы. Они комплементарны последовательностям ДНК на левой и правой границах специфического фрагмента. Синтез протекает только между ними – удвоение копий фрагмента.
3. Достраивание нитей протекает только в направлении от 5' конца к 3' концу ДНК и происходит в противоположных друг другу направлениях.

Образовавшиеся продукты синтеза служат матрицей для 2-го цикла и т. д. Идет цепная реакция.

Термическая денатурация образовавшихся двухниточных копий ДНК и внесение праймеров повторяют многократно до получения достаточного количества изучаемой ДНК.

Температура синтеза ДНК 72°, время 1-2 минуты.

Температура «отжига праймеров» - 50-60°.

Построение новых нитей ДНК из дезоксирибонуклеотидтрифосфатов осуществляется с помощью фермента ДНК- полимеразы.

За 30-40 циклов амплификации происходит синтез  $10^8$  копий фрагмента. Визуальный учет или после электрофореза в агарозном геле и просмотре в УФ-лучах. Видны светящиеся полоски. Или после компьютерной обработки флуоресцентной детекции.

Используют прибор амплификатор с многоуровневым режимом смены температуры.

Чувствительность системы 10-1000 микробных клеток.

Время 2-3 часа.

Исследуется непосредственно клинический материал. Успешная диагностика вирусных, латентных и персистирующих инфекций.

**Вопросы к итоговому занятию по теме:  
«Инфекция. Иммуитет. Реакции иммунной сыворотки»**

1.	Патогенность, вирулентность. Количественное выражение вирулентности.
2.	Формы инфекций: abortивная, латентная, дремлющая, типичная, атипичная, медленная, микст-инфекция, оппортунистическая, персистентная.
3.	Формы инфекции по локализации возбудителя: очаговая, генерализованная, бактеремия, сепсис, септикопиемия, септицемия, токсемия, токсинемия.
4.	Динамика развития инфекционного процесса, периоды. Бактерионосительство.
5.	Антропонозные, зоонозные, зооантропонозные, сапронозные заболевания.
6.	Факторы патогенности микроорганизмов.
7.	Иммуитет, определение. Виды иммуитета.
8.	Персистенция. Микробные факторы, формирующие персистенцию.
9.	Экзотоксины. Свойства. Единицы активности токсинов.
10.	Эндотоксины. Свойства.
11.	Фагоцитоз. Стадии, исход.
12.	Макрофаги, функции.
13.	Факторы неспецифической защиты.
14.	Комплемент. Природа, состав, функции.
15.	Классический путь активации комплемента.
16.	Система интерферонов. Механизм действия.
17.	Биологические свойства интерферона.
18.	Опсонизирующие свойства иммунных сывороток.
19.	Понятие антигена. Основные свойства антигена.
20.	Антигенное строение микробной клетки.
21.	Химическая природа АГ. Полноценные, неполноценные,

	гаптены, полугаптены.
22.	Суперантигены, протективные, перекрестно - реагирующие антигены.
23.	Вакцины, их виды. Живые вакцины, примеры.
24.	Способы получения живых вакцин.
25.	Вакцины: живые, убитые, химические, генно- инженерные.
26.	Анатоксины. Получение, применение, свойства.
27.	Полные и неполные антитела. Метод определения неполных антител (реакция Кумбса).
28.	Структура молекулы АТ.
29.	Антитело, определение, свойства. Строение Ig G и M. Валентность антител.
30.	Макромолекулярная структура разных классов Ig. Функции Ig A, M, G.
31.	Роль различных классов иммуноглобулинов в иммунологических реакциях.
32.	Формы иммунного ответа.
33.	Качественная и количественная регуляция синтеза антител.
34.	Идиотип - антиидиотипические отношения.
35.	Первичный и вторичный иммунный ответ.
36.	Структура молекулы антитела.
37.	Моноклональные АТ. Получение. Применение.
38.	Антитоксины. Способ получения. Практическое применение
39.	Субклассы и рецепторы Т-лимфоцитов.
40.	Субклассы и рецепторы В- лимфоцитов.
41.	Межклеточное взаимодействие иммунокомпетентных клеток в образовании эффекторов.
42.	Механизм и фазы анафилактического шока.
43.	Трансплантационный иммунитет, его механизмы.
44.	Способы и механизм получения иммунологической толерантности.
45.	Реакция гиперчувствительности немедленного типа. Эффекторные клетки, механизм.
46.	Реакция гиперчувствительности замедленного типа. Эффекторные клетки, механизм.
47.	ГНТ. Сывороточная болезнь.
48.	Получение диагностических сывороток.
49.	Полимеразная цепная реакция.

50.	Иммунные сыворотки. Классификация. Способы получения.
51.	Методы обнаружения экзотоксинов (токсигенности). Реакция преципитация в агаре.
52.	Метод ИФА. Определение антител. Механизм реакции.
53.	Реакции ко- агглютинации, латекс-агглютинации, РАГА.
54.	Методы изучения фагоцитоза. ОФЧ, опсонический индекс.
55.	РПГА, механизм. Метод парных сывороток.
56.	Реакция иммунофлуоресценции. Прямой и непрямой МФА (Р-ция Кунса). Недостатки.
57.	Реакция гемолиза и бактериолиза. Механизм.
58.	Реакция нейтрализации для определения экзотоксина.
59.	Реакция агглютинации. Фазы, механизм.
60.	Методика постановки и оценка результатов развернутой реакции агглютинации.
61.	Реакция РСК. Компоненты, механизм.
62.	Реакция кольцепреципитации. Компоненты, способы постановки.

## **Лекция № 13. Основные свойства вирусов и их молекулярно - генетическая организация**

**История.** Приоритет в открытии - Дм. Иосифович Ивановский. В 1892г. опубликовал результаты опытов по мозаичной болезни табака.

- 1) Каплей сока от больного растения заражал здоровое, вызывая заболевание.
- 2) Пропускал сок больных растений через бактериальные фильтры Шамберлена и заражал им здоровое растение – вызывал заболевание.
- 3) Заражая прогретым при 70° С и разведенным до 10<sup>-6</sup> соком не вызывал заболевание, т.к. инфекционные свойства были утрачены.

**Выводы:**

- инфекционная природа заболевания;
- мельчайшие м/о (меньше, чем бактерии);
- инактивируются при высокой температуре.

**Открытие вирусов:**

- 1897 г – вирус ящура;
- 1901 - вирус желтой лихорадки;
- 1903 - вирус бешенства;
- 1909 - вирус полиомиелита;
- 1975 - вирус ВГВ;
- 1983 - вирус ВИЧ.

**Свойства вирусов.**

Вирусы (V) - особое царство организмов ультрамикроскопических размеров, обладающих только одним типом нуклеиновой кислоты, лишённые собственных систем синтеза белка и мобилизации энергии и поэтому являющихся абсолютными внутриклеточными паразитами (Коротяев).

**1.** Ультрамикроскопические размеры - от 15 до 450 нм (0.45 мкм).  
нм. - 10<sup>-9</sup>

2. Содержит нуклеиновую кислоту только одного типа: ДНК или РНК.
3. Не способны к росту и бинарному делению (к размножению способны).
4. Отсутствуют системы мобилизации энергии (мезосомы).
5. Отсутствуют белоксинтезирующие системы (рибосомы).
6. Абсолютные внутриклеточные паразиты (человека, животных, растений, бактерий).

#### **Молекулярно- генетическая организация.**

Таксономическая единица- **вирион** – форма внеклеточного существования вируса (конечная форма развития). Состоит из **геномной нуклеиновой кислоты**, окруженной белковой оболочкой - **капсидом**. Капсид состоит из определенного числа повторяющихся белковых субъединиц, окруженных мембраной. Функция – защита от внешних воздействий, адсорбция и проникновение вируса в клетку. Ассоциация н.к. и белковой оболочки называется **нуклеокапсид**. Сложноорганизованные вирусы еще имеют наружную оболочку – **суперкапсид** (пеплос). Состоит из бислая липидов клеточного происхождения, гликозилированных вирусных белков и гликопротеидов с низким содержанием углеводов, которые выступают на поверхности вирионов в виде шипов.

#### **Функции суперкапсидных белков:**

- распознают клеточные рецепторы и связываются с ними;
- обеспечивают слияние вирусной мембраны с мембраной клетки и её лизосом;
- способствуют распространению вируса в организме за счет слияния клеток;
- обладают свойствами протективных АГ.

**Тип симметрии** образуется белками оболочки, окружающими н.к. Имеют определенное пространственное взаиморасположение. Стабильность их зависит от наименьшего уровня свободной энергии. Полимер образуется путем кристаллизации (самосборки). Белки объединены в морфологические структуры - **капсомеры** из 2, 3, 5 повторов: 60 капсомеров - 30 или 20 или 12 молекул олигомеров. Число капсомеров постоянно, это имеет диагностическое значение. Например, аденовирус имеет 252 капсомера.

**1. Спиральная симметрия** - белковые субъединицы располагаются по спирали, между ними по спирали уложена н.к. Освобождение н.к. невозможно без разрушения вириона.

Вирус мозаичной болезни табака:

-нуклеопротеид – длина -300 нм, диаметр- 18 нм.

-М.м. вириона- 40 МД.

-капсид – 2130 белковых молекул, уложенных винтообразно вокруг н.к. имеется 130 витков спирали.

-РНК-6000 п.н. С каждой белковой субъединицей связано три нуклеотида.

**2. Кубическая симметрия** - форма правильного многогранника - *дельтоикосаэдр*- (6-8-10-12-20-32 грани), состоящих из равносторонних треугольников. *Икосаэдр*- 20 граней, 12 вершин, пятикратная тройная и двойная оси вращательной симметрии. Это экономичная симметрия: используются структурные белки минимального размера, что создает небольшой внутренний объем вириона.

*Различают 4 группы по сложности строения:*

1. V. со спиральной симметрией.
2. V. с кубической симметрией.
3. V. с бинарной симметрией: головка имеет кубический, хвостик - спиральный тип симметрии.
4. V., имеющие вторую оболочку (суперкапсид)- сложноорганизованные.

**Химический состав вирионов.**

**1. Вирусная ДНК** –  $10^{-6}$  -  $10^{-8}$

-двунитевые

-однонитевые: а) линейная

б) кольцевая форма

На концах имеются прямые и повернутые на  $180^\circ$  С повторы. Представлены теми же нуклеотидами, что и на начальном участке ДНК. Эти маркеры позволяют отличить вирусную ДНК от клеточной. Повторы могут замыкаться в кольцо и встраиваться в клеточный геном.

**2. Вирусная РНК.**

-однонитевая - линейная, кольцевая, фрагментированная, нефрагментированная;

- двунитевая - линейная, кольцевая, фрагментированная,

нефрагментированная;

*Однонитевые:*

«+» нить (позитивная РНК)- выполняет функции и-РНК-транслирует информацию на рибосомы клетки-хозяина.

«-» нить (негативная РНК)- не могут функционировать как и-РНК; служит матрицей для её образования.

### **3. Вирусные белки.**

-структурные - входят в состав капсида (узнавание, адсорбция, защита)

-функциональные - ферменты:

а) репликации, транскрипции (ДНК, РНК-полимераза, обратная транскриптаза, эндо-, экзонуклеазы, АТФ-азы, нейроминидаза).

б) проникновения н.к. в клетку и выхода образовавшихся вирионов (нейроминидаза, лизоцим, АТФ-аза).

-гистоноподобные - обладают антигенными свойствами.

### **4. Липиды и углеводы суперкапсида.**

## **Методы диагностики вирусных инфекций**

### **1. Вирусоскопический.**

а) бешенство- тельца Бабеша- Негри. Вирус размножается в мышечной ткани, по периневральным пространствам периферических нервов достигает нейронов спинного и головного мозга. Посмертная диагностика - гистологический срез головного мозга. Внутри гигантской пирамидальной клетки видны кристаллизованные вирусными нуклеокапсиды.

б) натуральная оспа. В 1987г. последний естественный смертельный случай. Диагностика- окраска серебрением мазка из оспенных везикул. Тельца Пашена (темно-коричневые точки)- вирусные корпускулы.

**2. Иммуно - электронная микроскопия.** В фильтрат материала вносят антисыворотку. Происходит склеивание антител и вириона (обнаружены ротавирусы).

**3. Вирусологический** - выделение чистой культуры вирусов при заражении куриных эмбрионов или культур клеток для дальнейшей идентификации.

Культура клеток (к.к.):

- первично - трепсинизированная к.к.

- перевиваемая к.к. (см. пособие к практическим занятиям с.113-114).

*Питательные среды для выращивания к.к.*- смесь солевых растворов и естественных компонентов (сыворотка крови, гидролизат альбумина, аминокислоты, витамины, коэнзимы, нуклеотиды). Среда *Игла, 199, Хенкса, Эрла.*

**4. Иммунофлуоресценции – ЛСМ (МФА).**

**5. Биологический.**

**6. ДНК-, РНК - зондов.**

**7. ПЦР.**

**8. Серологический (РСК, РПГА, РТГА, ИФА).**

## **Классификация вирусов**

Существует 55 семейств, из них 19 патогенных:

13- РНК- содержащие

6 - ДНК – содержащие

### **Критерии классификации:**

1. Тип н.к.: РНК, ДНК, однонитевая, двунитевая, линейная, кольцевая.
2. Морфология - форма, размеры, тип симметрии, наличие суперкапсида, число капсомеров.
3. Биофизические свойства: константа седиментации, плавучая плотность.
4. Белки: количество структурных белков, аминокислотный состав.
5. Липиды.
6. Особенности репликации.
7. Устойчивость к физическим, химическим факторам (термоинактивация, действие жирорастворителей).
8. Круг поражаемых хозяев, тропизм к тканям.
9. Антигенные свойства.

## **Репликация вирусных геномов**

**1. Двунитевая ДНК** - механизм полуконсервативной репликации: разделение нитей - на каждой из них достраивается комплементарная ей нить.

**2. Однонитевая ДНК** – на вирионной «+» нити достраивается комплементарная ей «-» нить. Образуется двунитевая ДНК- это репликативная форма. «-» нить служит матрицей для синтеза «+» нити ДНК, идентичной исходной вирионной ДНК. Это

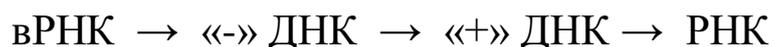
промежуточная репликативная форма.



**3. Однонитевая РНК:** на вирионной вРНК синтезируется комплементарная ей кРНК (действие РНК-репликазы I). На кРНК синтезируется комплементарная ей, и идентичная исходной вирионной РНК (вРНК) - под действием репликазы II.



**4. Однонитевая РНК ретровирусов.** На вРНК обратная транскриптаза синтезирует комплементарную ей «-» нить ДНК, а на ней «+» нить ДНК. Двунитевая ДНК интегрируется в хромосому клетки, являясь матрицей для вирусных РНК.



**5. ВГВ.** Клеточная ДНК-полимераза синтезирует на вДНК прегеномную РНК, вирусная ревертаза (ОР) синтезирует на ней «-» ДНК, на которой достраивается «+» ДНК под действием вирусной ДНК-полимеразы. Двунитевая ДНК интегрируется в хромосому клетки-хозяина, где на ней транскрибируется вирусная РНК (удлинение полипептидной цепи).

вДНК → клеточная ДНК-зависимая РНК-полимераза → прегеномная РНК и мРНК (синтез вирусных белков) → вирусная ДНК-полимераза → капсид → в цитоплазму → обратная транскриптаза → «-» ДНК → вирусная ДНК-полимераза → «+» ДНК → хромосома → вРНК.

### **Закономерности размножения вирусов.**

**1. Все РНК-содержащие вирусы,** кроме ортомиксовирусов (грипп) и ретровирусов, размножаются в цитоплазме клетки-хозяина.

**2. Размножение всех ДНК-содержащих вирусов,** кроме вируса оспы, протекает в ядре, где происходит транскрипция и репликация их н.к. и в цитоплазме, где происходит трансляция вирусных

белков (расшифровка и представление генетической информации в виде полипептидной цепи), их процессинг и морфогенез вирионов.

**3. Нуклеокапсидные белки** синтезируются на свободных полирибосомах клетки (т.е. не связанных с мембраной), а **суперкапсидные белки** – на мембранно-ассоциированных рибосомах (шероховатая мембрана) и подвергаются процессингу, гликозилированию и транспортируются на наружную поверхность клеточной мембраны.

*2 типа протеолитического процессинга:*

- каскадный (поэтапно)- последовательное «нарезание» более коротких полипептидов.

- точечный - «нарезается» 1 или несколько полипептидов в строго определенном месте. Этот тип характерен для гемагглютинаина - он нарезается на 2 субъединицы: большую и меньшую. Меньшая приобретает способность сливаться с мембраной клетки- мишени и её лизосомами.

### **Механизм взаимодействия вируса с клеткой.**

*Жизненный цикл* начинается с адсорбции на мембране клетки-мишени и заканчивается выходом вновь синтезированных вирионов из клетки.

**1. Адсорбция.** Для каждого вируса на мембране клетки существует свои специфические рецепторы, с которыми они связываются своими рецепторами. Органотропность. Например, мукопептидный рецептор носоглотки, содержащий свободную N-ацетилнейраминовую кислоту, распознается гемагглютинином вируса гриппа. Этап может быть обратимым: рН, ультразвук, АТ.

### **2. Внедрение.**

а) слияние суперкапсида вируса с мембраной клетки. Происходит высвобождение нуклеокапсида в цитоплазму и реализация свойств вирионной н.к.

б) рецепторопосредованный эндоцитоз (пиноцитоз, виропексис). Вирус связывается со специфическими рецепторами в области «окаймленной» ямки (область мембраны, ограниченная своеобразными щетинками). «Окаймленная» ямка впячивается внутрь клетки, образуется «окаймленный» пузырек, содержащий поглощенный вирион. Пузырек сливается с эндосомой и лизосомой. Их мембраны сливаются и под действием лизосом происходит «раздевание» нуклеокапсида и высвобождение

геномной н.к.

### **3. Внутриклеточное размножение.**

На примере *вируса леса Семлике (род Alphavirus)*.

Геном - однонитевая, позитивная, нефрагментированная РНК, имеется суперкапсид с 240 шипами гликопротеидов. Капсид - форма икосаэдра (20 граней). Прикрепление и проникновение происходит по второму механизму. Геномная РНК транслируется на рибосомах клетки- хозяина, синтезируется вирусспецифическая РНК - зависимая РНК- полимеразы. Сначала образуется матричная РНК, затем вРНК. Родительская РНК и её копии служат матрицей для синтеза 4 структурных белков вируса: С - белка капсида и 3 белков суперкапсида (Е1, Е2, Е3). Капсидный белок синтезируется на свободных полирибосомах, соединяется с копиями вРНК, формируется нуклеокапсид. Суперкапсидные белки синтезируются на рибосомах, связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума, включаются в мембрану, гликозилируются, переносятся в мембрану аппарата Гольджи, дополнительно гликозилируются и поступают на наружную поверхность клеточной ЦПМ, вытесняя клеточные белки. Нуклеокапсид проходит через ЦПМ, обволакивается суперкапсидными белками, отпочковывается от клетки. Щель может замыкаться – клетка остается живой.

Вся жизнедеятельность клетки с момента проникновения вирусной н.к., полностью подчинена интересам вируса.

