

Характеристика вирусов. Бактериофаги

Лекция 4

Цель занятия

- Изучить особенности строения, жизни, развития вирусов, их строение и классификацию.
- Изучить морфологию и строение бактериофагов, значение бактериофагов для лабораторной диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний.

План лекции

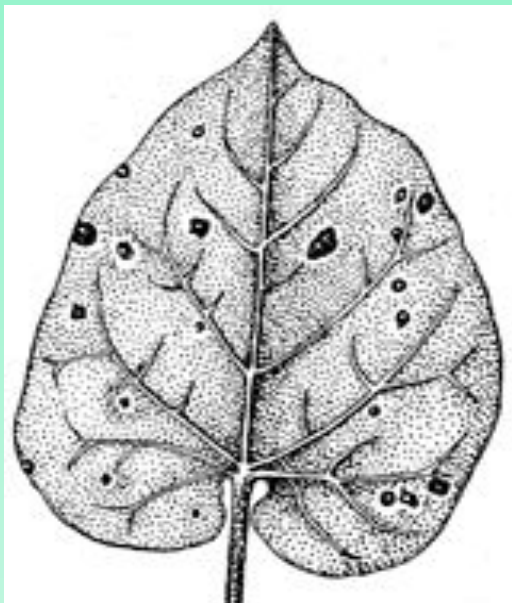
- Краткий очерк развития вирусологии;
- Общая характеристика вирусов;
- Морфология и структура вирусов;
- Классификация вирусов;
- Особенности взаимодействия вируса с клеткой хозяина;
- Культивирование и индикация вирусов;
- Бактериофаги — вирусы бактерий;
- Морфология фагов;
- Строение бактериофагов
- Практическое применение фагов

Вирусология – наука о вирусах

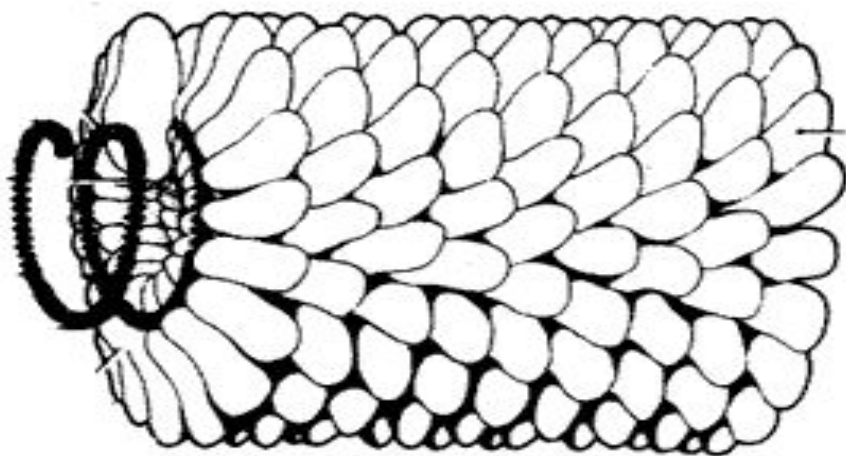


**Д.И.
Ивановский
(1864 – 1920)**
В 1892 г. изучая
мозаичную
болезнь листьев
табака,
установил, что
она вызывается
вирусами.

Вирус табачной мозаики



Вирусы табачной мозаики
(электронное увеличение)



Вирусы – это неклеточная форма существования живой материи.

Для изучения вирусов используют методы:
химические, физические, молекулярно-биологические, иммунобиологические и генетические.

Вирусы - Царство *Virae* (лат. *virus* –яд)

1. Ультрамикроскопические размеры (нм).
2. Неклеточное строение.
3. Содержат только один вид нуклеиновых кислот (или ДНК или РНК).
4. Не способны самостоятельно синтезировать белок.
5. Не имеют собственной метаболической системы.
6. Внутриклеточные молекулярные паразиты.
7. Не способны к росту и бинарному делению.
8. Дизъюнктивный способ репродукции.
9. Тропизм к определенным тканям, органам.
10. Способность к интеграции генома вируса с геномом клетки.

Вирусы, поражающие человека, животных, насекомых, бактерии и растения.

Известно более 600 возбудителей вирусных инфекций у человека:

оспы, бешенства, гриппа, паротита, кори, полиомиелита, клещевого энцефалита, геморрагической лихорадки, ВИЧ и др.