Семейство-----	idea	Например: Retroviridae
Подсемейство-----	inae	Lentivirinae
Род -----	virus	Lentivirus

## Лекция № 14. Бактериофаги

### *Строение T 2 - бактериофага*

1. Головка- икосаэдр, геном – н.к. одного типа, часто ДНК.
2. С помощью воротника и зонтика головка связана с хвостиком.
3. Хвостик представляет полый внутри стержень. Состоит из 2 слоев спирально уложенных белковых субъединиц. Наружный слой хвостика - актиноподобный, способен сокращаться, фиксируется к базальной пластинке. Содержит 120-140 белковых молекул, с каждой связана молекула АТФ и ионы  $Ca^{++}$ . Внутренний стержень к ней не фиксируется и не сокращается.
4. На базальной пластинке находятся 6 шипов и 6 ворсинок для прикрепления к клетке. В шипах содержится лизоцим или гиалуронидаза (литические ферменты).

### **Жизненный цикл бактериофага.**

**1. Адсорбция.** После прикрепления базальной пластинки к бактериальной клетке, молекула лизоцима локально повреждает пептидогликан. Наружный чехол хвостика, используя запасы энергии, сокращается (с помощью  $Ca^{++}$ ), активизируется АТФ-аза и приближает головку БФ к клетке. На одной клетке могут адсорбироваться сотни фагов (для лизиса клетки достаточно одного). Адсорбция фага специфична. На бактериях без клеточной стенки фаги не адсорбируются.

**2. Проникновение.** Внутренний стержень прокалывает клеточную стенку и ЦПМ и оказывается в цитоплазме. Головка БФ состоит из белковых субъединиц и молекулы ДНК. После прокалывания 10% фаговой ДНК попадает в цитоплазму бактерии и выступает как матрица для РНК-полимеразы. С её помощью остальные 90% ДНК поступают в клетку.

**3. Репродукция** белка и н.к. фага внутри клетки. После проникновения в клетку ДНК фага «исчезает», вирус не удается обнаружить после разрушения клетки (латентное состояние). Скрытый период (эклипс) продолжается 20-30 минут для Т-четного фага *E.coli*. В этот период вирус принимает на себя управление клеткой, подавляет клеточные процессы и индуцирует синтез вирусоспецифических частиц. К концу латентного периода образуется зрелый вирион.

**4. Сборка и формирование** зрелых вирионов.

**5. Лизис клетки и выход** зрелых частиц фага из неё. Лизис изнутри - разрыв клеточной стенки и выход несколько сот фагов. Лизис извне - из клетки вытекает содержимое из многочисленных отверстий, сделанных большим количеством фагов (фаг не размножается).

### **Классификация БФ.**

- **инфекционные** - вызывают разные формы фаговой инфекции.

а) *покоящиеся* (вне клетки).

б) *вирулентные* - вызывают продуктивную инфекцию.

в) *умеренные* часть бактериальных клеток выживает (1:10), т.е. вызывают редуцированную инфекцию.

- **неинфекционные (вегетативные)**- на стадии внутриклеточного размножения. Незрелые.

### **Виды фаговой инфекции.**

- **продуктивная** - осуществляется вирулентным фагом с образованием дочерних фаговых частиц, культура м/о лизируется, образуются негативные колонии фага.

- **редуктивная (интегративная)** – вызывается умеренными фагами. Фаговая ДНК встраивается в хромосому бактерий, образуется *профаг*. Клетка не погибает, может долго через поколение передавать *профаг* потомству. Профаг приносит некоторые свойства м/о – например, наделяет способностью к токсинообразованию. Эта клетка называется *лизогенной*, т.к.

способна под влиянием неизвестного воздействия (рентгеновские, космические лучи) породить *литический (вирулентный)* цикл развития фага. Профаг из интегрированного переходит в автономное состояние. Это ведет к репродукции вирионов и лизису клетки.

Выходу профага из хромосомы препятствует цитоплазматический рецептор. Клетка становится невосприимчивой к повторному инфицированию данным фагом.

Выход профага из хромосомы происходит путем *кроссинговера* – перехлест нитей: восстанавливаются AttP (Phag) и AttB (Bact), фаговая ДНК принимает кольцевую форму и исключается из хромосомы.

Процесс внедрения фага называется *лизогенизация*.

**Лизогенная конверсия**- изменение свойств бактерий за счет добавления в геном гена, привнесенного профагом - это *трансдукция*. Трансдуцирующие фаги не образуют дочерние популяции (дефектные), используют в векторной инженерии. Фаг может захватить часть хромосомы клетки-хозяина и перенести её в другую клетку, где фаг перейдет в профаг, а клетка получит новые свойства.

**Общая трансдукция** – случайное включение вместо фаговой ДНК фрагмента бактериальной ДНК, равной по длине. Инфекционные свойства изменены, в клетку вводится головка БФ, содержащая ДНК бактериальной клетки, размножение фага не происходит. У реципиента появляются новые свойства, признак может быть наследственно закреплен.

**Специфическая трансдукция** - трансдуцирующие фаги переносят только определенные гены, которые располагаются в хромосоме лизогенной клетки слева от attL или справа attR. При выходе из хромосомы профаг может захватить ген с левого или правого фланга, при этом лишается своей ДНК такого же размера с противоположного конца. Размер ДНК фага остается постоянным.

## Применение бактериофага

### 1. Для диагностики.

- по нарастанию титра БФ. Исследуемый материал и индикаторный фаг, титр которого строго установлен, вносят в бульон. После инкубации определяют титр фага, увеличение в 5 раз и более говорит, что в материале есть возбудитель, в котором фаг

размножился.

- лизис специфическим БФ выделенной чистой культуры бактерий (чума, дизентерия, холера)- при идентификации культур.

- для типирования бактерий- определения принадлежности возбудителя к более мелким единицам, чем вид – фаготип. Для определения источника инфекции и путей передачи. Типовые фаги строго специфичны.

**2. Для лечения (фаготерапия)** - используют таблетированные или в растворах БФ. Действуют специфически: уничтожают только определенные бактериальные клетки, не действуя на другую флору (стафилококковый, дизентерийный, брюшнотифозный).

**3. Для профилактики** (фагопрофилактика) заболеваний.

## **Лекция № 15. Острые кишечные вирусные инфекции (ОКВИ).**

В структуре заболеваемости кишечные инфекции на 2 месте. Данные ВОЗ: в 1992г.- 68- 275 млн. диарейных заболеваний в год.

### **Причины широкого распространения кишечных инфекции:**

- низкий уровень жизни населения.
- плохие санитарные условия жизни.
- отсутствие эффективных вакцин.
- наличие большого числа возбудителей.

60% ОКВИ составляют вирусные заболевания, из них:

50-60% - ротавирусы;

15-30% - норволквирусы, астровирусы, калицивирусы.

120 вирусов являются возбудителями ОКВИ.

### **Семейства вирусов, вызывающие ОКВИ:**

1. Энтеровирусы (семейство пикорновириде);
2. Ротавирусы (сем. реовириде);
3. Коронавирусы (сем. короновириде);
4. Калицивирусы (сем. калицивириде) – норволквирусы;
5. Астровирусы;
6. Аденовирусы.

По тяжести заболевания на 1 месте – энтеровирусы.

## Семейство Picornoviridae,

- род **Enterovirus** вирус полиомиелита, энтеровирусы, ВГА
- род **Cardiovirus** в. энцефаломиокардита
- род **Rhinovirus** риновирусы человека
- род **Arhtovirus** в. ящура.

### *Все энтеровирусы имеют сквозную нумерацию:*

- 1-3 – полиовирусы I, II, III типов;
- 4-27 – Коксаки А;
- 28-33 – Коксаки В;
- 34-67 – ЭСНО;
- 68-71 – собственно энтеровирусы;
- 72 - ВГА.

### *Вирусологические признаки энтеровирусов:*

- мелкие размеры - 22-30 нм;
- геном - однонитевая нефрагментированная позитивная РНК;
- суперкапсид отсутствует;
- тип симметрии кубический, имеется 60 капсомеров;
- устойчивы к эфиру, желчи, кислотам, щелочам (Рн 3-10), высокая термостабильность в присутствии ионов  $Ca^{++}$  или  $Mg^{++}$ ;
- устойчивы во внешней среде;
- размножаются в определенных культурах клеток, не размножаются в куриных эмбрионах.

### *Эпидемиологические признаки энтеровирусов:*

- выраженная сезонность;
- фекально - оральный путь распространения;
- возможность выделения вируса из кишечника, носоглотки, ликвора, крови;
- широкое носительство среди здоровых людей;
- обнаружение вирусов в сточных водах;
- преимущественно поражает детей до 12 лет.

## **Полиовирусы**

- имеют позитивную 1-нитевую нефрагментированную РНК, м.м. 2,5 МД;
- сферическая форма вириона, тип симметрии – кубический;

- капсид образован 4 белками, по 60 копий каждого;
- вирусные белки VP1, VP2, VP3 – внешняя поверхность капсида, VP4 – внутренняя;
- гемагглютинирующих свойств нет;
- иммуногенные свойства- сильные;
- по АГ специфичности различают 3 типа: I, II, III. Все три серотипа имеют общий комплементсвязывающий антиген;
- наиболее патогенен I, наименее - III; тип II вызывает латентную инфекцию.

### ***Жизненный цикл полиовирусов.***

- адсорбция;
- проникновение;
- вРНК → на рибосомы → транслируется в вирусоспецифические белки → образование РНК – репликазы → образование кРНК → синтез вРНК;
- 4 структурных белка синтезируются в виде полипептидной цепи, которая подвергается протеолизу и разрезается;
- вирусная РНК заключается в капсид и вновь синтезированные вирионы выходят из клетки. Из 1 вируса синтезируется около 150 000 вирионов.

***Полиомиелит*** - воспаление серого вещества спинного и головного мозга. Биологическое свойство - тропизм к нервной ткани, поражаются мотонейроны передних рогов спинного мозга.

***Эпидемиология.*** Источник инфекции- больной, вирусоноситель. Вирус размножается в эпителиальной и лимфатической ткани ВДП и ЖКТ. Основной путь размножения - фекально- оральный. Вирус в огромном количестве выделяется с конца и.п. (последние 3-5 дней) до 40 дня болезни, иногда несколько месяцев.

### ***Патогенез.***

- входные ворота - слизистая оболочка глотки, желудка, кишечника. Происходит первичное размножение вируса, затем он проникает в регионарные л/у, а потом в кровь.
- гематогенная диссеминация на фоне вирусемии. Протекает бессимптомно, иногда незначительное, кратковременное повышение T°, диспепсия. Это «малая форма» болезни. Заканчивается выздоровлением и формированием

постинфекционного иммунитета.

- при прохождении вируса через гематоэнцефалический барьер, развивается «большая форма» болезни - гибель мотонейронов передних рогов спинного мозга. Развиваются параличи скелетных мышц.

### ***Клиника.***

- абортивная (малая форма) болезни;
- непаралитическая (менингеальная);
- паралитическая;
- инаппаратная.

### ***Клиника зависит от:***

1. степени вирулентности конкретного штамма
2. величины дозы патогена
3. иммунного статуса макроорганизма.

***Постинфекционный иммунитет:*** стойкий, пожизненный, обусловлен АТ и клетками иммунной памяти.

***Лечение:*** симптоматическое.

### ***Профилактика.***

1. *Вакцина Солка* - из вирусов полиомиелита 1,2,3 типов, выращенных на культуре клеток ВЕРО (клетки почек зеленых мартышек) и инактивированных формалином; п/к, в/м. Низкоректогенный препарат.

V - 3-хратно, с интервалом в 1 месяц.

R1- через 1 год.

R 2, 3, 4 через каждые 5-10 лет.

Иммунитет гуморальный, но не решает проблемы носительства.

2. *Вакцина Себина* – 3-х валентная живая вакцина из аттенуированных штаммов. Применяется перорально в виде драже или капель.

а) формируется общий гуморальный и местный иммунитет за счет синтеза Ig A.

б) Происходит элиминация «диких» штаммов за счет интерференции вакцинным штаммом (борьба за место). в) Вакцинный штамм выделяется из организма во внешнюю среду,

циркулирует в коллективах, вытесняя дикий штамм. Побочное действие: вакцино-ассоциированный полиомиелит.

В РФ вакцинация проводится ЖПВ, ревакцинация – ИПВ.

### **Вирусы Коксаки.**

*Коксаки А* - высокая миотропность - у новорожденных мышечных вызывают вялый паралич;

*Коксаки В* – ↑ нейротропность: поражения ЦНС, как и при ПМ; некроз бурого межлопаточного жира у мышечных. Выраженная кардиотропность.

### **Клиника:**

- герпангина;
- полиомиелитоподобные заболевания;
- асептический менингит;
- везикулярный стоматит;
- эпидемическая миалгия;
- о. серозный менингит;
- гастроэнтериты;
- ОРЗ;
- «малая болезнь»;
- миокардиты.

### **Свойства вирусов:**

- вирусы Коксаки А и В имеют общий комплементсвязывающий антиген, их различают по типоспецифическим АГ в РН;
- некоторые штаммы имеют гемагглютинирующие свойства (идентифицируются в РТГА);
- постинфекционный иммунитет типоспецифический, длительный (несколько лет);
- вакцинопрофилактика не применяется.

### **Вирусы ЭСНО (экхо)**

enteric cytopathogenic human orphan – «кишечные цитопатогенные вирусы – сиротки человека»

Е- энтерик, С - цитопатогеник, Н- хьюман, О- орфанс - выделены в сиротском приюте и являются «бедными» родственниками ПМ.

- в настоящее время 34 сероварианта;
- некоторые серотипы обладают гемагглютинирующими свойствами;

- культивируют на культуре клеток обезьян;
- частые возбудители ОВКИ;
- и.и. – человек, путь передачи - фекально- оральным;
- патогенез как у П.М., имеется сродство к лимфоидной ткани, вызывают о. серозные менингиты, энцефалиты и о. гастроэнтериты;
- спецпрофилактика отсутствует;
- постинфекционный иммунитет - гуморальный типоспецифический.

### **Энтеровирусы.**

*Энтеровирус 68* - полиомиелитподобное заболевание в Югославии и Румынии в 1968г.

*Энтеровирус 70* - о. эпидемический геморрагический конъюнктивит.

*Энтеровирус 71* - в 1978г. вызвал в Болгарии вспышку полиомиелитподобного заболевания с летальностью-60%.

### **Диагностика энтеровирусных инфекции.**

- вирусологический метод- заражение культуры клеток и новорожденных мышей (Коксаки А). Типируют вирус в РН, РТГА, РСК. Серотипы полиовируса типировать в РН. Для выявления АТ от больных используют парные сыворотки в этих же серологических реакциях - должно быть увеличение титра АТ в 4 и более раз.
- ИФМ.
- ПЦР: выявление РНК энтеровирусов.

**Вирусный гепатит А (*HAV-Hepatitis A virus*). Болезнь Боткина.**

### ***Сем. Пикорнавирусов, род энтеровирус 72.***

Инфекционная болезнь, проявляющаяся поражением печени, интоксикацией и желтухой. Обнаружен в 1972г. методом иммуно-электронной микроскопией.

- форма вириона сферическая, диаметр 27 нм.;
- геном - однонитевая позитивная РНК;
- суперкапсида нет;
- тип симметрии кубический - икосаэдр, имеет 32 капсомера из 4 белков VP1-VP4;
- имеет один вирусоспецифический антиген (белок);
- размножается в культуре клеток почек эмбриона макаки, клетках почек зеленых мартышек без ЦПД;

**Резистентность** - вирус устойчив к высоким и низким Т° (60С°-1 час), кислотам, жирорастворителям, дезинфицирующим средствам. Резистентен к хлору – проникает в водопроводную воду.

**Эпидемиология** – и.и. - человек, вирус выделяется с испражнениями за 12-14 дней до желтухи и в течение 3-х недель желтушного периода. В крови выявляется в конце инкубационного периода и в первые дни заболевания.

Путь заражения - фекально- оральный (вода, пища, бытовой) и воздушно- капельный.

Сезонность – осенне- зимняя, болеют дети до 14 лет.

### **Патогенез, клиника.**

И.п.- 30 дней. Вирус размножается в эпителиальных клетках регионарных л/у кишечника, проникает в кровь, затем в печень – о. диффузный гепатит.

**Постинфекционный иммунитет** - прочный, длительный (пожизненный), обусловлен вируснейтрализующими АТ и клетками иммунной памяти. Ig М исчезают через 3-4 мес после начала заболевания, Ig G – сохраняются десятилетия.

### **Диагностика:**

- иммунная электронная микроскопия (определение ВГА в фекалиях);
- ИФА и РИА (определение НАV АГ в фекалиях, воде);
- серологическая диагностика: ИФА и РИА – определение в парных сыворотках крови анти ВГА - Ig М (max титр на 3-6 нед. болезни). Анти - ВГА Ig G говорит о перенесенном ВГА.
- ПЦР.

### **Профилактика**

1. *Вакцина культуральная инактивированная* (на культуре клеток почек зеленых мартышек). АТ появляются на 21-28 сутки.
2. *Субвирионные, химические, генно-инженерные* вакцины разрабатываются.
3. В очагах – *донорский человеческий иммуноглобулин* с ↑ титром специфических антител.

## **Ротавирусы.**

### **Сем. Reoviridae, под Rotavirus.**

Открыл в 1973 году Бишоп, при электронно- микроскопическом исследовании энтероцитов 12-перстной кишки больных детей ГЭ. С помощью антисывороток реконвалесцентов доказана их этиологическая роль.

- форма сферическая, 70нм.;
- нуклеокапсид содержит 2 слоя, внутренний - плотно окружает сердцевину и соприкасается с тонким наружным слоем с отходящими внутрь «спицами» - форма колеса. В выделениях больных встречаются и однокапсидные вирионы. Капсид состоит из 8 структурных белков, важен VP-3 – отвечает за проникновение в клетку, вирулентность, свойства гемагглютинаина.
- геном - двунитевая фрагментированная РНК, 11 фрагментов, посередине расположена РНК- полимеразы.
- плохо размножается в культуре клеток, требует длительное время для адаптации. Культивируют на почечной ткани зеленых мартышек. ЦПД – уплотнение, округление клеток, объединение их в конгломераты.

### ***Эпидемиология.***

- Антигены ротавируса человека и животных близки. АГ ротавируса телят используют для серологической диагностики;
- и.и.- больной человек, реже – больные животные (свиньи, КРС);
- механизм передачи – фекально- оральным. Путь – водный, пищевой, контактно- бытовой.
- болеют дети до 2 лет;
- ежегодно болеют около 500 млн. детей, погибают 500 тыс.

### ***Патогенез, клиника.***

- размножается в эпителиальных клетках 12-перстной кишки, вызывая некроз и диарейный синдром;
- и.п. -1-7 дней (в среднем 1-3 сут);
- так выделение вируса с фекалиями в первые 3-5 дней заболевания;
- клиника ГЭ: ранний симптом - рвота, затем присоединяется понос до 20 раз в сутки. Продолжается 2-6 дней;
- дегидратация у 83% больных;
- болезнь длится 4-7 дней, вирус выделяется до 10 дней.

### ***Лечение.***

- устранение дегидратации;
- восстановление нормального водно- солевого обмена: на 1 литр воды: NaCl- 3, 5 г., сода пищевая -2,5г., KCl -1,5 г., глюкоза- 20,0 г.; раствор Регидрона.
- обеспечение нормального питания;

### ***Диагностика.***

1. обнаружение вируса (АГ) в испражнениях:
  - электронная микроскопия;

- иммуно-электронная микроскопия;
- ИФА;
- р. преципитации;
- р. ко – агглютинации;
- РНК- зондов;
- РПГА;
- ПЦР.

2. серологическая диагностика:

- РН в культуре клеток;
- РСК, РТГА.