Вирусы:

- являются основными возбудителями инфекционных заболеваний человека;
- участвуют в процессах канцерогенеза;
- могут передаваться различными путями, в т.ч. через плаценту (вирус краснухи, цитомегаловирус и др.);
- могут приводить к постинфекционным осложнениям – развитию миокардитов, панкреатитов, иммунодефицитов и др.

Классификация вирусов

- **по типу нуклеиновой кислоты;**
- **по семействам (Viridae),
подсемействам (Virinae), родам (Virus);**
- **по строению внеклеточных форм –
вирионов (зрелая вирусная частица);**
- **по морфологии;**
- **типам симметрии;**
- **антигенным свойствам и т.д.**

Геном – 6 – 200 генов.

Виды нуклеиновых кислот – двунитевые, однонитевые, негативные, позитивные, смешанной полярности, линейные, кольцевые, фрагментированные

ДНК – вирусы

- **вирус натуральной оспы,**
- **вирус ветряной оспы,**
- **аденовирусы,**
- **вирус герпеса**

РНК - вирусы

- **вирусы полимиелита,**
- **вирус клещевого энцефалита,**
- **вирусы гриппа,**
- **вирусы парагриппа, паратита, кори.**
- **вирус бешенства**

Формы вируса

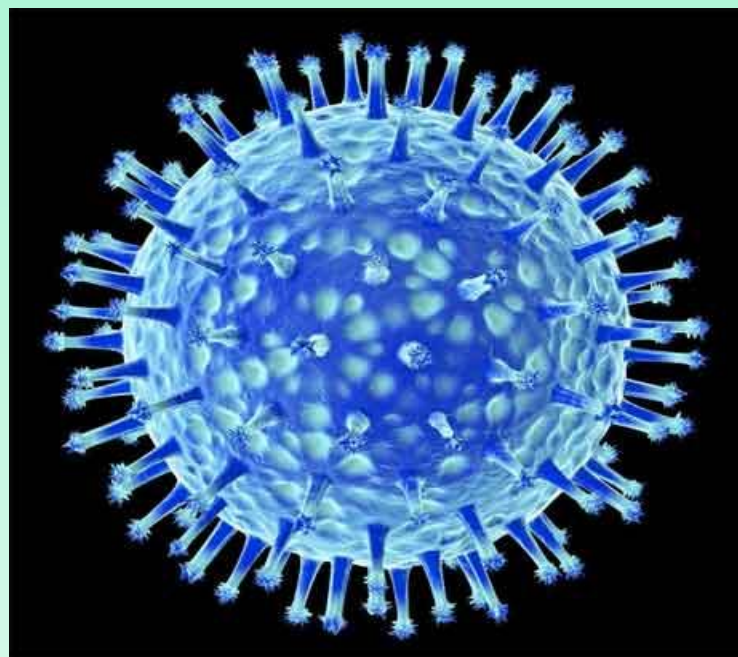
Вирион

Внеклеточная форма

Вирус

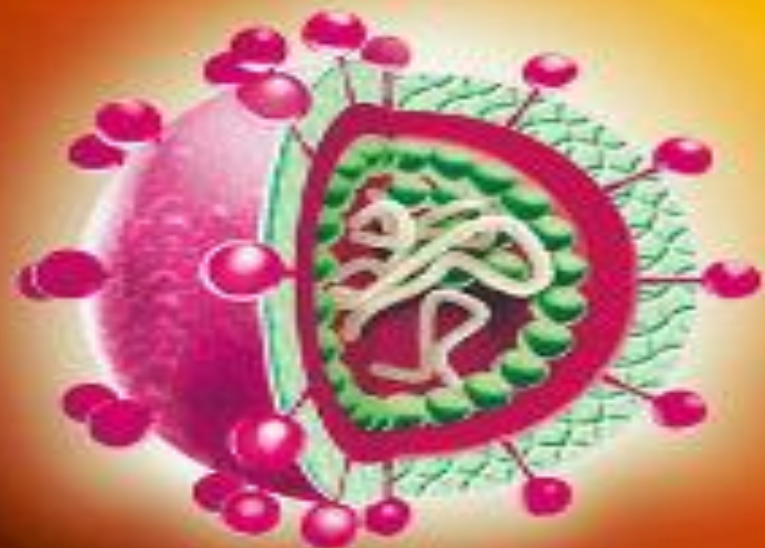
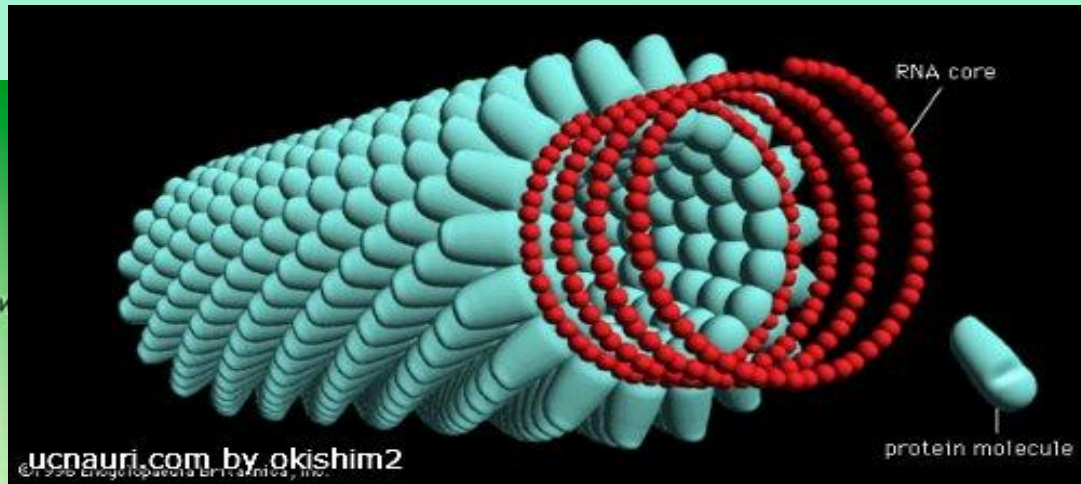
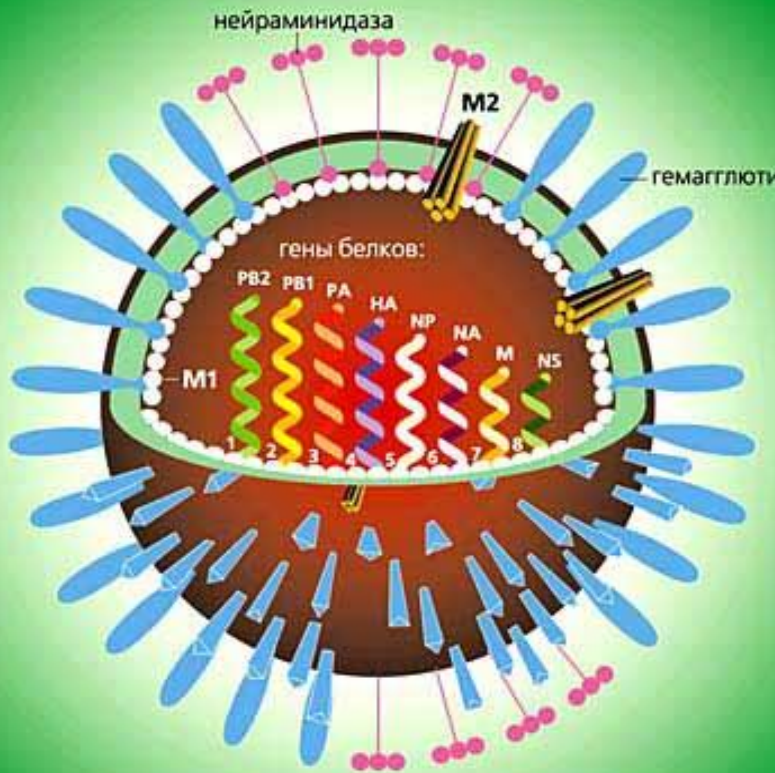
Внутриклеточная форма

- Мелкие (15-25 нм)
 - Полиомиелит,
 - парвовирусы
- Средние (80-120 нм)
 - Грипп
- Крупные (300-400 нм)
 - Оспа