**Специфическая профилактика:**

- живая аттенуированная вакцина (за рубежом).

## **Лекция № 16. Острые респираторные вирусные инфекции. Вирус гриппа А.**

**Причины частой заболеваемости ОРВИ:**

1. большое число вирусов, вызывающих заболевание; свыше 130;
2. отсутствие перекрестного иммунитета;
3. отсутствие эффективных вакцин;
4. воздушно-капельный или воздушно-пылевой путь передачи инфекции.

Инфекция может принимать характер эпидемий или пандемий.

Известно **6 семейств вирусов, вызывающих ОРВИ**, из них *РНК-содержащие*:

1. С. Orthomyxoviridae (ортомиксовирусы): вирусы гриппа А, В, С;
2. С. Paramyxoviridae (парамиксовирусы):
  - род парамиксовирус - в. парагриппа 1,2, 3 типов;
  - в. болезни Ньюкасл;
  - в. парагриппа птиц;
  - в. паротита;
  - род пневмовирус - респираторно- синцитиальный вирус (RS);
  - род морбилливирус - в. кори.
3. С. Coronaviridae (респираторные коронавирусы).
4. С. Reoviridae (респираторные реовирусы).
5. С. Picornaviridae (пикорновирусы):
  - род риновирус - риновирусы человека;
  - род энтеровирус - сероварианты в. Коксаки и

ЭСНО.

6. С. Adenoviridae (*ДНК-содержащие*):

- род мастоаденовирус - аденовирусы млекопитающих и человека.

-род авиаденовирус - аденовирусы птиц.

Причиной большого числа возбудителей является наличие на эпителиоцитах ВДП огромного числа рецепторов, которые распознаются этими вирусами.

*Расположение вирусов по частоте вызываемых ОРВИ (по убыванию):*

1. риновирусы;
2. короновирусы;
3. RS –вирус;
4. в. парагриппа;
5. аденовирусы;
6. в. гриппа.

По масштабу вызываемых эпидемий и экономическому ущербу на 1-м месте - в. гриппа.

### **Вирусы гриппа.**

Вирус гриппа А вызвал сильнейшие пандемии:

1889г

1918- H1N1 -испанка;

1957 – H2N2- азиатский;

1968 – H3N2 – гонконгский;

1977 - H1N1 – свиной;

1997.

2009- H1N1sw/09 – свиной;

От фр. «Grippe» – схватить.

Итал. «Influenza» – влияние холода (звезд).

Грипп вызывают 3 вируса: А, В и С, которые отличаются по нуклеопротеидным антигенам.

В. гриппа А – вызывает заболевание у человека, млекопитающих и птиц;

В. гриппа В и С – только у человека.

### **Вирус гриппа А.**

*Строение вируса.*

- сферическая форма вириона;
- диаметр 80-120 нм;
- М.М. 250 МД;
- геном – однонитевая фрагментированная (8 фрагментов) негативная РНК;
- тип симметрии нуклеокапсида спиральный;
- суперкапсид имеется, состоит из бислоя липидов и содержит 2 типа гликопротеидов: гемагглютинин (H) и нейроминидазу (N), хаотично выставленных на поверхность в виде шипов (бессистемно).

**Гемагглютинин (H)** - структура тримера с м.м. 225 кД. Мономер состоит из меньших субъединиц  $H_1$  с м.м – 25 кД и  $H_2$  – 50 кД.

*Функции:*

1. распознает клеточный рецептор (мукопептид, имеющий N-ацетилнейраминовую кислоту (сиаловую));
2. обеспечивает слияние мембраны вируса с мембраной клетки и её лизосом;
3. определяет пандемичность вируса: смена H – причина пандемий, его изменчивость – причина эпидемий;
4. обладает выраженными протективными свойствами.

Обнаружено 13 различных типов H:  $H_1$  -  $H_{13}$ ;

**Нейраминидаза (N)** – тетрамер, м.м. – 200 кД, каждый мономер – 50 кД. *Функции:*

1. обеспечивает диссеминацию вирионов, отщепляя нейраминовую кислоту от вновь синтезированных вирионов и мембраны клетки-хозяина;
2. совместно с H определяет пандемичность и эпидемичность вируса;

Обнаружено 10 вариантов N:  $N_1$  –  $N_{10}$ .

**Нуклеокапсид** состоит из 8 фрагментов РНК и капсидных белков, образующих спиралевидный тяж. Каждый фрагмент РНК транскрибируется и реплицируется самостоятельно и с каждым прочно связаны 4 капсидных белка:

- NP – нуклеоротеид - структурная и регуляторная роль;
- PB1- транскриптаза;
- PB2- эндонуклеаза;
- PA- репликаза.

### ***Нуклеокапсид окружен:***

- матриксным белком М1, который играет ведущую роль в морфогенезе вириона и защите вирионной РНК;  
- белками М2, NS1 и NS2 (неструктурные, регуляторные) синтезируются при репродукции вируса, но в структуру вируса не входят.

Восемь фрагментов РНК несут в себе 10 генов, т.к. 7 и 8-ой фрагменты имеют по две рамки считывания, в целом у в. гриппа А синтезируются 7 структурных и 3 регуляторных белка.

### **Жизненный цикл вируса гриппа А.**

**1. Адсорбция.** Взаимодействие Н с мукопептидом;

**2. Проникновение в клетку.** Может осуществляться 2-мя механизмами:

- слияние мембран вириона и клетки;
- по пути окаймленная ямка - окаймленный пузырек - эндосома - лизосома - слияние мембран вириона и лизосомы - выход нуклеокапсида в цитозоль. Раздевание вируса (разрушение М-белка) происходит на пути к ядру.

**3.** Т.к. у вируса отсутствует «кеп» на участке 5 мРНК и поэтому он не может распознаваться рибосомами, то он откусывает «кэп» от клеточной мРНК с помощью белка РВ2 (эндонуклеаза). Для синтеза мРНК вирусная РНК должна **проникнуть в ядро**. Проникает в виде нуклеопротеида, состоящего из 8 фрагментов РНК и белков NP, РВ1, РВ2, РА.

**4. Транскрипция.** В ядре на вРНК синтезируются:

- мРНК - используется как матрица для синтеза вирусных белков;
- кРНК – служит матрицей для синтеза вирионных РНК;
- негативная вРНК - служит геном для вновь синтезированных вирионов.

Белки NP, РВ1, РВ2, РА, М синтезируются на свободных полирибосомах и все, кроме белка М возвращаются в ядро, где связываются с вновь синтезированными вРНК. Затем в виде нуклеокапсида поступают в цитозоль. Белок М встраивается во внутренний листок ЦПМ клетки, вытесняя мембранные белки.

**5. Н и N синтезируются** на мембраносвязанных рибосомах, транспортируются на эндоплазматической сети в комплекс Гольджи, где гликозилируются, подвергаются процессингу (Н разрезается на Н1 и Н2) и поступают на наружный листок ЦПМ в виде шипов как раз напротив белка М.

**6. Заключительный этап морфогенеза** контролируется белком М. Нуклеокапсид проходя через мембрану клетки связывается белком М, затем покрывается клеточным липидным слоем и суперкапсидными белками Н и N. Жизненный цикл занимает 5-6 часов, синтезированные вирионы отпочковываются и атакуют следующие клетки.

### **Эпидемиология.**

- и.и. – человек (больной или носитель);
- путь передачи – воздушно-капельный;
- и.п. короткий – от нескольких часов до 2-3 дней;
- при отсутствии коллективного иммунитета переходит в эпидемию или пандемию. После появления иммунной прослойки процесс идет на убыль.

### **Изменчивость вируса гриппа А.**

**1. антигенный дрейф** – происходит селективный отбор штаммов с измененной Аг структурой Н и реже N. Эпидемия будет продолжаться, пока к ним не появятся АТ у всех людей. Селекция возникает в потомстве вируса под влиянием АТ.

**2. антигенный шифт** (сдвиг) – полная смена одного типа Н (реже N) на другой. Все пандемии вызваны вирусами гриппа А, потерпевшими шифт.

1918г – Н1 N1;

1957г – Н2 N2;

1968г – Н3 N2;

2006г - Н5 N1 появление «птичьего гриппа»;

2009г - Н1 N1sw/09.

Антигенные шифт и дрейф являются главным препятствием на пути создания эффективных вакцин.

### **Составление название вируса (ВОЗ):**

#### ***I часть:***

- серотип: А, В, С;
- вид хозяина;
- место выделения;
- номер штамма;
- год выделения (последние 2 цифры);

#### ***II часть:***

- фенотип Н и N.

Например, А/Сингапур/1/57(H2N2)

### **Особенности патогенеза и клиники.**

- в. размножается в эпителии ВДП, преимущественно в трахее;
- сильная интоксикация, повышение  $T^{\circ}$ , т.к. в кровь попадают продукты распада;
- повышается проницаемость сосудов (повреждение эндотелия), точечные кровоизлияния. Осложнение- отек мозга;
- в. угнетает кроветворение;
- в. подавляет иммунитет, приводит к вторичным инфекциям.

### **Постинфекционный иммунитет.**

- напряженный, продолжительный, но выражена типоспецифичность (по Н- и N – антигенам).
- важная роль – вируснейтрализующие АТ, в т.ч. IgA, блокирующие Н и N, интерферон, натуральные киллеры.

### **Лабораторная диагностика.**

- 1. Определение в крови АТ** к Н и N и нарастание их титра в РТГА (метод парных сывороток: должно быть 4-х кратное и более нарастание титра АТ);
- 2. МФА** (метод флуоресцирующих АТ): в носоглоточных смывах или щечных соскобах определяют АГ. Экспресс-метод.
- 3. ПЦР.** Диагностика гриппа А/В, «птичьего» (H5N1), «свиного» (H1N1/09) гриппа. Материал: мазки из носа и зева, носоглоточные смывы, кусочки трахеи, легких, содержимое кишечника – от птиц;
- 4. Вирусологический метод:** заражение куриных эмбрионов и типирование вируса в РН с помощью антисывороток.

### **Специфическая профилактика** (см. пособие по ИБП).

- живая из аттенуированного вируса (per os, интраназально);
- убитая цельновирионная (химическая);
- субвирионная: из расщепленных вирионов;
- субъединичная (содержит Н и N).

### **Вирус гриппа В.**

- структура сходна с в. гриппа А;
- дрейф выражен слабее;
- пандемий не вызывает;
- клиника как у в. гриппа А.

## **Вирус гриппа С.**

- геном – однонитевая негативная РНК из 7 фрагментов. Кодировать 2 регуляторных и 6 структурных белков;
- нет N;
- шипы суперкапсида расположены упорядочено (гексагональная последовательность). Представлены гр 88 с функцией Н и N. Распознают другой рецептор.
- хуже размножается в куриных эмбрионах;
- изменчивость не свойственна;
- часто вызывает спорадические заболевания;
- диагностика: МФА ?, РТГА?, заражение куриных эмбрионов.

## **Парамиксовирусы**

- *ВПГЧ* (вирус парагриппа человека) выделен в 1956г из носоглотки детей с гриппоподобным заболеванием;
- *геном* - однонитевая негативная нефрагментированная РНК, состоит из 6 генов;
- *капсидные белки* NP- связан с РНК и полимеразные Р и L с функцией транскриптазы. Образуют спиральный тип симметрии;
- *суперкапсидные белки*:
  - а) HN (с Н и N функцией);
  - б) F (слияние) - отвечает за гемолиз эритроцитов, слияние в мембраны с мембранной клетки и её лизосом, слияние зараженных и не зараженных клеток (синцитий);
- *жизненный цикл* протекает в цитоплазме клетки;
- *культивируют* в первично - трипсинизированных клетках, обнаруживаются в реакции гемадсорбции;
- *клиника* протекает с явлениями ларингита. У детей протекает тяжело.
- *диагностика*: МФА, выделение на культурах клеток и типирование в реакции торможения гемадсорбции или гемагглютинации, РТГА с определением титра АТ

## **RS – вирус**

- сферическая форма, диаметр 120-200 нм;
- геном - однонитевая нефрагментированная РНК. 10 генов кодируют 7 структурных и 3 регуляторных белка;
- нет Н и N;

- нет гемолитической активности;
- суперкапсидные белки G (адсорбция вируса) и F (слияние мембран вируса и клетки и её лизосом и слияние инфицированной и неинфицированных клеток (симпластобразование));
- нуклеокапсидные белки N, P, K с функцией транскриптазы;
- размножается в культуре перевиваемых клеток (ЦПД, образование бляшек);
- не размножается на куриных эмбрионах;
- поражает нижние отделы респираторного тракта;
- иммунитет стойкий, не более 1 года. У 70% детей до 3 лет обнаружены АТ к RS – вирусу;
- иммуносупрессивные свойства, иммунопатологические реакции с образованием иммунных комплексов;
- причина внутрибольничных пневмоний у новорожденных и детей младшего возраста;
- диагностика: МФА, ПЦР, заражение культуры клеток.

## **Вирус кори**

*Morbilli (корь)* – о. вирусное заболевание детского возраста, характеризующееся общей интоксикацией, температурой, катаром слизистых ДП и макулезно-папулезной сыпью.

*Строение вируса:*

- обладают гемагглютинирующей, гемолитической и симпластобразующей активностью;
- нет нейроминидазы;
- имеет общий Аг с в. чумы собак и чумы рогатого скота;
- плохо размножается в куриных эмбрионах;
- используют первично - трепсинизированные культуры клеток эпителия почек обезьян и амниона человека;
- инактивируется в кислой среде, при 56°C погибает за 30 мин, разрушается жирорастворителями, чувствительны к солнечному свету;
- подавляет активность Т-лимфоцитов (вторичный иммунодефицит);
- и.и. – больной человек. Путь передачи - воздушно-капельный. Поражает эпителиальные клетки верхних и нижних ДП, эндотелий сосудов, появляется сыпь. Диагноз ставят клинически: появления на слизистой щек пятен Коплика-Филатова, ОРЗ, папулезная сыпь. Осложнения редко – у взрослых и детей старшего возраста

развивается острый коревой энцефалит.

- *иммунитет*: прочный, пожизненный, обусловленный вируснейтрализующими антителами, клетками иммунной памяти, Т-цитотоксическими лимфоцитами. Антитела Ig G проникают через плаценту, защищают новорожденных до 6 мес;

- вирус кори может вызывать не только продуктивную инфекцию, но и тяжелую медленную инфекцию - **подострый склерозирующий панэнцефалит**. Вирус попадает в клетки ЦНС, неблагоприятные для его жизни. Происходит мутация М - и F-белков: М- нарушается образование и выход вирусного потомства из клеток хозяина, F- блокирует действие цитотоксичных клеток. Прогрессирующее заболевание ЦНС у детей и подростков, появляются высокие титры АТ к NP- белку в крови и ликворе.

Клиника:

- раздражительность;
- плаксивость;
- расстройство речи и зрения;
- дезориентация;
- снижение интеллекта;
- кома;
- смерть.

- **специпрофилактика** (см. пособие по ИБП):

- живая вакцина против кори, краснухи, паротита;
- вакцина коревая культуральная живая;
- вакцина паротитная культуральная живая.

## **Лекция № 17. Парентеральные гепатиты.**

Известно 6 вирусов гепатита с парентеральным путем передачи: В, С, Д, F, G, TTV.

### **Вирус гепатита В**

*Сем. **Hepadnaviridae*** (hepar – печень, DNA- ДНК).

В мире ежегодно заражаются более четверти миллиона человек;  
От патологии, связанной с HBV- инфекцией умирает около 2 млн. человек;

Около 300 миллионов инфицировано.

*Россия:* в год – переносят заболевание 100 тыс. человек, более 5 млн. носители.

*ВОЗ:* 9 место среди причин смерти в мире (после хр. заболеваний легких, стоит перед СПИДом).

#### **Этиология.**

Открыт в 1967г. Вначале был обнаружен поверхностный антиген (HBsAg).

*Геном HBV* – кольцевая молекула ДНК, состоит из 3200 п.н. (наименьший из всех известных вирусов). ДНК двухцепочечная:

короткая «плюс»- цепь составляет 50-80% «минус»- цепи. ДНК HBV включает в себя 4 гена S, C, P, X, перекрывающие друг друга. *Ген S* состоит из 3 зон- *S*, *Pre-S1* и *Pre-S2*. Кодировать белки наружной оболочки вируса: поверхностный антиген или «австралийский» (HBsAg). Область *Pre-S1* играет роль в проникновении вируса в клетки печени. *Ген S* экспрессируется на высоком уровне только в клетках печени и под влиянием стероидных гормонов - риск развития хр. гепатита, формирования гепатомы для мужчин больше, чем для женщин.

*Ген C* состоит из 2 зон: *Pre-C1* и *C-гена*. *C-ген* кодирует белки капсида - HBcorAg и HBeAg. Сыворотки крови, содержащие HBeAg в миллион раз инфекционнее, чем с анти-HBe. У матерей больных вирусным гепатитом В, HBeAg проникает через плаценту, формируя иммунологическую толерантность, что приводит к развитию хр. вирусного гепатита. Участок *pre-C* отвечает за синтез белка, который влияет на размножение ДНК вируса.

*Ген P* кодирует фермент ДНК- полимеразу.

*Ген X* кодирует белок, активирующий экспрессию генов вируса. Является как регуляторным, усиливающим синтез вирусных белков, так и включенным в структуру вируса. HBxAg играет роль в развитии первичной гепатоклеточной карциномы.

Для достройки внутренней цепи ДНК вирус имеет ДНК-полимеразу с функцией обратной транскриптазы (скрытый ретровирус)

**Суперкапсид** HBV состоит из 3 белков:

*Главный S-белок* p24/gr 27- основной компонент оболочки. Полимеризуется и образует сферические частицы d 22 нм.

*Большой белок L* p39/gr 42 встречается во всех формах HBsAg , играет роль в морфогенезе вириона и выходе его из клетки.

*Средний M- белок* gr 33/gr 36 встречается во всех формах HBsAg. Участвует в распознавании клеток печени ограниченного круга хозяев.

**HBsAg** морфологически подразделяется на 3 типа:

- мелкие сферические частицы диаметром 22 нм;
- тубулярные формы разной длины, того же диаметра;
- крупные сферические частицы диаметром 42-45 нм (частицы Дейна), имеющие оболочку и ядро.

HBsAg неоднороден, содержит общую (а) и 4 различающихся

детерминанты (d,y,w,r). Идентифицировано 8 подтипов HBsAg. В Северной Америке, Европе, Африке преобладают подтипы adw, auw. В Юго-Восточной Азии и на Дальнем Востоке- auw, ayr, adw. На поверхности HBsAg имеется рецептор для прикрепления к рецептору гепатоцита (гепатотропность, круг хозяев- человек и человекообразные обезьяны). Поверхностный антиген синтезируется в цитоплазме гепатоцитов, часть его используется для сборки вируса, другая часть секретируется в межклеточное пространство и циркулирует в крови.

**Капсид** (внутренняя оболочка вируса) представлен:

- **HBcorAg**, окружает вирусную ДНК, взаимодействует с ней. В ядрах гепатоцитов HBcorAg локализуется в свободной форме.
- **HBeAg**, связан с HBcorAg, может свободно циркулировать в сыворотке крови, отражает степень вирусной репликации. Имеется 2 антигенных варианта: HBeAg-1 и HBeAg-2, отличаются по степени связывания с HBcorAg.

**Различают 4 АГ ВГВ:**

- поверхностный (HBsAg);
- сердцевидный (HBcorAg);
- антиген инфекционности (HBeAg, входит в состав HBcorAg);
- HBxAg.