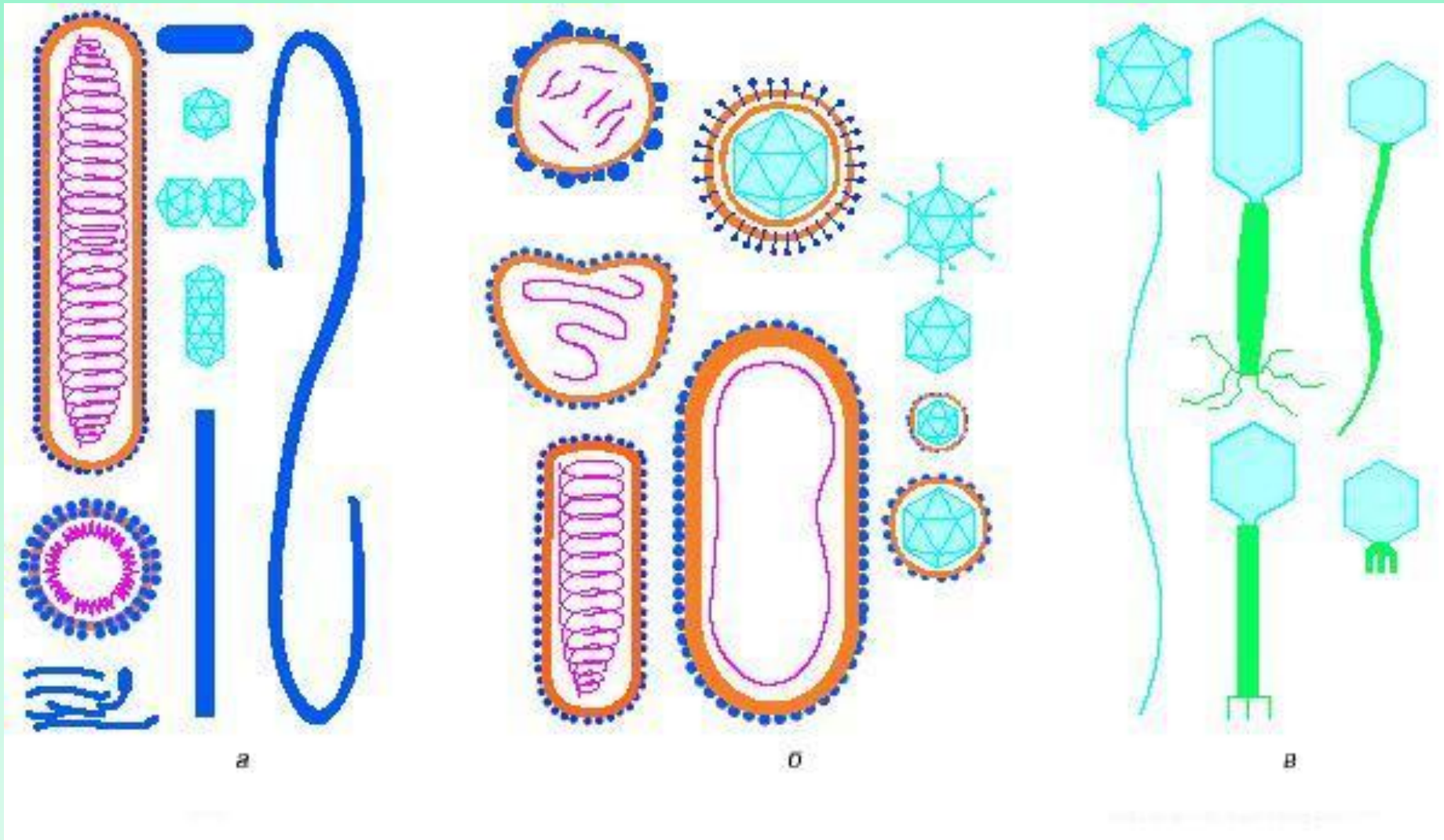


Морфология вирусов

палочковидные, пулевидные, сферические, овалыные, комбинированные.