Первые 3 АГ и АТ к ним изучены, роль HBxAg и анти- HBx полностью не выяснена.

**Изменчивость ВГВ.**

1. Выявлено 6 основных генотипов HBV: А, В, С, Д, Е, F. Генотип F чаще выявляется у больных с тяжелым течением заболевания.
2. Мутантная форма вируса Pre Cor возникает из-за замены одной аминокислоты (гуанин) на другую (аденин) в участке С-гена. Это ведет:
  - к прекращению синтеза HBeAg;
  - атаке иммунных клеток на гепатоциты;
  - прогрессированию болезни;
  - высокому уровню рецидивов после лечения рефероном;
  - к развитию фульминантного (скоротечного) гепатита.
3. Мутации в S- зоне. Вакцины защищают от заражения различными генотипами и Pre Cor -мутантом ВГВ, но не защищает от инфицирования мутантом S- зоны.
4. Под действием различных факторов происходят точечные

мутации в разных зонах генома. Например, в сыворотке обнаруживается только HBsAg без других маркеров, при этом вирусные частицы крупнее, чем у классического ВГВ (ВГВ 2-типа).

**Устойчивость ВГВ** во внешней среде. Инактивируется при:

- автоклавировании  $T^{\circ} 120$  С через 45 мин.;
- стерилизации сухим жаром  $180^{\circ}$  С в течение 60 мин.;
- кипячение в течение 60 мин.;
- прогревание при  $60^{\circ}$ С в течение 10 часов;
- перекиси водорода;
- УФ- облучении;
- действию хлорамина, формалина, фенола.

**Жизненный цикл.**

**1. адсорбция.**

**2. проникновение в клетку** путем репторопосредованного эндоцитоза.

**3. внутриклеточное размножение:**

- депротенинизация вируса;
- достраивание короткой цепи геномной ДНК при действии вирусной ДНК- полимеразы;
- поступление вирусной ДНК в ядро, встраивание в ДНК гепатоцита;
- синтез клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразой прегеномной РНК и м-РНК (для синтеза вирусных белков);
- прегеном и вирусная ДНК-полимераза упаковываются в капсид, переносится в цитоплазму;
- синтез ДНК- полимеразой на прегеномной РНК «минус» - нити ДНК: обратная транскрипция;
- разрушение прегеномной РНК;
- синтез «плюс» - нити ДНК (матрицей служит «минус» нить ДНК);
- капсидные белки с синтезированной двухцепочечной ДНК проходят через мембрану клетки;
- формирование суперкапсида;
- отпочковывание;
- прекращение удлинения короткой «плюс» - цепи:

**4. исход:**

а) выход в кровь;

б) ДНК вируса остается в ДНК гепатоцита с развитием хр. гепатита. Это бывает при небольших дозах HBsAg, т.к. слабый антигенный

раздражитель.

### **Эпидемиология.**

И.и.- больные острым или хроническим ВГВ, вирусоносители.

Механизм передачи - кровяно-контактный:

а) естественный путь - половой, вертикальный (во второй половине беременности + обязательная болезнь матери), прямой и непрямой контакт в быту.

б) искусственный путь - парентеральное введение наркотиков, татуировка, бритье, косметические манипуляции.

Концентрация вируса в биоматериале (по степени убывания):  
кровь – сперма - вагинальный секрет – слезы – слюна - фекалии.

### **Патогенез.**

Поражение печени обусловлено не самим вирусом. Лизис инфицированных гепатоцитов, элиминация вируса, исход острого ВГВ зависит от иммунного ответа. HBsAg концентрируется на поверхности гепатоцитов, стимулирует продукцию эндогенного интерферона, что ведет к скоплению цитотоксических Т-клеток, НК. Развиваются аутоиммунных реакций с поражением зараженных и незараженных клеток. Образовавшиеся ЦИК определяют внепеченочные поражения.

**Постинфекционный иммунитет** длительный, пожизненный, обусловлен вируснейтрализующими антителами при отсутствии анти-HBsAg. Иногда антитела не вырабатываются, вирус сохраняется в печени, развивается хроническое носительство.

### **Маркеры ВГВ:**

*HBsAg* – обнаруживается в крови, в гепатоцитах, сперме, влагалищном секрете, ликворе, синовиальной жидкости, грудном молоке, слюне, моче за 1,5-2 мес до клинических проявлений болезни, в продромальном и первых 2-3 нед желтушного периодов. Персистирование в крови более 7-8 нед говорит о хронизации процесса.

анти-HBs- появляются после исчезновения HBsAg. «Фаза окна»- нет ни АГ, ни АТ- длится от 3-4 мес. до года.

*HBcorAg* не выявляется в свободном виде в крови, обнаруживается в биоптатах печени в ядрах гепатоцитов.

анти- HBcor IgM появляются в крови рано, говорит об активной

репликации вируса.

анти-НВсogA IgG появляется длительно существуют в крови.

*НВеAg* обнаруживается на ранних стадиях болезни. Его появление в крови связано с ДНК – полимеразной активностью, указывает на активную репликацию. Маркер высокой инфекционности крови. Персистирование в крови более 3-4 нед от начала болезни говорит о хронизации процесса.

анти-НВе появляются на 2-3 нед. желтушного периода, сохраняется 2-5 лет. Смена НВеAg на анти-НВе (сероконверсия) говорит о резком снижении активности инфекционного процесса.

## **Диагностика**

### **серологическая:**

- РОПГА – выявление в крови поверхностного *HbsAg*;

- ИФА – выявление маркеров ВГВ;

**ПЦР:** обнаружение ДНК ВГВ

## **Спецпрофилактика.**

1. Вакцина рекомбинантная дрожжевая жидкая – рекомбинантный клон дрожжей сахаромицес cereвице, вырабатывающих поверхностный НВsAg (подтип ауw).

2. Инактивированный вирус из плазмы вирусоносителей.

3. Иммуноглобулин человека против ВГВ – из крови доноров, содержащей АТ к поверхностному АГ. Применяют для пассивной профилактики ВГВ в «группах риска».

## **Вирусный гепатит Д (HDV, Дельта- инфекция).**

HDV – сферическая частица, в центре находится сферический РНК- антиген (HD-Ag). Наружную оболочку образует поверхностный АГ ВГВ (НВsAg). HDV не может существовать без репликации вируса ВГВ, это дефектный вирус. ВГВ выполняет роль помощника для размножения HDV.

ВГД располагается в ядрах гепатоцитов и изредка в цитоплазме.

**Устойчив** к воздействию нагревания, кислот, нуклеаз, гликозидаз; денатурируется щелочами, протеазами.

Среди о. ВГ антитела к HDV выявляются у 2-7 %, при хр. – у 9-50 % больных.

**Источник инфекции** - больные о. и хр. гепатитом Д, вирусоносители, носители анти- HDV (у лиц с АТ нередко обнаруживаются и АГ).

**Эпидемиология** как и при ВГВ.

**Патогенез.**

а) **коинфекция** - одновременное заражение ВГВ и Дельта-инфекцией. Развивается острый микст- гепатит, инфекция протекает остро и заканчивается выздоровлением. Выявляются маркеры острого ВГВ и о. Дельта - инфекции.

б) **суперинфекция** - HDV-инфекция наслаивается на текущую HBV-инфекцию (здоровые носители HBsAg, реконвалесценты ВГВ, больные хроническим ВГВ). Развивается клиника Дельта - гепатита Т.к. имеется большое количество HBsAg в клетках печени - создаются благоприятные условия для репликации. Течение тяжелое, может развиваться фульминантный гепатит. Выявляются маркеры о. ВГД и маркеры ВГВ в зависимости от стадии болезни.

**Специпрофилактика** как и при ВГВ.

**Вирусный гепатит G (HGV).**

Обнаружен в 1995г. из плазмы больного хр. ВГС. По гомологии генома относят к сем. флавовирусов.

Встречается у 20% больных ВГС, 10% больных хр. ВГВ, а так же при аутоиммунном и алкогольном гепатите (по 10%), часто у больных с пересаженными органами. Иммунодепрессанты способствуют развитию хр. носительства HGV. Обнаруживается в сыворотке, плазме, моноклеарных клетках периферической крови и слюне. Протекает в клинически выраженной и бессимптомной формах, может вызвать острый скоротечный гепатит. Диагностика- обнаружение РНК в ПЦР.

**TTV- инфекция.**

Вирус ТТ выделен в 1997 году у больных с посттрансфузионным гепатитом неясной этиологии. Им инфицировано от 1 до 94% населения. Выявляется у 46% больных хр. гепатитом ни-В ни-С ни -G, 47% больных фульминантной формой гепатита, у 12% доноров, у 37% лиц, инфицированных ВГС. Вопрос о взаимосвязи между ТТ-инфекцией и патологией печени дискутируется, но гепатотропность вируса доказана: репликация вируса доказана и титры ДНК ТТ выше в печени, чем в сыворотке больных. Вирус способен персистировать в организме несколько лет без

морфологических и биохимических изменений функции печени.

## **Вирусный гепатит С (HVC).**

Антропонозная вирусная инфекция с преимущественным поражением печени. 90% всех гепатитов в странах с внедренной вакцинопрофилактикой гепатита В. Кроме человека болеют только шимпанзе. Число инфицированных HVC - более 200 млн. человек, большая часть скрытые вирусоносители. У 65-85% заболевших развивается хр. инфекция

**Этиология.** Сем. флаовирусов. Сферическая частица, состоит из нуклеокапсида и белковолипидной оболочки. Имеет маленький геном с одним геном, кодирующим 9 белков. Однонитевая нефрагментированная РНК (9500-10000п.н.) Между 3' и 5' терминальными участками генома располагаются структурные и неструктурные гены, кодируемые геномом вируса. Эти белки участвуют в проникновении вируса в клетку, в создании и сборке вирусных частиц, в переключении на себя некоторых функций клетки.

**3 структурных белка** (*сor*- антиген и гликопротеины оболочки) участвуют в формировании вирусной частицы:

- белок *C (сor)* –входит в состав нуклеокапсида - роль в сборке вируса, регуляции синтеза вирусной РНК, нарушении иммунного ответа.

- гликопротеиды *E1* и *E2* (белки оболочки) образуют комплекс для связывания вируса с клеткой и проникновения в неё.

**Остальные 6 белков - неструктурные**, выполняют функции ферментов: *NS2*, *NS3*, *NS4A*, *NS4B*, *NS5A*, *NS5B*- участвуют в репликации вируса.

К каждому из этих белков вырабатываются АТ.

HVC генетически неоднороден из-за быстрой замещаемости нуклеотидов.

Образуется большое количество **генотипов** - 11 и **субтипов** – до 30.

В США генотип 1а, в России -1b (высокий уровень виремии и низкий ответ на лечение интерфероном), 3а,1а,2а.

Наиболее консервативны С- протеин, NS 5 - протеин и РНК-зависимая ДНК-полимераза.

Вариабельны белки оболочки E2/ NS1 и E2

Часты мутации в компонентах гена, появляются измененные белки, особенно оболочечные (квази-виды) - способны существовать в человеке в виде близкородственных частиц.

Менее устойчив к физико-химическим воздействиям, чем ВГВ.

**Эпидемиология.** И.И.- больной, вирусоноситель. Высокая естественная восприимчивость людей. В сыворотке крови находится в низкой концентрации, требуется более высокая инфицирующая доза, чем при ВГВ.

Обнаруживается в крови, сперме, слюне, грудном молоке (по данным ПЦР, РНК в молоке не обнаруживается). Вертикальная передача наблюдается реже, чем при ВГВ.

**Патогенез.** Оказывает прямой цитопатический эффект и иммунопатологические реакции. Не имеет обратной транскриптазы, не интегрирует с геномом гепатоцитов, локализуется только в цитоплазме. Наблюдается внепеченочная репликация НСВ: в мононуклеарных клетках крови, костного мозга, л\у, селезенки; ведет к низкому иммунному ответу. Появление АТ не ведет к элиминации вируса (переходит в хр. НСВ), гуморальный иммунитет не играет протективной роли.

**Диагностика.** ПЦР, ИФА по выявлению АТ к структурным и неструктурным белкам.

## Лекция № 18. ВИЧ – инфекция

**Семейство** - Retroviridae (ретровирусы).

**Подсемейство:**

- *Lentivirinae* (лентивирусы) – возбудитель медленных инфекций. Вирус, вызывающий СПИД.
- *Oncovirinae* (онкогенные вирусы)- ответственные за превращение нормальной клетки в опухолевую.
- *Spartavirinae* (пенящие)- размножаются в культуре клеток с симпластобразованием; непатогенные для человека.

**История.**

Роберт Гало - в конце 70 г. открытие возбудителя Т- клеточного лейкоза . Назван вирусом Т – клеточной лейкемии человека HTLV - 1. Затем был выделен вирус, вызывающий заболевание крови- HTLV -2.

В 1983г. Люк Монтанье выделил ретровирус, который ведет не к злокачественному перерождению Т- лимфоцитов, а к их гибели – LAV (вирус, ассоциированный с лимфоаденопатией). Затем группа Гало выделила вирус HTLV -3. Вирусы LAV и HTLV -3 идентичны. Новое название ВИЧ (вирус иммунодефицита человека).

В 1986г. группа Монтанье открыла новый вирус ВИЧ- 2. Он родственен возбудителю СПИДоподобного заболевания у макак, имеет генетическую гомологию ближе к ВИО; с ВИЧ- 1 степень гомологии – 50-60%, вызывает доброкачественное заболевание с продолжительным течением. ВИЧ-1 вызывает заболевание у людей и шимпанзе.

### **Этиология.**

*Гипотезы происхождения вируса:*

- воздействие на вирус неблагоприятных экологических факторов;
- бактериологическое оружие;
- мутация вируса в следствии радиоактивного воздействия урановых залежей в Замбии и Заире.

### **Строение.**

Диаметр вириона - около 100 нм.

Форма - шаровидная.

Оболочка *капсида* имеет форму правильного многогранника, состоящего из 12 пятиугольников и 20 шестиугольников. Мембрана вируса пронизана шипами из 80 молекул *gp 120* (гликозилированный протеин с м.м. 120 кД), связанных с внутримембранным белком *gp 41*. Эти белки с двойным слоем липидов образуют *суперкапсид*. Молекулы *gp 120* могут отрываться от вирусной частицы и с током крови поступать в ткани.

*Оболочка нуклеотида* состоит из молекул белка *p24* (м.м.24 кД).  
Внутри заключен:

- *геном вируса*, представленный 2-мя идентичными молекулами РНК из 9500 пар нуклеотидов (п.н.).
- *белки p7, p9*, связаны с РНК; *p17*- примыкает к внутренней поверхности мембраны.
- *комплекс ферментов*: обратная транскриптаза (ревертаза), РНК-аза Н, ДНК-зависимая ДНК полимераз (объединенные в *pol*-комплекс), протеаза, интеграз, затравочная РНК.

**Геном ВИЧ** состоит из 9 генов.

**3 структурных гена:** *gag, env, pol* синтезируют 9 структурных белков:

*gag* - кодирует внутренние группоспецифические белки вириона, входящие в состав сердцевины и капсида (*p24, p7/9, p17/18, p13,*

p15)

*env* - кодирует типоспецифические белки, входящие в состав внешней оболочки (gp 41 и gp120).

*pol* - кодирует ферментные системы вируса: обратную транскриптазу (p66/51), РНК-азу Н (p15), ДНК-зависимую ДНК полимеразу, протеазу (p12), интегразу (p31/33).

**6 регуляторных гена** кодируют синтез 6 регуляторных белков, регулирующих деятельность структурных генов. ВИЧ-1 и ВИЧ-2 имеют общие гены *tat*, *nef*, *rev*, *vif*, *vpr*. ВИЧ-1 имеет дополнительно ген *vpr*, а ВИЧ-2- ген *vpx*.

- *tat-протеин* – трансактиватор транскрипции - увеличивает скорость транскрипции структурных и регуляторных белков в десятки раз.

- *nef* (*негативный регулятор*) – замедляет транскрипцию вирусных генов. Создает состояние равновесия между вирусом и организмом.

- *vpr*- их функция направлена на снижение экспрессии клеточных CD4 - рецепторов в инфицированной клетке.

- *rev*- протеин (регулятор экспрессии вирусных белков) - обеспечивает транспорт вирусной РНК из ядра клетки в цитоплазму, где с неё транслируются *pol*, *env*, *gag*- протеины. При отсутствии гена *rev* структурные белки не образуются. Активирует синтез структурных белков, замедляет синтез регуляторных.

- *vpr*, *vpr*- отвечают за регуляцию репродукции вируса.

- *vif* (фактор инфекционности) - кодирует синтез белка, повышающего способность зрелого вируса заражать клетку, т.е. инфекционность вирионов.

Гены *tat*, *nef*, *rev* не входят в состав вириона, но являются первыми вирусными частицами, которые синтезируются при репликации вируса.

### **Изменчивость.**

ВИЧ-1 в зависимости от строения гена *env* имеет субтипы (клайды) А, В, С, Д, Е, F, G, H, J и др. Субтипы А-Н составляют группу М (major), доминирующую на сегодняшний день, половина из этой группы приходится на субтип С; в США- субтип В. С 1990 г. идет рост субтипа Е, наиболее агрессивного (Азия, Африка).

Отмечается высокая **генетическая изменчивость ВИЧ**: в 30-100, по некоторым данным в миллионы раз выше, чем у вируса гриппа А. Частота генетических ошибок при репликации  $10^{-4}$  –  $10^{-5}$  ошибок /на ген/на цикл репликации. Ни один ВИЧ, содержащий 10

<sup>4</sup> нуклеотидов в длину, не производит при репликации вирион, в точности повторяющий родительский.

- высокая изменчивость связана с продукцией гена *env-gp120*, особенно участок, образующий петлеобразный домен (V3 – петля), к которому вырабатывается 80-90% всех нейтрализующих антител.

- Мутации в гене *pol* обеспечивает у ВИЧ формирование резистентности к ингибиторам обратной транскриптазы.

**Фенотипические различия:** высоко- и низкоинфекционные.

По ЦПД различают:

- низко реплицирующиеся, не образуют синцитий (НСО).

- высоко реплицирующиеся, не образующие синцитий (НСО).

- высоко реплицирующиеся, образующие синцитий (СО).

Мутации в гене *env* определяют переход изолятов НСО в СО. Проявляется при снижении СД-4 – клеток до 400-500 в 1 мкл.

### **Жизненный цикл вируса.**

В организме вирус атакует клетки, имеющие рецептор СД4 (Т-хелперы, макрофаги и моноциты). Высокая плотность СД4 на поверхности Т-хелперов определяет их преимущественное поражение.

**1. Взаимодействие вирусного белка *gp120* с клеточным рецептором СД4.** Образующийся комплекс через эпитопы *gp120* взаимодействует с хемокиновым рецептором на клеточной мембране.

**2. Изменяется конформация *gp120*;** гидрофобная часть *gp41* оказывается открытой и взаимодействует с мембраной клетки (слияние).

**3. Проникновение сердцевины вируса в клетку** путем эндоцитоза или через ЦПМ.

**4. Белок *gp41* также определяет слияние мембран соседних инфицированных клеток** с образованием многоядерной синцитиальной клетки с продолжительностью жизни 3-5 дней.

**5. В цитоплазме вирусная РНК** переписывается на (-) нить ДНК с помощью обратной транскриптазы. РНК разрушается РНК-азой Н, а на (-) нити ДНК достраивается (+) нить, на концах образуется LTR. ДНК провируса проникает в клеточное ядро и при помощи интегразы, которая разрезает ДНК клетки-хозяина, встраивается в хромосому. Часть вирусной ДНК сохраняется в неинтегрированном состоянии – функционирует как репликон. Вирус находится в неактивном состоянии, пока данный Т-лимфоцит не будет

атакован микробными АГ и др. иммунокомпетентными клетками. Это ВИЧ- носительство.