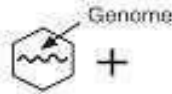


Морфология вирусов



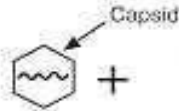
РНК-содержащие

Picornavirus



C = 32
22-30 nm

Astrovirus



C = 32?
30-35 nm

Calicivirus



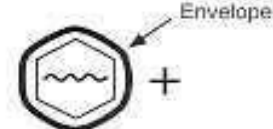
C = 32 (holes)
35-39 nm

Flavivirus



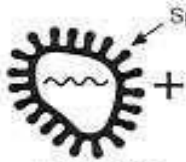
Icosahedral
45-50 nm

Togavirus



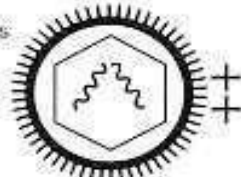
Icosahedral
70 nm

Coronavirus



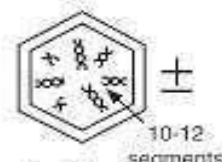
Pleomorphic
120-160 nm

Retrovirus



Icosahedral
90-120 nm

Reovirus



C = 132
60-80 nm

Bunyavirus



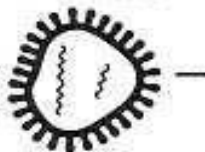
90-120 nm

Orthomyxovirus



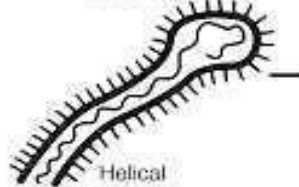
Helical, Pleomorphic
80-120 nm

Arenavirus



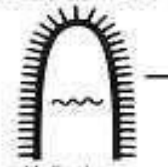
Pleomorphic
110-130 nm