**6. После активации пораженной клетки** происходит образование РНК - транскрипта на матрице провирусной ДНК при участии клеточной ДНК-зависимой РНК полимеразы. Молекулы РНК переносятся в цитоплазму и служат фондом для формирования зрелых вирионов, а также матрицами для синтеза на рибосомах вирусных протеинов и энзимов (*gag, pol*) – предшественников p55. Транслированный *env*-белок - предшественник (*gp160*) гликозилируется в эндоплазматическом ретикулеуме, аппарате Гольджи и расщепляется клеточной протеазой на 2 молекулы: *gp120* *gp 41*. Ядерный фактор вызывает транскрипцию клеточной ДНК и ДНК- провируса.

**7. Сборка вирусных частиц** происходит на внутренней стороне клеточной мембраны. При формировании вируса в него втягиваются 2 цепи РНК. Вирион отпочковывается от клетки, захватывает участки мембраны клетки- хозяина, в т.ч. АГ МНС.

**8. Морфогенез заканчивается цитопатическим действием:**

- деструкция и цитолиз инфицированной клетки.
- образование синцития - слияние инфицированной и неинфицированной клеток.
- хроническая инфекция без цитолиза.
- действие отдельных белков ВИЧ: *gp120* во внеклеточной среде связывается с CD4 неинфицированных клеток, что приводит к инактивации Т-лимфоцитов.

## **Патогенез.**

**1.** Наружная мембрана клетки покрыта рецепторами и АГ, необходимыми, чтобы иммунная система не спутала её с чужой клеткой (раковой, инфицированной вирусом) и не уничтожила. Один из таких АГ – CD4, т.е. Т-хелперы распознают АГ микробов и вирусов. Сам антиген CD4 является рецептором для ВИЧ.

**2.** Дополнительный рецептор- рецептор одного их хемокинов - CCR 5, который в комплексе с рецептором CD4 определяет проникновение вируса в Т-хелпер. У некоторых людей имеются мутации в синтезе хемокина CCR 5, когда синтезируется нефункционирующий рецептор, что препятствует проникновению ВИЧ из крови в клетку. При этом, иммунная система этих людей функционирует нормально. Эксперимент- культура ВИЧ, введенная в кровотоки и не способная проникнуть в клетку, погибает через 15

минут. 10,4% людей имеют мутацию гена рецептора хемокина CCR 5: финно - угорские народы Западной Сибири, удмурды, башкиры, мордвы. Этой мутации нет у негроидной расы, редко встречается у афроамериканцев.

**3.** Невосприимчивость к ВИЧ - наличие АТ, модифицирующих рецептор CCR 5 - клетки макроорганизма не доступны для внедрения ВИЧ. Лежит в разработке препаратов и вакцин против ВИЧ- инфекции.

**4.** Репродукция вируса повышается в активированных CD4-клетках. Активаторы: ФНО, IL-6, фактор, стимулирующий колонии гранулоцитов. Негативные регуляторы: ИФ, трансформирующий фактор роста.

**5.** У больных ВИЧ идет снижение Т-хелпер-1, что угнетает клеточный иммунитет, т.е. обеспечивается вирусная патология, онкогенез.

**6.** Поражаются CD4-клетки - лимфоциты, моноциты, макрофаги, дендритные клетки крови, л/у, селезенки, кожи, альвеолярных и интерстициальных макрофагов легких, микроглии, клетки н.с., имеющие CD-рецептор, О и В- лимфоциты, ретикулярные клетки, клетки Лангерганса. Последние инфицируются легче, вирус в них сохраняется годами.

Инкубационный период (серонегативный, латентный) - до 3 мес. и более.

### **Стадии болезни:**

- *1 стадия* – репродукция вируса - серопозитивная –от 6 до 12 мес.

- *2 стадия* - гиперреактивности гуморального иммунитета- 3-5 лет.

- *3 стадия* – компенсированный иммунодефицит (Т-лимфоцитов не менее 400 в 1 мкл; Т4 :Т8 не менее 0.6.

- *4 стадия* – угнетение клеточного иммунитета и начало декомпенсации гуморального с угасанием 3 из 4 аллергических реакции.

- *5 стадия*- отсутствие РГЗТ + оппортунистическая инфекция.

- *6 стадия* - терминальная- глубокие нарушения гуморального и клеточного иммунитета + генерализованная оппортунистическая инфекция.

1-4 стадии - «преСПИД».

5-6 стадии - «СПИД».

**Методы культивирования.** Только в клетках одного клона CD4-

лимфоцитов - штамм Н-9. Можно выращивать в монослое астроцитов. Из животных чувствительны только шимпанзе.

**Резистентность** к внешним факторам небольшая: УФ, солнечные лучи, 80С инактивируют вирус в течении 30 минут, дезсредства- 20-30 минут.

### **Эпидемиология.**

**Источник инфекции** - больной, вирусоноситель. В больших концентрациях содержится в сперме, крови, цервикальной жидкости, грудном молоке.

**Путь передачи:** половой, вертикальный, парентеральный. Через пищу, укусы насекомых, воду - данные не подтвердились.

Болезнь 4 «Н»: гомосексуалисты, гемофилики, гаитяне, героин. Больные в первые 3 мес. после инфицирования (сероконверсия) в 50-200 раз опаснее при половом пути передачи, чем после появления АТ в крови. 80-90% детей инфицированы:

- во время беременности;
- при родах;
- при вскармливании грудным молоком;
- ятрогенным путем.

У 70% ВИЧ - позитивных матерей вирус выделялся в молоке сразу после родов, и в 53% - через год.

### **Лечение.**

**1. Блокада лиганд вируса gp120 и gp41 антилигандами.** Используют мышинные моноклональные АТ, вырабатывающиеся против петли V3 вирусного белка gp120, к которым подшиты части человеческих АТ.

**2. Создание препаратов, имитирующих рецептор СД4.** «Молекулярная химера»- растворимый рецептор СД4, соединенный с хвостовым участком человеческого АТ, для удлинения его жизни. Соединяется с gp120, вирус теряет способность проникать в клетку.

**3. Блокада ферментных систем, обеспечивающих репликацию вируса:**

- а) ингибиторы протеаз, ответственных за раздевание вируса проникшего в цитоплазму.
- б) ингибиторы обратной транскриптазы, обеспечивающей транскрипцию РНК вируса в ДНК.
- в) ингибиторы интегразы, обеспечивающей объединение ДНК

вируса с ДНК клетки.

г) ингибиторы РНК-азы Н, отвечающей за деградацию нитей РНК вириона.

В настоящее время применяются а и б.

4. Ингибиторы регуляторных генов *tat*, *rev* (транскрипция, трансляция, расщепление вирусных белков).

5. Ингибиторы гликозилирования вирусных белков.

*Азидотимидин (АЗТ, ретровир)* - ингибитор обратной транскриптазы. По строению близок к нуклеотиду тимидину, входящему в состав ДНК. В клетке АЗТ подвергается фосфорилированию с образованием азидотимидинтрифосфат. Обратная транскриптаза ошибочно связывает АЗТтрифосфат в растущую цепь вирусной ДНК вместо тимидинтрифосфата. Присоединение следующего нуклеотида невозможно, т.к. в молекуле АЗТ нет гидроксильной группы для связи со следующим нуклеотидом. Синтез ДНК прекращается. Терапия предусматривает пожизненный пероральный прием препарата по 100 мг. через каждые 5 часов. Недостаток - формирование устойчивых штаммов при применении более 6 месяцев.

### **Профилактика.**

- субъединичная вакцина gp120 (Vax Gen);
- рекомбинантная - в качестве вектора используется поксвирус птиц;
- живые ослабленные векторные вакцины;
- убитые;
- пептидные;
- ДНК- вакцины;

### **Клиника.**

*Главные признаки:* - похудание на 10% в течение 2 мес.;

- длительная, необъяснимая лихорадка;
- хроническая диарея;

*Второстепенные:* - упорный кашель;

- генерализованный дерматит;
- рецидивирующий опоясывающий герпес;
- кандидоз;
- простой герпес;
- генерализованная лимфоаденопатия.

## **Диагностика**

1. ИФА - определение АГ Ig M, Ig G в крови.
2. Иммуноблотинг - идентификация АГ к отдельным структурным белкам ВИЧ после их электрофореза с помощью меченных антиглобулиновых АТ.
3. ИФА - обнаружение АГ: р25-тест, р24 (для ВИЧ-1).
4. ИФА 4-го поколения: КомбиБест ВИЧ 1,2 АГ/АТ - выявление АГ р24 ВИЧ-1 и суммарных АТ (М и G) к ВИЧ 1,2. Определяют низкие концентрации р24 (20 пикограммов в 1мл), т. е. до появления АТ.
5. ПЦР. Только этот метод позволяет определить возбудитель в виде ДНК - провируса в клетке.
6. Клиническая: количество Тх-4 в норме 800-1200 в 1 мл. Соотношение Тх-4 к Тх-8 равно 1.2 : 1.8. При ВИЧ Тх-4 - 200 кл. / мл.

## **Лекция № 19. Герпесвирусы**

Сем. Herpesviridae (греч. herpes- ползучий).

### **Классификация (старая).**

Подсемейства:

#### 1. Alphaherpesvirinae

- род Simplexvirus- ВПГ (вирус простого герпеса) 1 и 2 типов;
- род Varicellavirus- в. ветряной оспы – опоясывающего лишая

#### 2. Bethaherpesvirinae

- род Cytomegalovirus – ЦМВ – цитомегаловирус.

#### 3. Gammaherpesvirinae

- вирус Эпштейна – Бара.

### **Современная классификация.**

## **HSV I-II (ВПГ I-II типа).**

### ***Морфология.***

- диаметр вириона 150-210 нм;
- геном – двухнитевая линейная ДНК, м.м. 92-102 МД;
- капсид – форма икосаэдра, диаметр 100 нм, содержит 162 капсомера;
- между капсидом и суперкапсидом имеется белковый слой (тегумент);
- суперкапсид имеет шиповидные выросты. Отвечают за инфекционность, специфичность, являются индукторами нейтрализующих антител.

### ***Жизненный цикл.***

- проникновение в клетку за счет слияния мембран или рецепторопосредованного эндоцитоза;
- вирусная ДНК реплицируется и транскрибируется в ядре;
- вирусные белки транслируются на рибосомах;
- белки капсида поступают в ядро клетки, где формируется нуклеокапсид; белки суперкапсида поступают в ядерную мембрану и гликозилируются;
- сборка и созревание вируса происходит на внутренней поверхности ядерной мембраны;
- вирионы отпочковываются и накапливаются между внешним и внутренним слоями ядерной мембраны, в зернах эндоплазматического ретикулума- т.е. защищены от цитоплазмы;
- действие на клетку:
  - 1) цитолитическое;
  - 2) наделяют клетку антигенными свойствами - мишень для Т-киллеров.

### ***Клиника:***

*ВПГ I типа* инфицировано 70-90% людей.

- бессимптомная;
- афтозный стоматит (у первично инфицированных);
- герпетическая экзема;
- кератоконъюнктивит, ведет к слепоте;
- менингоэнцефалит;
- губной герпес (орофасциальный, лабиалис)- на границе кожи слизистой губ появляются пузырьки, заживают без рубцов.
- внутриутробная инфекция;
- раневой герпес.

*ВПГ 2 типа* инфицировано 15-50% людей.

- генитальный герпес (пузырьково- язвенные высыпания на коже и слизистых половых органов), частые рецидивы;
- герпес новорожденных;
- внутриутробная инфекция.

### ***Патогенез ВПГ.***

Первичная репродукция вируса происходит в эпителии слизистой оболочки рта, глотки, половых органов, где происходит их первичная репликация. Дальнейшее распространение – по чувствительным нервам, лимфо – кровеносным сосудам. При проникновении в кровь - генерализованная инфекция, у новорожденных - некрозы и инфильтраты во внутренних органах, *letalis*. При прохождении ГЭБ вызывает менингит и энцефалит.

После перенесенной инфекции длительно сохраняется в мозговой ткани, эпителиальных клетках, ганглиях нервов в виде кольцевых форм ДНК – это вирусоносительство с частыми рецидивами (латентная форма персистенции). Активаторы: солнечная радиация, лихорадка, стресс, пища, снижение иммунитета и т.д. из нервных ганглиев *НV* достигают нервных окончаний, проникают в эндотелий капилляров кожи и эпителиальные клетки. В них происходит репродукция вируса, образование везикулопапул с большим количеством вирионов

### ***Культивирование.***

- на хорион-аллантаической оболочке К.Э.- через 2-3 суток образуются белые бляшки, видимые визуально. Микроскопически – гигантские клетки с внутриядерными включениями;
- на культурах клеток (особенно почек кролика) – ЦПД.

### ***Эпидемиология.***

- *ВПГ 1 типа*. Инфицирование в раннем возрасте, после исчезновения материнских антител. Проявление – везикулярный или афтозный стоматит. Путь передачи – контактно- бытовой (слюна, посуда), воздушно-капельный. Вирус остается в организме. Возможно трансплацентарное инфицирование плода.

- *ВПГ 2 типа*. Путь передачи – половой и при прохождении родовых путей. И.и. только человек.

### *Иммунитет.*

Гуморальный, опосредован вируснейтрализующими антителами, в т.ч. Ig As, но они не препятствуют персистенции вируса и развитию латентной инфекции. Наибольшая восприимчивость к вирусу у детей от 6 мес до 2 лет.

***Специфическая профилактика*** отсутствует.

***Лечение.*** Убитая культуральная герпетическая вакцина - при частых рецидивах во время ремиссии.

### ***Лабораторная диагностика.***

1. Микроскопический.

- При специальном методе окраски в ядре клеток отмечается характерные внутриядерные включения (окраска Р-Г);

- РИФ (прямой и непрямой метод) с использованием моноклональных антител;

2. Вирусологический. Заражают К.К. и К.Э.

- ЦПД (образование клеточного синцития и бляшек).  
Типирование по РН ЦПД с антисыворотками.

3. Серологический

- обнаружение антител класса Ig M и G в сыворотке крови в реакции ИФА.

4. ПЦР. Выделение н.к. вируса непосредственно из материала от больного.

### **НУ III типа – вирус ветряной оспы и опоясывающего лишая.**

Инфицирование составляет 100%.

*У детей – ветряная оспа (Varicella Zoster)* - везикулярная сыпь на коже и слизистых. Это первичное инфицирование человека. Путь передачи – воздушно-капельный, и.и. – больной, вирусоноситель. И.п. 14-21 день. VZ размножается в эпителии слизистых ВДП, лимфогенным путем попадает в кровь, затем в кожу. Начало: недомогание, высокая Т°, сыпь на лице, затем на теле и конечностях. Инфицирование в 1 триместр беременности вызывает тератогенное действие.

*У взрослых – опоясывающий лишай (Herpes Zoster)* - воспалительная реакция в задних корешках спинного мозга и ганглиях. Высыпания на коже, сильная боль, зуд, жжение по ходу пораженного межреберного нерва. Это рецидив латентной

инфекции VZ при снижении иммунитета.

### ***Иммунитет.***

Пассивный естественный (материнские АТ, в т.ч. через молоко). При циклической инфекции – стойкий пожизненный, при ациклической - нет освобождения организма от вируса.

### ***Лабораторная диагностика.***

1. вирусологический метод. Заражение фибробластных клеток амниона человека. Не размножается на К.Э.и в организме животных.
2. электронная микроскопия
3. ИФА
4. ПЦР

### ***Специфическая профилактика и лечение.***

1. Человеческий гамма- глобулин из сыворотки выздоравливающих опоясывающим лишаем. Защищает серогенативных лиц. Применяют для профилактики ветряной оспы контактными детям с иммунодефицитами, группам риска (новорожденные, беременные).
2. живая аттенуированная вакцина Varicella Zoster. Вакцинируют всех детей и взрослых, не болевших ветряной оспой.

### ***НВ IV типа.***

- инфекционный мононуклеоз;
- ворсистая лейкоплакия языка;
- назофагингиальная карцинома.

***НВ V типа – цитомегаловирус (ЦМВ).*** Антитела выявляются у 100% взрослых лиц. Вирус обнаруживают в слюнных железах, почках, цервикальном секрете, сперме, материнском молоке. Размножается в эпителиальных клетках внутренних органов.

### ***Путь передачи:***

- перкутанный - половой, парентеральный, контактно-бытовой, алиментарный, при прохождении через родовые пути;
- аэрогенный;
- наследственный (трансплацентарный).

***Патогенез.*** Первоначальная репликация вируса происходит в слюнных железах (↑тропность), эпителии слизистых, кожи. Лимфогенным путем заносится в кровь и внутренние органы, где происходит его размножение. Развивается персистенция ЦМВ латентного типа.

### ***Клиника.***

- первичная инфекция – субклиническая;
- вызывает генерализованную инфекцию новорожденных (ВУИ);
- гепатиты, интерстициальная пневмония, гемолитическая анемия;
- развивается при приеме иммунодепрессантов (при трансплантации органов).

**Иммунитет** нестерильный, гуморальный.

**Лабораторная диагностика:**

- вирусологический;
- ИФА по выявлению антител Ig M и G;
- ПЦР;

**НV VI типа.**

- внезапная экзантема у детей;
- синдром хронической усталости;
- лимфогрануломатоз;
- злокачественная  $\beta$ - клеточная лимфома;
- саркоидоз.

**НV VII- VIII типов.**

- атеросклероз;
- саркома Капоши.

**Особенность НV:** канцерогенность:

- прямое действие – включение генома вируса в геном клетки – хозяина. Наличие онкогена детерминирует синтез злокачественных белков;
- не прямое действие – вирусный геном встраивается рядом с клеточным онкогеном. Переводит его и репрессибельного состояния в активное, происходит синтез онкобелков.

## **Лекция № 20. Арбовирусы**

**Арбовирусы (А)** – особая экологическая группа вирусов, которая передается чувствительным позвоночным, в т.ч. человеку, через укусы кровососущих членистоногих.

Участие переносчиков определяется:

- сезонностью, связанной с жизненным циклом;
- эндемичностью (в ареоле обитания данного переносчика).

У членистоногих инфекция протекает как летально, так и бессимптомно, передача вируса осуществляется трансвариально.

Особенность **А.** - способность реплицироваться и при температуре тела теплокровных позвоночных и при низких  $T^{\circ}$  окружающей среды.

Заболевания стойки в данной местности.

**А.** - понятие собирательное, насчитываю около 400 вирусов, для человека патогенны – 100. Очаги **А.** распространены во всем мире, но чаще встречаются в тропических дождевых лесных зонах (обилие видов животных и членистоногих). В России около 10 **А.**

***Заболевание протекает в виде 3 клинических синдромов:***

- лихорадки недефференцированного типа (денгеподобная), с наличием мелкопятнистой сыпи и без неё. Протекает легко.
- энцефалиты, иногда с летальным исходом.
- геморрагические лихорадки, часто с тяжелым течением и летальным исходом.

Один и тот же возбудитель может вызвать разные клинические синдромы.

**Семейства, входящие в **А.****

- сем. Тогавирусы. Включает 3 рода:
  - альфа - вирусы (в. Синдбис);
  - рубивирус (коровая краснуха) - не **А.**;
  - пестивирусы (чума животных) - не **А.**;
- сем Флавивирусы (типовой представитель- вирус желтой лихорадки);
- сем. Буньявирусы;
- сем. Аренавирусы;
- сем. Реовирусы;
- сем. Рабдовирусы.

Все альфа - и флавивирусы являются полихозяинными, циркулируют в природе между позвоночными и членистоногими.

Все альфавирусы экологически связаны с комарами, флавивирусы связаны с комарами и клещами, часть из них выделяется только из позвоночных.

**Альфавирусы**

**-геном** - 1-нитевая позитивная линейная РНК. М.М.-4,2МД. Вирион сферической формы, диаметр- 60-80 нм. Капсид из 240 молекул С - белка. Тип симметрии кубический – дельтаикосаэдр (20 граней). Имеется суперкапсид (бислой липидов), в который встроены от 200 до 300 шипов, длиной 10 нм., состоящих из гр E1 и E2, иногда и E3;

**- антигены:**

- гр E2 видоспецифический, определяет инфекционность;
  - группоспецифический гр E1- имеет свойства гемагглютинина;
  - родоспецифический нуклеокапсидный белок С;
- Белки суперкапсида взаимодействуют с С-белком капсида.

Альфовирусы делят на 3 антигенные группы:

- западный энцефаломиелит лошадей (в т.ч. вирус Синдбис);
- восточный энцефаломиелит лошадей;
- вирус леса Семлике.

### ***Жизненный цикл вирусов.***

- адсорбция вируса шипами гр E2 на рецепторах клетки – «окаймленная ямка» - «окаймленный пузырек» -лизосома- выход в цитоплазму;
- на рибосомах синтезируется комплементарная негативная нить РНК, а на ней синтезируется много копий РНК 2-х размеров: вирионная 42S РНК (идет на сборку новых нуклеокапсидов), матричная РНК 26S - направляет синтез 4 структурных белков - капсидного С-белка и оболочечных гр E1, E2, E3, подвергающихся каскадному расщеплению;
- белок капсида синтезируется на свободных, а белки оболочки – на мембраносвязанных рибосомах;
- капсидный белок связывается с копиями геномной РНК, образуются нуклеокапсиды;
- оболочечные белки гликозилируются в эндоплазматической сети и в комплексе Гольджи и переносятся в ЦПМ, проходя через неё, обвешиваются белками и липидами клетки- хозяина. Нуклеокапсид, окруженный суперкапсидом, отпочковывается от клетки.

### **Флавивирусы**

- 1-нитевая линейная позитивная РНК, м.м-4,6 МД;
- диаметр сферических вирионов 40-50 нм;
- шипы из 2 белков, только Gr E1 гликозилирован и имеет гемагглютинирующую активность;
- жизненный цикл как у альфовирусов, но репликация вирионной РНК происходит на ядерной оболочке.

***Альфа- и флавивирусы хорошо размножаются*** в желточном мешке, аллантаической полости и фибробластах куриного эмбриона, культурах клеток почек обезьян VERO, вызывая очаговую мелкозернистую

дегенерацию, при внутримозговом заражении мышьяк-сосунков. У чувствительных животных вирус размножается в миелоидной, лимфоидной ткани или в эндотелии сосудов. ЦНС поражают при способности прохождении ГЭБ и инфицированы нервные клетки.

**По АГ свойствам** (по РПГА) **флавивирусы** делят на 4 подгруппы:

- клещевого энцефалита
- японского энцефалита
- желтой лихорадки
- лихорадки денге

### **Патогенез и клиника.**

После укуса клеща вирус попадает в кровь, размножается в эндотелии сосудов и клетках РЭС лимфоузлов, печени, селезенки. Через 4-7 дней вирус выходит в кровь- лихорадка, миалгия, суставные боли, мелкоочечная сыпь, увеличение л/у. Осложнение - тромбогеморрагический синдром (ДВС - синдром)- кишечные, желудочные, маточные кровотечения. При прохождении через ГЭБ - параличи, поражении продолговатого мозга - смерть.

### **Клещевой весенне - летний энцефалит**

В России - от Приморья до западных границ, в местах обитания иксодовых клещей. Выделен экспедицией Зильбера Л.А.: в течение 3-х месяцев изучен вирус, эпидемиология, клиника, разработана вакцина, спец. профилактика и неспецифическое лечение заболевания.

**Переносчики** 2 вида иксодовых клещей:

- восточный тип вируса К.Э. (*Ixodes persulcatus*). Более вирулентны.
- западный тип вируса К.Э. (*Ixodes ricinus*)- собачий клещ. В СНГ.

Степень гомологии РНК у 2 вариантов -86-90%.

**Заражение:**

- 80 %- трансмиссивный путь (укус клещей);
- 20 %- алиментарный (сырое козье, коровье, овечье молоко).

**И.п.** - 30 дн. (7-12дн) от момента присасывания клеща.

**Клиника:** острое начало- озноб, сильная головная боль, Т-39С. 3 формы:

- лихорадочная- 30-50 %, исход благоприятный.
- менингеальная-40-60 %. Астенизация у 40% переболевших.
- очаговая- 8-15 % -менингеальные симптомы и очаговые поражения н.с.

Высокая летальность, стойкие осложнения.

### **Диагностика.**

1. вирусологический метод- заражение культур клеток и куриных

эмбрионов. Материал- кровь, ликвор, моча, носоглоточные смывы, испражнения, секционный материал. Типирование вируса - в РН на мышцах (заражение в головной мозг мышей- сосунков), культурах клеток.

2. серологический - РСК, РТГА, ИФА, РН.

**Лечение** – симптоматическое.

**Профилактика.**

1. Вакцина клещевого энцефалита культуральная сорбированная инактивированная - взвесь вируса К.Э., выращенная на курином эмбрионе, инактивированная формалином. Для профилактики и вакцинации доноров для получения спец. иммуноглобулина.

2. Вакцина клещевого энцефалита культуральная очищенная концентрированная инактивированная - взвесь вируса К.Э.штамм «Софьин» или «205» инактивированная формалином.

3. Ig человеческий против К.Э.- Ig, выделенные спиртовым методом из сыворотки человеческой донорской крови. Для лечения и экстренной профилактики лицам, укушенных клещом.

4. Ig против К.Э. из сыворотки крови лошадей. Для профилактики в случае присасывания клеща.

### **Японский энцефалит (Я.Э.).**

Передается комарами рода *Culex*. Распространено в Восточной Азии. Япония- заболеваемость- 250 на 100.000 населения.

В природе вирус сохраняется у членистоногих, птиц, летучих мышей. Заболевание в летнее - осенний период. Заболевание тяжелое - 80% letalis.

**Клиника.**

И.п.- 4-14 дней, Т 39С, сильные мышечные боли, потеря сознания, кома, психические расстройства, смерть в течение нескольких часов.

**Диагностика** как при К.Э.

**Профилактика.**

1. Культуральная вакцина против японского энцефалита (штамм Пекин-1).

2. Ig против японского энцефалита из сыворотки лошадей, иммунизированных вирусом Я. Э. - для экстренной профилактики и лечения.

### **Желтая лихорадка.**

Острое тяжелое инфекционное заболевание, характеризующейся сильной интоксикацией, двухволновой лихорадкой, геморрагическим

синдромом, поражением печени и почек.

Из-за высокой летальности (40-90 %) и тяжелого течения относятся в группу ООИ (конвенционных).

*Природные очаги:* тропический пояс Центральной и Западной Африки, Южной и Центральной Америки.

*Эпидемиологически различают 2 варианта:*

- желтая лихорадка джунглей. Резервуар - приматы, заражение через укусы комаров (в Америке - гемогнус, в Африке - аедес). Зоонозная инфекция. Человек - случайный хозяин. Среди приматов эпизоотии бывают 1 раз в 4 года - вся популяция погибает или приобретает иммунитет;

- городская желтая лихорадка. Источник инфекции - больной человек. Переносчик - самка комара *Aedes aegypti*. При 18 °С вирус в организме комара не размножается - нужна высокая влажность и жара.

***Патогенез и клиника.***

- заражение;

- вирус лимфогенным путем в л/у, где размножается;

- вирусемия (5 дней);

- пантропность - проникает во все органы и системы, особенно поражаются эндотелий капилляров, нарушается система свертываемости крови, развивается геморрагический диатез, печеночно-почечная недостаточность..

- формирование иммунитета и выздоровление.

Letalis при тяжелой форме - 90 %.

***Иммунитет*** - постинфекционный, стойкий, пожизненный, обусловлен антителами и клетками иммунной памяти.

***Диагностика.***

- вирусологический - заражение кровью больных куриных эмбрионов и культур клеток. Типируют в РН.

- биологическая проба - внутримозговое заражение мышьяк-сосунков.

- серологический - исследуют парные сыворотки в РСК, РТГА, РН.

***Профилактика.***

- живая вакцина штамм «17Д», выращенная на К.Э. Иммунизируют с 1 года, однократно. Напряженный иммунитет продолжительностью 10-15 лет развивается через 10 сут. после прививки.

## **Омская геморрагическая лихорадка**

Эндемическое заболевание.

### ***Передается:***

- через укусы клещей рода *Dermacentor*;
- прямой или косвенный контакт с ондатрами и водяными крысами.

***Очаги*** – только в некоторых лесо - степных районах Омской и Новосибирской областей.

***Сезонность*** – май- июль, сентябрь – октябрь.

***Клиника*** - острое начало,  $T^{\circ} 40\text{ C}$ , озноб, геморрагические симптомы: мелкоточечная сыпь, кровотечения. Характерны бронхит и пневмония. Лихорадка длится 5-15 сут, наступает выздоровление, на фоне которого 2-я волна лихорадки.

***Иммунитет*** (для альфа - и флавивирусов) продолжительный, иногда пожизненный. Первыми (на 6-7 день) появляются антигемагглютинины, к концу 2 нед – комплементсвязывающие, на 3-4 нед - вируснейтрализующие антитела Ig M, затем Ig G. При клещевом энцефалите Ig M обнаруживаются на 3-6 нед. заболевания.

## **Буньявирусы**

Крупное семейство по числу входящих вирусов - более 250.

4 рода:

- буньявирус - передача комарами, мокрецами, клещами;
- флебовирус - передача москитами;
- уукувирус - иксодовыми клещами;
- найробивирус - иксодовыми клещами.

### ***Строение.***

- 1- нитевая, негативная фрагментированная РНК (3 фрагмента), м.м. 6,8 МД.
- вирион сферической формы, диаметр 90-100 нм.
- имеется суперкапсид с шипами из 2 гр, расположенных решеткой.
- размножаются в цитоплазме клетки, созревают отпочковыванием.
- обладают гемагглютинирующими свойствами.

***Культивируют*** в К.Э. , культурах клеток и на мышах - сосунках.

### ***Заболевания:***

1. москитная лихорадка (паппатачи). Переносчик - комар *Phlebotomus papatasi*. Начало острое, все больные выздоравливают.
2. калифорнийский энцефалит. Переносчик – комар р. Аедес. Сильная головная боль,  $T 40^{\circ}\text{C}$ , судороги, признаки асептического менингита. letalis- редко.
3. Крымско - Конго геморрагическая лихорадка (КГЛ). Переносчик -

клещи р. *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*. Выделен Чумаковым в Крыму в 1944 г. Начало острое, нарастающая вирусемия: кровоизлияния, тяжелый токсикоз, инфекционно - токсический шок с развитием ДВС - синдрома. *letalis*- 12 %.

### **Аренавирусы**

Структура - в электронном микроскопе: песчинки- это рибосомы, выхваченные из клетки - хозяина при созревании вируса.

**4 тяжелых заболевания**, протекающих с геморрагическим синдромом:

- *лимфоцитарный хориоменингит*. Зооантропоноз. Основной хозяин - серая домовая мышь. Заражение человека аэрозольным, алиментарным путем, через укусы гамазовых клещей.

- *лихорадка Ласса*. Эндемичная инфекция. Основной резервуар - многососковая крыса, вирус выделяется с мочой. Человек заражается аэрогенным, алиментарным, через поврежденную кожу от животных и контактным путем от человека. Высокая проникающая способность вируса, работают в противочумных костюмах. Поражение внутренних органов- кровотечения, выпоты в брюшную, плевральную полости, перикард. . *letalis*- 43%, в период эпидемий- 60%.

- *болливийская геморрагическая лихорадка (Мачупо)*.

- *аргентинская геморрагическая лихорадка (Хунин)*.

**Иммунитет** - антитела появляются на 2-3 нед заболевания, в период выздоровления.

### **Диагностика.**

- вирусологический метод - клетки VERO, амниона человека

- биологический - белые мыши, морские свинки, обезьяны.

- серологический - непрямая РИФ, РСК, РПГА.

**Лечение лихорадки Ласса** - применение гипериммунной сыворотки переболевших (осторожно, т.к. длительная вирусемия) или иммунизированных.

**Профилактика лихорадки Ласса** - живая аттенуированная вакцина.

### **Реовирусы.**

Род- орбивирус. Вызывают:

1. колорадскую клещевую лихорадку. Регистрируется на Тихоокеанском побережье США. Исход благоприятный. Иммунитет длительный, гуморальный.

2. вирусы группы Кемерово.

Переносчики: комары р. Аедес, мокрецы, клещи.

Вирус имеет сферическую форму, диаметр 60-80 нм. Геном- 2-нитевая

РНК, из 10 фрагментов. Имеется вирионная транскриптаза. Двухслойный капсид из 32 капсомеров. Суперкапсида нет.

### **ГЛПС.**

Принадлежность к семейству и роду не установлена. Вирус сферической формы, диаметр 50 нм.

**Источник инфекции** - мышевидные грызуны, гамазовые клещи. От грызунов вирус выделяется с мочой и испражнениями.

**Заражение человека** – пылевым, алиментарным путем. Трансмиссивный путь не установлен. От человека не передается.

**Патогенез** – вирус циркулирует в крови 5-7 дн., поражает стенки капилляров и венул, особенно мозгового слоя почек. Размножается в клетках почек, селезенки, легких, эндотелии сосудов.

**Клиника.** И.п.- 11-23 дня. Острое начало: Т 39-40° С, мышечные, головные боли, менингеальные симптомы. С 3-5 дня - геморрагическая сыпь, анурия. Функция почек восстанавливается через 3 мес., в хроническую форму не переходит.

**Иммунитет** – длительный, стойкий, обусловлен вируснейтрализующими АТ, клетками иммунной памяти.

**Диагностика** - выявления АГ, АТ - непрямая РИФ, ИФА.

**Лечение** – серотерапия.

### **Лихорадка Марбурга и Эбола**

Инфекция завезена с обезьян. Регистрируется на юге Сомали и Судана. Большая вспышка с летальность 91%. Российские медики получили вакцину. Вирион - РНК-содержащий - 400-500 нм в длину. Лечение- серотерапия.

### **Бешенство**

**Семейство *Rabdoviridae*** включает более 60 вирусов.

Выделяют 2 рода, патогенных для человека:

- *Visicovirus*- в. везикулярного стоматита.

- *Lyssavirus* – возбудитель бешенства (рабдовирус, водобоязнь).

Размножаются в клетках членистоногих и млекопитающих - арбовирусы.

### ***Строение.***

- пулевидная форма, спиральная симметрия нуклеокапсида;
- имеется суперкапсид – бислоем липидов с поверхностными gp G и негликозилированными белками p M1 и M2;
- геном - негативная нефрагментированная РНК;
- сердцевина симметрично закручена внутри оболочки по продольной оси частицы;
- нуклеокапсид дополняют копии протеина сердцевины NP и несколько копий вирусной транскриптазы;
- репликация в цитоплазме.

### ***Антигенная структура.***

Имеет один антигенный вариант. Различают:

1. «*фиксированный*» вирус - подвергнут многократному пассированию на лабораторных животных и не способен поражать периферические нервы.
2. «*уличный*» вирус - вызывает заболевание.

- нейтрализующее действие на возбудитель оказывают АТ к поверхностным гликопротеиновым АГ.
- комплементсвязывающие АТ к АГ нуклеокапсида не оказывают протективного действия.

### ***Патогенез.***

- вирус проникает через поврежденную кожу (при укусах больных животных).
- первичная репликация вируса происходит в мышечной и соединительной тканях, где он персистирует в течение недель и месяцев.
- мигрирует по аксонам периферических нервов в базальные ганглии и ЦНС, где размножается в сером веществе и мигрирует обратно по центробежным нейронам в различные ткани (включая слюнные железы).
- вызывает дегенеративные поражения нейронов, в клетках образуются эозинофильные тельца включений – тельца Бабеша - Негри - преимущественно в клетках аммонова рога гиппокампа.

### ***Клиника.***

- и.п. – от 1 - 3 мес. до года, может сокращаться до 6 дней.

- продолжительность и. п. зависит от удаленности места проникновения вируса до головного мозга.
- и.п. бешенства, передаваемого летучими мышами, короче, не превышает 3-4 нед.
- а) продромальный период - раздражительность, бессонница, чувствительные нарушения в области раны (парестезии).
- б) заболевание - нарушение тонуса мышц, затруднение глотания, генерализованные судороги, делирий (маниакальные видения), кома. Летальность- 90-95%.

**Лечение** (см. пособие по ИБП).

- *общие мероприятия*: первичная хирургическая обработка раны, АБ широкого спектра действия.
- *специфическая профилактика* включает пассивную и активную иммунизацию при укусах и в группах риска (егеря, кинологи, охотники). Обращают внимание на:
  - характер поражения (укус, ослонение);
  - вид животного (дикое, домашнее);
  - обстоятельства нападения (спровоцированное или нет);
  - наличие вакцинопрофилактики;
  - наличие случаев бешенства в регионе.

*Пассивная иммунизация:*

1. специфический лошадиный антирабический Ig- 1/2 доза вводят в область укуса, 1/2- в/м.
2. Ig человека для профилактики бешенства - из сыворотки доноров, иммунизированных антирабической вакциной.

*Активная иммунизация:*

1. Вакцина антирабическая культуральная инактивированная (КАВ)- вакцинный штамм в. бешенства Внуково- 32, выращенный в культуре клеток почек сирийских хомячков. Вводят п/к в около пупочную область живота по схеме: 0, 3, 7, 14, 30 и 90 дни.
2. Вакцина антирабическая культуральная концентрированная очищенная инактивированная (КОКАВ).
3. Вакцина Ферми (ослабленный) и Семпла (убитый) вирус, выращенные на нервных клетках. В настоящее время не используются, т.к. есть побочные эффекты (перекрестные реакции против АГ нейронов).

**Эпидемиология.**

В РФ с 2001- по 2006 год зарегистрировано 90 случаев заболевания бешенством среди людей.

Ежегодно более 200 тыс. человек получают назначение на проведение курса антирабического лечения.

В 2004г 44,0% всех случаев заболевания животных выявлено среди диких животных, 30,0% - собаки и кошки, 22,0%- крупный рогатый скот.

- чувствительны все млекопитающие;
- дикое бешенство: резервуар - дикие животные;
- городское бешенство - больные собаки (90% всех случаев) и кошки, реже - КРС и лошади;
- путь передачи - укус, царапины, ослюнение, ингаляционный путь (редко);
- у собак вирус появляется в слюне за 10 суток до клинических проявлений;
- у летучих мышей инфекция в латентной форме, выделяют вирус в течение нескольких месяцев.

### *Диагностика.*

- вирускопический метод: срез головного мозга и ткань слюнных желез (тельца Бабеша- Негри).
- прямая и непрямая РИФ.
- биологический - внутримозговое заражение белых мышей- паралич и смерть. Исследуют мозг погибшего животного.
- обнаружение АТ: РСК, РИФ, ИФА.

## **Лекция № 21. Генетика бактерий**

### **Особенность:**

1. Гаплоидность, т.е. имеется одна хромосома, нет доминантности;
2. Высокая скорость размножения;
3. Высокая разрешающая способность генетического анализа –

обнаружение мутации с частотой  $10^{-9}$  и ниже;

4. Наличие донорных и реципиентных клеток;

5. Наличие внехромосомных фрагментов ДНК- плазмид, транспозонов, Is- последовательностей.

**Генотип** – совокупность генов, определяющих способность к фенотипическому выражению записанной в них информации в виде признаков.

Условия среды могут:

- проявлять (экспрессия) способность генов;

- подавлять.

У бактерий набор генов определяют косвенным путем: проявлением, изменением, утратой признака, соответствующего изменению участка ДНК.

### **Модификации.**

Фенотипические изменения одного или нескольких признаков микроорганизма. Не сопровождаются изменением первичной структуры ДНК, со временем утрачиваются. Возникают в ответ на изменения окружающей среды, это механизм адаптации. Проявляются в изменении морфологических, биохимических признаков, которые реверсируют после устранения фактора, их вызвавшего.

- **биохимическая** – индукция и репрессии структурных генов, контролируемых регуляторными генами. Например, *E. coli* только в присутствии лактозы, синтезирует лактазу (фермент);

- **включение «молчащих генов»** - смена антигенов при инфекции;

- **миграция гена на хромосоме**, встраивание его с разной частотой в определенные локусы. Изменение антигенной структуры гонококков, холерного вибриона, трепонемы сифилиса;

- **образование бактерий, лишенных клеточной стенки (L-формы)**. Реверсируют в исходную форму после прекращения действия антибиотика, антисептика.

### **Мутации.**

Изменения в первичной структуре ДНК, проявляются в наследственно закрепленной утрате или изменении признаков.

- **спонтанные** – появляются естественно под влиянием разных причин (ошибки репарирующих ферментов, ДНК-полимеразы при

репликации ДНК). Происходит включение одного азотистого основания вместо другого в растущую цепь ДНК (аденин - тимин, здесь: аденин - гуанин). Или встраивание в хромосому Is-последовательностей, плазмид, транспозонов.

- *индуцированные* - получают в эксперименте под влиянием мутагенов.

а) генные – затрагивают один ген, являются точковыми. Проявляются заменой или вставкой пары азотистых оснований в ДНК.

б) хромосомные – затрагивают несколько генов. Происходит выпадение большого числа нуклеотидов (делеция), поворота участка ДНК на 180°С (инверсия), повторения фрагмента ДНК (дупликация).

#### **Фенотипические проявления мутации:**

- нейтральные – не проявляются изменениями признаков;

- условно-летальные – происходит изменение, но не утрата ферментативной активности;

- летальные – утрата способности синтезировать жизненно важный для клетки фермент;

#### **R-S- диссоциации.**

Мутации возникают спонтанно. Возникают после встраивания внехромосомных генов наследственности, в. ч. и умеренных фагов. Образуются две формы бактерий, отличаются по характеру колоний на твердой питательной среде.

R- колонии (неровные) – неровные края, шероховатые поверхности колонии;

S- колонии (гладкие) – круглая форма, гладкая поверхность колонии.

Диссоциация протекает от S к R- форме, идет с образованием промежуточных слизистых колоний.

Обратный переход наблюдается редко.

S-формы - вирулентные, исключения – микобактерии туберкулеза, иерсинии чумы, палочки сибирской язвы (в R- форме).

Одновременно меняются биохимические, антигенные, патогенные свойства, дающие преимущества микроорганизму для существования во внешней среде или в организме человека.

#### **Генетические рекомбинации.**

Происходят при участии ферментов в пределах отдельного гена или группы сцеплений генов.

Res – гены детерминируют рекомбинацию бактерий. Передача

генетического материала происходит:

- *трансформация, трансдукция, конъюгация (хромосомные гены);*
- *трансдукция, конъюгация (плазмидные гены).*

### **Трансформация.**

Передача генетического материала (ДНК погибших клеток) донора реципиентной клетке. Компетентная реципиентная клетка - свойство бактериальной клетки поглощать ДНК, т.к. в мембране имеются белки со сродством к ДНК. В реципиентную клетку передается только один ген (М.М. не менее  $0,5-1,0 \times 10^6$ ), не превышающий  $1/100$  длину бактериальной хромосомы. Это состояние возникает в период конца логарифмической фазы роста культуры. Фрагмент ДНК, связывается с белком, образуется трансформасома: защищает от клеточных нуклеаз и переносит ДНК в клетку. Клеточная стенка реципиента становится проницаемой для высокополимерных фрагментов ДНК.

#### ***Фазы трансформации:***

- адсорбция двуцепочечной ДНК-донора на клетке – реципиенте;
- проникновение ДНК;
- соединение ДНК с гомологичным участком хромосомы реципиента, раскручивание спирали ДНК, включение любой из двух нитей в геном, рекомбинация;

Результат зависит от гомологичности геномов, внутривидовая трансформация происходит чаще, чем межвидовая.

### **Трансдукция.**

Передача генетической информации при помощи фагов.

**1. неспецифическая.** При сборке фаговых частиц, в головку фага вместе с фаговой ДНК, включается ДНК бактерии – донора. Фаг становится дефектным. ДНК бактерии донора переносится фагом в гомологичную область ДНК клетки – реципиента путем рекомбинации. Фаговая ДНК не участвует в образовании рекомбинантов.

**2. специфическая.** Фаг переносит определенные гены от бактерии-донора: профаг выщепляется с рядом расположенными генами клетки. Например, фаг  $\lambda$  переносит ген *gal* - контролирует ферментацию галактозу, ген *bio* - синтез биотина. Часть фаговых генов утрачивается, формируется дефектный фаг, несущий ген клетки-донора. Лизогенированные дефектным фагом бактериальные клетки невосприимчивы к последующему

заражению.

**3. абортированная трансдукция.** Привнесенный фагом фрагмент ДНК клетки-донора не включается в хромосому клетки реципиента, располагается в цитоплазме. При делении клетки фрагмент ДНК-донора передается одной из двух дочерних клеток и теряется в потомстве.

### **Конъюгация.**

Перенос генетической информации через F- плазмиду, при прямом контакте бактериальных клеток.

- клетка-донор с F- плазмидой обозначается F<sup>+</sup>;
- без плазмиды – F<sup>-</sup>, она реципиент, не может быть генетическим донором.

При скрещивании клеток половой фактор передается с частотой 100%, все реципиентные клетки получают половой фактор, становятся F<sup>+</sup>. Должна быть гомология ДНК.

#### ***Фазы конъюгации:***

##### *1. Фактор фертильности (переноса).*

- прикрепление клетки донора с клеткой реципиентом с помощью половых ворсинок (секс-пили);
- образование конъюгационного мостика, через который от клетки-донора в клетку – реципиент передается F- фактор и другие плазмиды, находящиеся в цитоплазме в автономном состоянии;

Так передается устойчивость к антибиотикам. Если клетка F<sup>-</sup>, имеет неконъюгационную плазмиду устойчивости к тетрациклину, получает конъюгативную плазмиду устойчивости к ампициллину, она становится F<sup>+</sup> и содержит две плазмиды устойчивости.

##### *2. Плазида может интегрироваться в хромосому клетки и выходя из неё, захватывать бактериальные гены:*

- разрыв цепи ДНК клетки-донора в месте включения F- плазмиды при участии эндонуклеазы;
- проникновение проксимального конца ДНК клетки с F-фактором через конъюгационный мостик в клетку-реципиент, достраивание до двунитевой ДНК; Плазида и хромосома рекомбинируют с образованием большой кольцевой молекулы ДНК. F- фактор включается в хромосому без потери своих функций.
- оставшаяся нить ДНК в клетке-доноре служит матрицей для синтеза 2-ой нити. Донор сохраняет генетическое постоянство.

### **Плазмиды**

Фрагменты ДНК с М.М. 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> Д, несут от 40 до 50 генов.

Существуют как:

- внехромосомная замкнутая молекула ДНК – эписомы;
- встроенные в хромосому – интегрированные.

### **Функции плазмид:**

I. регуляторная – компенсация метаболических дефектов;

II. кодирующая – вносят в бактерию информацию о новых признаках:

1. *способность продуцировать экзотоксины или ферменты для инактивации антибиотиков.* Ent – плазмиды кодируют синтез энтеротоксинов, Tox- плазмиды – синтез токсина (дифтерийного, ботулинического), Hly- плазмиды- синтез гемолизинов;

2. *устойчивость к лекарственным препаратам и к тяжелым металлам (ртуть, никель);*

3. *способность образовывать белковые токсины (бактериоцины).* Обладают антибиотическим действием в отношении родственных бактерий; Известно около 200 бактериоцинов, обозначаются по родовому или видовому составу: колицины, пестицины, вибриоцины, стафилоцины;

4. *кодируют ферменты деградации неприродных соединений (камфора, нафталин);*

5. *удвоение ДНК плазмид индуцирует деление бактерий, т.е. увеличивает их плодовитость.* Их называют F –факторы или *F-плазмиды*; интегрированные в бактериальную хромосому плазмиды называют Hfr-плазмиды (высокая частота рекомбинаций). Они мобилизуют генетическую информацию хромосомы и осуществляют её перенос в другую клетку.

6. *конъюгативные плазмиды переносятся между бактериями внутри вида или близкородственными видами.* Это F-плазмиды, R-плазмиды (устойчивость к антибиоткам), Col-плазида (синтез бактериоцинов (колицинов у E.coli));

7. *неконъюгативные плазмиды – присутствуют в больших количествах (более 30 на клетку).* Могут *переноситься в другую клетку* при наличии конъюгативных плазмид;

### **Свойства плазмид:**

*(объединяющие с вирусами)*

- нет белоксинтезирующей системы;
- нет собственной системы мобилизации энергии;
- не способны к росту и бинарному делению, размножаются путем

саморепликации;

- абсолютные внутриклеточные паразиты;

*(отличия от вирусов)*

- геном – только двунитевая ДНК (у вирусов – 10 вариантов ДНК, РНК - геномов);

- нет оболочки, «голый» геном;

- при репликации нет синтеза структурных белков и процесса самосборки;

- среда обитания – бактерии, у вирусов – бактерии, растения, животные;

- имеют гены для мобилизации и самопереноса из клетки в клетку;

- не подавляют функцию бактериальной хромосомы, не вызывают гибель клетки, а наделяют её важными дополнительными свойствами.

***Пути передачи плазмид.***

1. от родительской клетки дочерней (по вертикали);

2. перенос между клетками независимо от клеточного деления (по горизонтали):

- трансформация;

- трансдукция (трансдуцирующие фаги);

- конъюгация (конъюгативные плазмиды).

***Значение плазмид:***

- контролируют синтез факторов патогенности у бактерий;

- кодируют множественную устойчивость к антибиотикам, формируются новые эпидемические штаммы бактерий;

- контролируют у бактерий обмен генетическим материалом;

- формируют возможность благоприятное существование патогенных бактерий в биологическом организме;

- являются биологическим средством самозащиты бактерий (специфический иммунитет против химических (лекарств) и других агентов).

**Лекция № 22. Особенности противовирусного иммунитета. Персистенция вирусов.**

## **Факторы патогенности вирусов**

**1. адгезины** - протеиновые, гликопротеиновые, гликолипопротеиновые структуры капсида или суперкапсида, несущие функцию рецепторов. Вирусы, лишённые адгезинов, неинфекционны. Клетка без антирецепторов к адгезинам вируса не инфицируется (видовой иммунитет).

**2. нуклеиновые кислоты** – инфекционны - проникают в клетку и обеспечивают репродукцию вирусов.

а) Геном вируса переключает рибосомы клетки-хозяина на синтез структурных и регуляторных вирусных белков. Нарушается клеточный метаболизм;

б) V. РНК и ДНК являются индукторами продукции интерферона, которые являются активаторами натуральных киллеров;

в) при интеграции в ДНК клетки- хозяина вызывают мутации (опухолевая трансформация) или персистенции вирусов.

**3. вирусные белки:**

а) вызывают интоксикацию за счет стимуляции макрофагами гиперпродукции ИЛ-1 (эндогенный пироген) и ФНО (кахектин);

б) индуцируют клеточный апоптоз – программируемую смерть клетки;

в) встроенные в составе суперкапсида в клеточные ЦПМ, являются мишенью для Т-киллеров и АТ, разрушающих вирусинфицированные клетки;

г) канцерогенное и мутагенное действие;

д) иммуносупрессивное действие.

**4. ферменты.**

а) участвуют в проникновении в клетку, раздевании вирионов, интеграции вирусного генома в геном клетки- хозяина;

б) индуцируют апоптоз расщеплением клеточного рецептора bcl 2;

в) модифицируют клеточные гены роста и пролиферации - развитие опухолевой трансформации;

г) инактивируют белки-гистоны, которые участвуют в организации хроматина клетки и являются регуляторами иммунитета.

## **Патогенез повреждения клеток**

- **цитолитическое действие вирусов** - разрушение клетки при выходе из нее вновь образованных вирионов.

- **пероксидация липидов** – уменьшение или прекращение синтеза н.к. и белков клетки. Происходит разрушение цитоскелета клетки, развитие клеточной гипоксии и как следствие активация перекисного окисления липидов. Образуются свободные радикалы кислорода, жирных кислот, перекисные радикалы, гидроперекиси, альдегиды, кетоны. Отмечается и дефицит системы антиоксидантной защиты- каталазы, супероксиддисмутазы, пероксидазы.

- **апоптоз.** Активация рецепторов апоптоза ведет к образованию белков смерти - каспаз, которые активируют эндонуклеазы, расщепляющие ДНК. Ранние вирусоспецифические белки подавляют апоптоз во время размножения вирусов. Поздние белки активируют апоптоз для выхода образовавшихся вирионов из клетки.

### **Иммунный ответ хозяина (противовирусный иммунитет).**

- на ранних этапах иммуногенеза участвуют **неспецифические гуморальные и клеточные факторы иммунитета** – макрофаги, натуральные киллеры, К- киллеры, комплемент, интерферон;

- специфический иммунитет обеспечивается нейтрализующими **АТ и антигензависимыми Т- киллерами.**

- освобождение организма от вирусов сопровождается разрушением вирусинфицированных клеток с последующей нейтрализацией вирусов АТ во внутренней среде организма (кровь, лимфа, межтканевая жидкость).

### **Система комплемента.** Активируется:

- **по альтернативному пути** при контакте с сиаловыми кислотами gp вируса (клетка разрушается);

- **по классическому пути** под действием иммунных комплексов.

**Система интерферонов.** На внедрение чужеродных н.к. клетка выделяет белки интерфероны. При выходе из клетки они взаимодействуют с клеточными интерфероновыми рецепторами и запускают механизм образования рибонуклеазы (разрушает вирусные РНК) и протеинкиназы (разрушает вирусоспецифические белки).

## **Макрофаги.**

Ключевая роль в противовирусном иммунитете.

- фагоцитируют свободные и комплементобработанные вирусы и вирусы в составе ЦИК
- процессинг и презентация вирусов макрофагами запускает специфический иммунный ответ
- распознают вирусинфицированные клетки и лизируют их.

## **Натуральные киллеры.**

Гранулодержащие лимфоциты, не имеющие маркеров Т – и В-лимфоцитов. Специфическим маркером является кластер дифференцировки CD<sub>19</sub>. Обладают интерферонзависимой клеточной цитотоксичностью - разрушают инфицированные вирусами клетки, на поверхности которых присутствуют молекулы интерферона.

**К - киллеры.** Обладают неспецифической антителозависимой клеточной цитотоксичностью: с помощью поверхностного рецептора к Fc- фрагменту Ig, фиксируются с Ат, связанными с антигенными детерминантами вирусов на поверхности клетки и разрушают ее.

**Т - киллеры.** Обладают антигензависимой клеточной цитотоксичностью: лизируют клетки содержащие на своей поверхности антигены, к которым образовался клон данных Т-киллеров. Несут маркер CD<sub>8</sub>. Образуются через продолжительное время после инфицирования. Характерно двойное иммунное распознавание клетки-мишени:

- на наличие антигенов гистосовместимости I класса. При совпадении рецепторов с аналогичными антирецепторами на Т-киллере, клетка признается «своей» и не разрушается.
- на наличие чужеродных антигенов (в т.ч. вирусных). «Чужая» клетка атакуется и разрушается.

**Разрушение инфицированных клеток** макрофагами, натуральными киллерами, К- и Т- киллерами происходит двумя путями:

- **секреторный.** При тесном контакте между клеткой – мишенью и клеткой – киллером, из последней выбрасывается комплекс

ферментов – перфорины, гранзимы. Происходит увеличение проницаемости мембраны клетки-мишени для ионов натрия и воды, наступает отек клетки и ее разрушение;

- **несекреторный** (апоптотический)- а) активация на клетке-мишени специфических рецепторов апоптоза – FAS (синонимы CD<sub>95</sub>, APO-1) с помощью антирецептора FASL на мембране клетки –киллера; б) активация неспецифических рецепторов апоптоза ФНО с помощью антирецептора ФНО клетки-киллера. Активируются ферменты каспазы, приводящие к апоптозу.

**Антитела** нейтрализуют только внеклеточно расположенные вирусы и лишь блокируют вирусные антигены, встроенные в мембрану зараженных клеток. Против внутриклеточно расположенных вирусов не эффективны. Образуются на поздней стадии вирусной инфекции. На поверхности слизистых действие оказывают IgAs, во внутренней среде организма - Ig M, G и сывороточный IgA.

**Образуются иммунные комплексы:**

- фиксированные – АТ + Аг на поверхности клетки;  
- циркулирующие - АТ + Аг (вирус) во внутренней среде организма.

При недостатке АТ образуются мелкие иммунные комплексы. Может привести:

- в ЦИК вирусы сохраняют свою жизнеспособность и при разрушении комплекса вновь инфицируют клетки;  
- длительно находятся в крови, плохо фагоцитируются макрофагами, активируют систему комплемента, фиксируются к эндотелию сосудов, вызывая его разрушение. Выделяются БАВ, вызывающие дилатацию кровеносных сосудов (шок).

При оптимальном содержании АТ, образуются крупные иммунные комплексы. Вирусы в них полностью инактивируются, ЦИК фагоцитируются макрофагами.

**Вирусная иммуносупрессия.**

- паразитизм вирусов внутри иммунных клеток (ВИЧ, ЦМВ);  
- стимуляция образования Т- супрессоров (реовирусы);  
- активация апоптоза иммунцитов (многие вирусы);  
- антительная атака при локализации вирусов на клетках иммунной системы.

## **Вирусная персистенция.**

Эволюционно сложившийся тип взаимоотношений паразита и хозяина с длительной (пожизненной) циркуляцией возбудителя в инфицированной системе, сохраняющей его как биологический вид и поддерживающей непрерывность инфекционного и эпидемического процессов.

Персистенция характерна для всех вирусов.

- *хроническая инфекция* – пожизненное персистирование в организме хозяина полноценных вирусов и постоянное выделение их во внешнюю среду (моча, сперма, слюна, молоко). Например, ВПГ, аденовирусы, ВГВ, ВГС, ВГД. Возможна трансформация вирусинфицированной клетки в опухоль.

- *латентная* - бессимптомное персистирование дефектных субвирионных структур, иногда интегрированных в геном клетки-хозяина. Выделение вируса во внешнюю среду происходит периодически, при их активации.

- *медленная инфекция* – пожизненное присутствие вирусов, их компонентов или прионов в тканях хозяина, без выхода во внешнюю среду. Характерен длительный и.п., поражение ЦНС, прогрессирующее течение заболевания. например, вирус кори (подострый склерозирующий панэнцефалит, ретровирусы (рассеянный склероз), прионы (куру, болезнь Крейтцфельда – Якоба).

## ***Механизмы развития персистенции.***

1. уклонение вирусов от иммунного ответа:
  - а) интеграция вирусного генома в геном клетки-хозяина;
  - б) отсутствием антигенов (прионы);
  - в) наличие антигенных вариаций.
2. иммунодефицитное состояние макроорганизма:
  - а) генетический дефект иммунной системы;
  - б) иммуносупрессивное действие вирусов;
  - в) сопутствующие соматические и эндокринные заболевания;
3. подавление апоптоза клеток – способствует длительному пребыванию вируса в организме.
4. вирусные мутации – устойчивость к противовирусным препаратам.

## Лекция № 23. Риккетсиозы.

Порядок – Rickettsiales

Семейства: Bartonellaceae

Anaplasmataceae

Rickettsiaceae состоит из 3 триб:

Ehrlichieae

Wolbachieae

Rickettsieae делится на 3 рода:

Rickettsia

Rochalimaea

Coxiella

**Риккетсии** - группа мелких полиморфных грамотрицательных бактерий, являющихся паразитами членистоногих, различных животных и человека. Заболевания, вызываемые ими называются - риккетсиозы.

### ***Морфология.***

Имеют форму палочек, кокковидную, нитевидную. Капсул и спор не образуют. За исключением возбудителя траншейной лихорадки, являются строгими внутриклеточными микроорганизмами, т.е. на обычных питательных средах не растут.

### ***Жизненный цикл.***

Состоит из 2 стадий: вегетативной и покоящейся.

Риккетсии в вегетативной стадии имеют палочковидную форму, размножаются путем бинарного деления, подвижны.

Риккетсии покоящейся стадии имеют сферическую форму, не размножаются .

Риккетсии - прокариоты: имеется клеточная стенка, наружная мембрана (Грам (-) бактерии), цитоплазматическая мембрана, ядерный аппарат не ограниченный ядерной мембраной. Обладают собственными системами биосинтеза белка и мобилизации энергии. Но они не совершенны. Для их функционирования необходимы компоненты этих систем эукариотных клеток хозяина.

**Культивирование риккетсий:** заражение

1. животных (морские свинки, белые мыши);
2. куриных эмбрионов;
3. культуры клеток.

**Классификация** риккетсиозов по группам болезней.  
на 5 групп:

- группа сыпного тифа;
- клещевой пятнистой лихорадки;
- цуцугамуши;
- пневмориккетсиозов;
- параксизмального риккетсиоза.

**Группа сыпного тифа.** Входят:

1. эпидемический сыпной тиф;
2. болезнь Бриля;
3. эндемический (крысиный) тиф;
4. канадский риккетсиоз.

### **I. Эпидемический сыпной тиф.**

Острое инфекционное заболевание, характеризующееся глубокой общей интоксикацией, сыпью, специфическим эндопереваскулитом с образованием тромбов при капиллярном разветвлении артерий.

**Возбудитель - *Rickettsia prowazekii*** – палочки размером от 0,3-0,6 до 0,8-2.0 мкм. Располагаются одиночно или короткими цепочками. Размножаются:

а) в желточном мешке куриного эмбриона при 35 С , гибель вызывают через 6-13 дней.

б) в различных культурах клеток с образованием на 8-10 сут бляшек.

в) чувствительны морские свинки- через 1 нед – лихорадка, у самцов – скротальный эффект( периорхит). Очень редко протекает бессимптомно. У погибших животных обнаруживаются в большом количестве в мозге, а также выделяются из крови, селезенки, почек.

**Антигенное строение.**

1. Термостабильный групповой антиген, общий с *R.typhi* , *R. canada*.

2. Термолабильный видоспецифический, располагающийся поверхностно

***Резистентность.***

Малоустойчив во внешней среде . Гибель при 80 С в течении 1 мин. Жизнеспособны в течении 2-3 мес в высохших экскрементах вшей, особенно при низких Т.

***Факторы патогенности.***

- факторы адгезии инвазии;
  - эндотоксин (ЛПС);
  - в капсулоподобном слое имеется высокотоксичный термолабильный белок;
- заражение белых мышей :- в/в – гибель через 4-24 часа от о. интоксикации, интраназально – смертельная пневмония.

***Эпидемиология.***

Антрапоз. Источник инфекции - только больной человек, у которых возбудитель находится в крови. Опыт самозаражения - Мочутковский О.О. В 1910 г Шарль Николь доказал роль платяных вшей в передаче возбудителя от больного здоровому. Головная и лобковая вши могут быть переносчиками, но неохотно покидают тело больного. Вошь легко заражается при повторном сосании крови больного, потребляет 1 мг крови сразу, при этом опорожняет кишечник. Риккетсии проникают в эпителиальные клетки кишечника, размножаются в них и выделяются с экскрементами. Вошь становится заразной через 4-5 дней, погибают от смертельного риккетсиоза через 2-3 нед. Укус не заразен , но вызывает зуд и раздражение, человек втирает в ранку риккетсии. Акт питания через каждые 5 час. Оптимальная температура-30 С, при повышении ее до 39-40 °С , вошь покидает хозяина и поселяется на белье другого человека.

***Патогенез и клиника.***

Восприимчивость 100%. Попадают в кровь и избирательно поражают эндотелии прекапиллярных разветвлений артерий, вызывает деструктивно- пролиферативный тромбозно- васкулит. Приводит к обширным инфарктам, асептическим некрозам в мозговой ткани, надпочечниках, миокарде и коже. Присоединяется сильнейшая общая интоксикация( эндотоксин и токсический белок).

И.п.-10-12 дней. Заболевание начинается остро: Т 39-40 С,

сильная головная боль, бред, психоз, явления менингоэнцефалита. На 4-6 день появляется характерная сыпь на боковых поверхностях туловища, спине и сгибательных поверхностях рук. Лихорадка продолжается 1,5-2 нед, Т падает критически до нормы. Выздоровление медленное из-за астенизации больного, остаются осложнения со стороны ЦНС и ССС. Летальность в период эпидемии- 20-40%.

### ***Иммунитет.***

Длительный, стойкий, нестерильный( возбудитель сохраняется в организме длительное время в виде покоящихся форм). У переболевших иногда через 10-15-20 лет может наблюдаться рецидив – болезнь Бриля- Цинссера. Связано с ослаблением иммунитета, протекает легко, без осложнений, при этом отсутствует вшивость и источник заражения. Иммунитет носит гуморальный характер.

### ***Диагностика***

1. *Бактериологический* (применяют методы для выращивания вирусов):

- заражение морских свинок или белых мышей;
- куриных эмбрионов в желточный мешок;
- культур клеток.

Дорогостоящий, применяется только для научных целей.

2. *Серологические реакции:*

- развернутая пробирочная реакция агглютинации с сыпнотифозным антигеном из Р. Провачека и Р. Музера (возбудитель эндемического сыпного тифа). Реакция «+» с 4-5 дня болезни (1:100); с 12-14 и до 30 дня титр антител максимальный и через 3-5 мес. АТ исчезают. Диагностический титр в активной фазе -1:160, для ретроспективной диагностики не применяется.

- РСК. Комплементсвязывающие АТ появляются с 5-6 дня болезни, максимальные титры- 14-16 день, через 1-1,5 мес. титры антител снижаются, но эти антитела сохраняются на протяжении многих лет. Активная форма- 1:160. ретроспективный диагноз- 1:10

- РПГА при сыпном тифе позволяет отличить активную форму заболевания и ближайшую реконвалесценцию от ранее перенесенного. Титр АТ в активной фазе-1:1000.

- реакция Вейля-Феликса (1916г) . Сыворотка больного сыпным тифом дает «+» реакцию агглютинации с *Proteus vulgaris* OX19 и

ОХ2 (неподвижные варианты) за счет перекрестно-реагирующих общих полисахаридных АГ. Диагностический титр 1:160. Реакция отрицательная при болезни Бриля.

- реакция иммунофлуоресценции – РИФ- дифференцирует IgM и IgG. На мазки из диагностикумов наносят последовательные разведения сыворотки, затем – антиглобулиновую люминесцентную сыворотку.

- ИФА в модификации «захват» АГ класса Ig M.

3. В/к *аллергическая проба* (ГЗТ).

### ***Профилактика***

1. Живая комбинированная сыпнотифозная вакцина (ЖКСВ-Е)-риккетсии Провачека авирулентного штамма Мадрид Е, выращенные в желточных мешках куриных эмбрионов в комбинации с растворимым антигеном вирулентного штамма Брейнль риккетсий Провачека. Иммунитет с образованием комплементсвязывающих антител развивается через 4-4 нед после прививки.

2. Вакцина сыпнотифозная химическая – иммуногенная субстанция из растворимого антигена риккетсий Провачека, выращенных в желточных мешках куриных эмбрионов.

## **II. Крысиный сыпной тиф.**

***Возбудитель - риккетсии Музера.*** Имеют свой специфический термолабильный АГ. В цитоплазме пораженных клеток мезотелия грызунов образуют огромные скопления, замещающие цитоплазму. Вызывает у морских свинок скротальный феномен.

## **III. Канадский риккетсиоз.**

В естественных условиях болеют зайцы и кролики.

### ***Группа пятнистой клещевой лихорадки:***

- пятнистая лихорадка Скалистых гор;
- Марсельская лихорадка;
- клещевой сыпной тиф Северной Азии (Сибирский риккетсиоз).

Резервуар - иксодовые и гамазовые клещи и их прокормители(грызуны). Трансмиссивная инфекция. Культивируют на куриных эмбрионах при 35 °С, вызывают их гибель через 4-5

дней. Место размножения в эукариотных клетках - ядро, цитоплазма.

### ***Группа цуцугамуши.***

- японская речная лихорадка. Резервуар возбудителя и переносчик - краснотелковые клещи. Место размножения в эукариотной клетке - цитоплазма. Встречается в Японии, Юго-Восточной Азии, на Дальнем Востоке.

### ***Группа параксизмального риккетсиоза.***

- волынская, траншейная, окопная лихорадка.

Возбудитель - *Rochalimaea Quintana*. Размножается на поверхности эукариотных клеток, могут расти на искусственных питательных средах: 6% инактивированная лошадиная сыворотка и 4% лизированных лошадиных эритроцитов. Растет в аэробных условиях с повышенным содержанием CO<sub>2</sub>. - появляются на 12-14 день линзообразные, мукоидные колонии при 37 С. Куриные эмбрионы и культуры клеток не заражают. АГ отличаются от других видов рода Риккетсий. Морские свинки и белые мыши не восприимчивы. Переносчик – платяная вошь.

**И.п.**-9-13 дней

Иммунитет - выражен слабо, сохраняется при носительстве риккетсий.

Диагностика - бактериологический- посев крови больного, серологический- РА, РСК, РПГА с использованием риккетсиозных антигенов.

Спец. профилактика не разработана.

### ***Группа пневмориккетсиоза.***

**Ку-** лихорадка.

*Возбудитель - Coxiella burnetii.*

Острое риккетсиозное заболевание, протекает с лихорадкой, интерстициальной пневмонией на фоне отсутствия сыпи. Эндемична для многих стран. *Отличаются от других риккетсий:*

- размножаются в фаголизосомах эукариот;
- в покоящейся стадии образует эндоспоры;
- проходят через бактериальные фильтры;
- не образуют жгутиков и капсул;

-обладают собственными системами биосинтеза белка и мобилизации энергии, но являются строгими внутриклеточными паразитами;

-проявляют большую устойчивость к физико- химическим факторам, но чувствительны к действию жирорастворителей.

*Заражение человека:*

-аэрогенный (больные животные выделяют возбудитель с испражнениями, мочой, дыханием);

-алиментарный (молоко и мясо);

-водный (купание, питьевая вода, зараженная мочой);

-через укусы клещей.

*Основной резервуар* риккетсий - крупный и мелкий рогатый скот.

*Клиника:* лихорадка, пневмония не сильно выражена (только при аэрогенном пути заражения). Течение пестрое.

*Постинфекционный иммунитет* - прочный, длительный, антимицробный, формируется ГЗТ.

*Диагностика:*

- выделение и идентификация возбудителя путем в/б заражения морских свинок;

- серологические реакции - РСК, РПГА, ИФМ, ставят с парными сыворотками - должно быть нарастание титра АТ. Агглютинины появляются с 10-20 дня, комплементсвязывающие антитела - с 7-8 дня болезни;

- в/к аллергическая проба с убитыми риккетсиями. Положительная с 3-8 дня болезни. Сохраняется более 4 лет.

*Профилактика* - живая ослабленная вакцина из штамма М-44, вводится н/к в виде скарификации.

### **Эрлихиозы.**

Размножаются только в цитоплазме лейкоцитов человека, диких и домашних животных. Располагаются одиночно или образуют компактные колонии, напоминающих морулу (тутовая ягода).

Резервуар - собаки. Человек заражается через укусы клещей *Рипицефалис сангуинеус*.

Клиника - страдает специфический и неспецифический иммунитет. Развивается иммунодефицит. Диагностика: непрямая РИФ.

### Вопросы к итоговому занятию по теме «Вирусология»

1.	Свойства вирусов.
2.	Молекулярно – генетическая организация вирусов.
3.	Вироиды.
4.	Прионы.
5.	Методы культивирования вирусов. Заражение куриных эмбрионов.
6.	Культура клеток. Первично – трепсинизированные и перививаемые культуры клеток
7.	Методы обнаружения вирусов. ЦПД.
8.	Методы обнаружения вирусов. Цветная проба, метод бляшек.
9.	Методы обнаружения вирусов. Реакции гемадсорбции, гемагглютинации.
10.	Методы обнаружения вирусов. ЛСМ.
11.	Методы диагностики вирусных заболеваний. Типирование вирусов.
12.	Вирусоскопический метод диагностики. Примеры.
13.	Механизм взаимодействия вируса с клеткой.
14.	Репликация вирусных геномов. Двунитевая ДНК, однонитевая ДНК.
15.	Репликация вирусных геномов. Однонитевая РНК, однонитевая РНК ретровирусов.
16.	Репликация генома вирусного гепатита В.
17.	Типы вирусных инфекций.
18.	Медленные инфекции. Механизмы длительного

	персистирования вирусов в организме.
19.	Особенности противовирусного иммунитета.
20.	Роль антител в противовирусном иммунитете.
21.	Продуктивная инфекция бактериофага.
22.	Редуктивная инфекция бактериофага.
23.	Жизненный цикл бактериофага.
24.	Строение бактериофага.
25.	Специфическая и неспецифическая трансдукция.
26.	Применение бактериофага.
27.	Причины частой заболеваемости ОРВИ.
28.	Семейства вирусов, вызывающих ОРВИ.
29.	Строение вируса гриппа А.
30.	Гемагглютинин вируса гриппа А, структура, функции.
31.	Нейраминидаза вируса гриппа А, структура, функции.
32.	Жизненный цикл вируса гриппа А.
33.	Антигенный дрейф и шифт вируса гриппа А.
34.	Диагностика ОРВИ: серологическая, МФА (метод флуоресцирующих АТ)
35.	RS- вирус (респираторно- синцитиальный вирус).
36.	Спецпрофилактика гриппа: живые и инактивированные вакцины. Вакцина «Гриппол».
37.	Вирус кори. Морфология, клиника заболевания.
38.	Подострый склерозирующий панэнцефалит.
39.	Вакцина коревая культуральная живая. Получение, состав, действие, схема иммунизации.
40.	Живая вакцина против краснухи. Состав, схема иммунизации.
41.	Причины широкого распространения ОКВИ.
42.	Вирусы, вызывающие ОКВИ.
43.	Вирусологические признаки энтеровирусов.
44.	Эпидемиологические признаки энтеровирусов.
45.	Строение вируса полиомиелита.
46.	Патогенез и клиника полиомиелита.
47.	Спец. профилактика полиомиелита. Пероральная полиомиелитная вакцина Себина, Инактивированная вакцина «Имовакс Полио».
48.	Диагностика энтеровирусных инфекций.
49.	Сквозная классификация рода энтеровирусов.
50.	Клинические симптомы, вызываемые вирусами Коксаки и

	ЕСНО.
51.	Ротавирусы. Строение, клиника заболевания.
52.	Вакцина гепатита А. Получение, действие, схема иммунизации.
53.	Строение вириона ВГВ.
54.	Морфологические варианты HBsAg.
55.	Структура генома ВГВ.
56.	Изменчивость ВГВ.
57.	Вакцина гепатита В рекомбинантная дрожжевая. Состав, действие, схема вакцинации.
58.	Иммуноглобулин человека против гепатита В.
59.	Дельта- гепатит.
60.	Современная классификация герпесвирусов.
61.	Вирус герпеса человека I и II типа: клиника, патогенез, эпидемиология, культивирование, иммунитет, лечение.
62.	Вакцина герпетическая инактивированная. Состав, действие, схема вакцинации.
63.	Строение вируса бешенства, антигенная структура.
64.	Эпидемиология бешенства. Схемы вакцинации для профилактики бешенства.
65.	Сухая антирабическая вакцина Ферми.
66.	Иммуноглобулины для пассивной профилактики бешенства.
67.	Вакцина КАВ и КОКАВ для профилактики бешенства.
68.	Строение ВИЧ.
69.	Геном ВИЧ. Функции структурных и регуляторных генов.
70.	Изменчивость ВИЧ.
71.	Жизненный цикл ВИЧ.
72.	Патогенез и клиника ВИЧ.
73.	Лечение ВИЧ: варианты препаратов. Механизм действия азидотимидина.
74.	Диагностика ВИЧ.
75.	Вирус герпеса III типа: этиология, патогенез, клиника, лечение.
76.	Морфология и жизненный цикл ВПГ.
77.	Факторы патогенности вирусов и патогенез повреждения клеток.

## Литература:

1. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. М.: «Медицина» 1982.- 462 с.
2. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2001. - 736с.
3. Борисов Л.Б., Козьмин – Соколов Б.Н., Фрейдлин И.С. Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие. – М.: Медицина, 1993. – 240 с.
4. Воробьев А.А. Медицинская и санитарная микробиология: Учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений.- М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 464с.
5. Жданов В.М.. Эволюция вирусов. АМН СССР.- М.: Медицина, 1990, 376с.,
6. Змушко Е.И., Белозеров Е.С. Клиническая иммунология. Питер С - П. 2001г. с.574.
7. Королюк А.М., Сбойчаков В.Б. Медицинская микробиология: Учебное пособие. Часть первая.- СПб, 2002.- 267 с.
7. Королюк А.М., Сбойчаков В.Б. Медицинская вирусология. Часть вторая.- СПб, 2002.- 163 с.
8. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. Учебник.- СПб: «Специальная литература», 1998. – 592с.
9. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С. Частная медицинская

микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 600 с.

10. Маянский А.Н. Лекции по иммунологии. Нижний Новгород: издательство Нижегородской государственной медицинской академии, 2005. - 272 с.

11. Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998.-1200 с.

12. Райкис Б.Н., Пожарская В.О., Казиев А.Х. Общая микробиология с вирусологией и иммунологией (в графическом изображении). Учебное пособие.- М.: «Триада-X2, 2002.-352 с.

13. Тэц В.В. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. - М.: Медицина, 2002. – 352 с.

14. Справочник «Бактерийные, вирусные и сывороточные лечебно-профилактические препараты. Аллергены. Дезинфекционно-стерилизационные режимы поликлиник» - С.-Пб.: Фолиант, 1998.-512с.