Filovirus



Helical
80x800-2500 nm

Rhabdovirus



Helical
60x180 nm

Paramyxovirus



Helical, Pleomorphic
150-300 nm

ДНК-содержащие

Circovirus



Icosahedral
17-22 nm

Parvovirus



C = 12
18-26 nm

Hepadnavirus



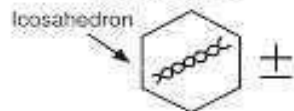
C = 180 Icosahedral
40-48 nm

Papovavirus



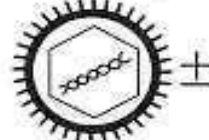
C = 72
45/55 nm

Adenovirus



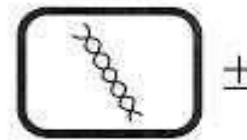
C = 252
75-80 nm

Herpesvirus



C = 162
150-200 nm

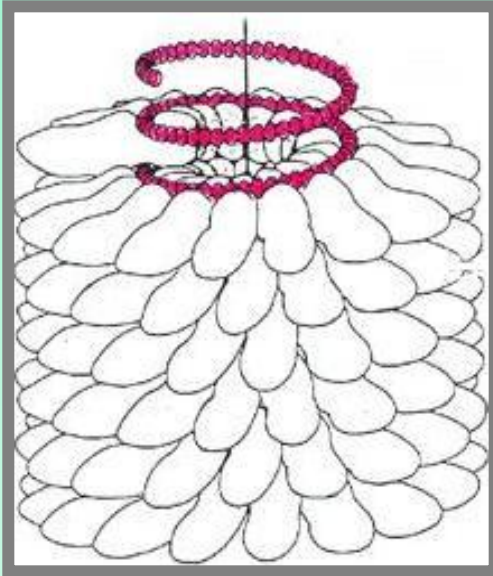
Poxvirus



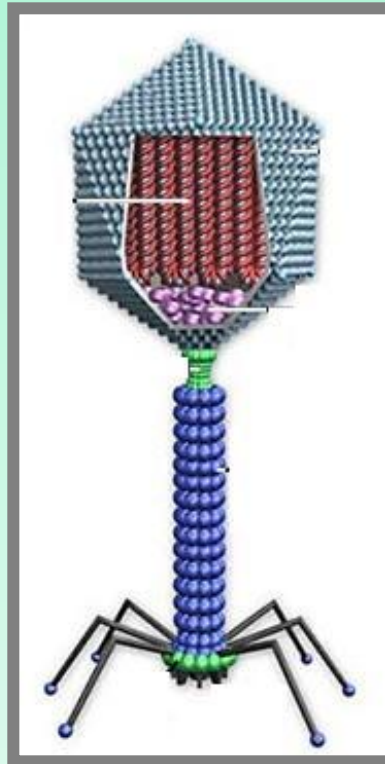
Complex
240x300 nm

Симметрия капсида

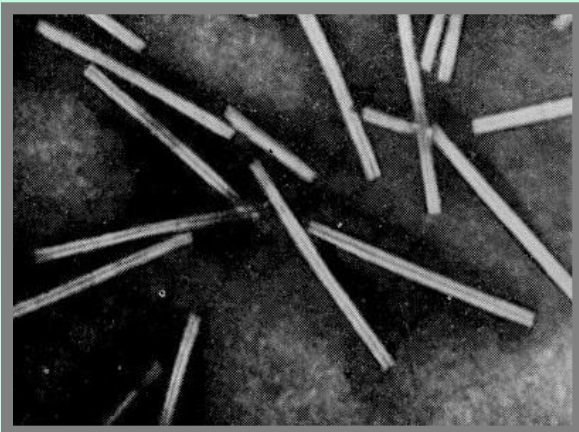
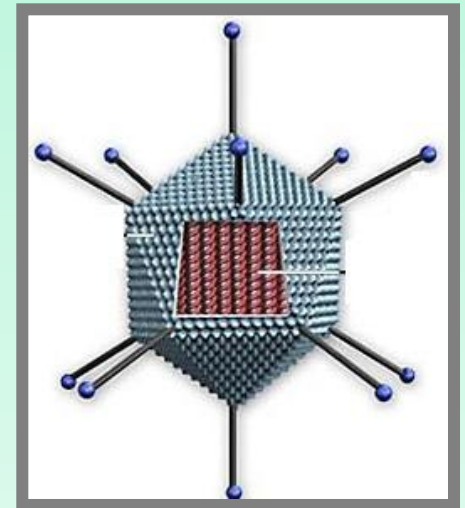
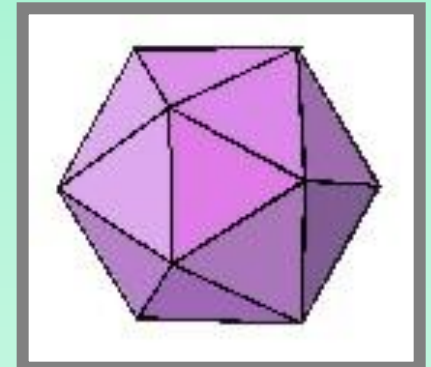
Спиральная



Смешанная



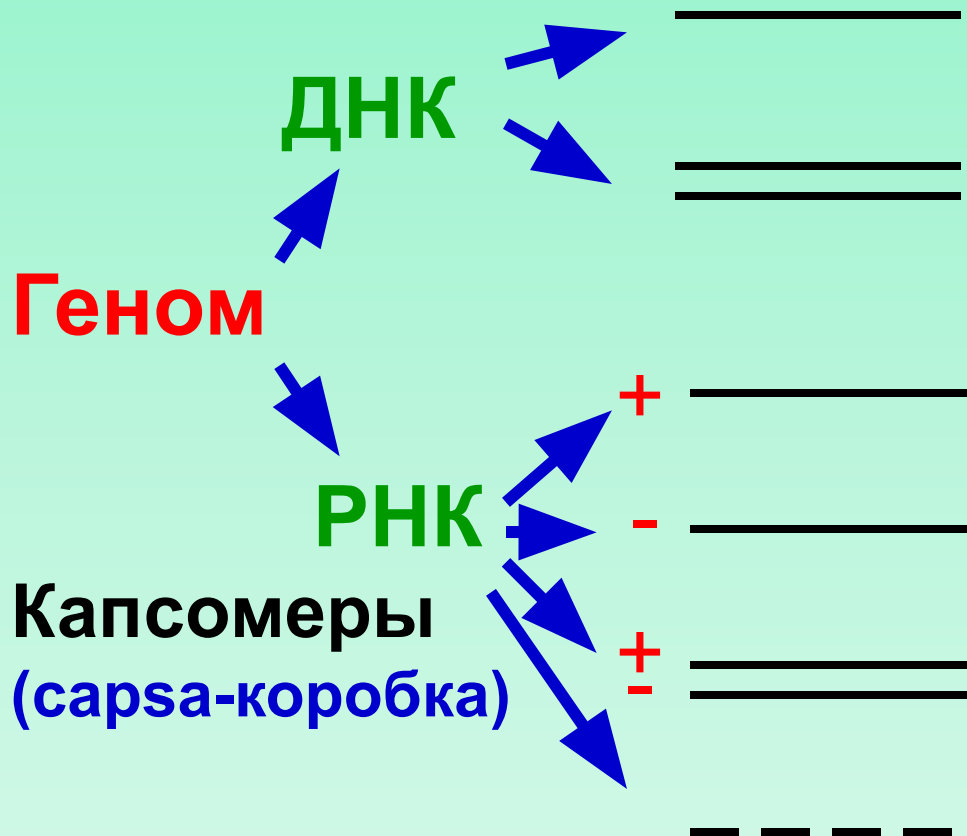
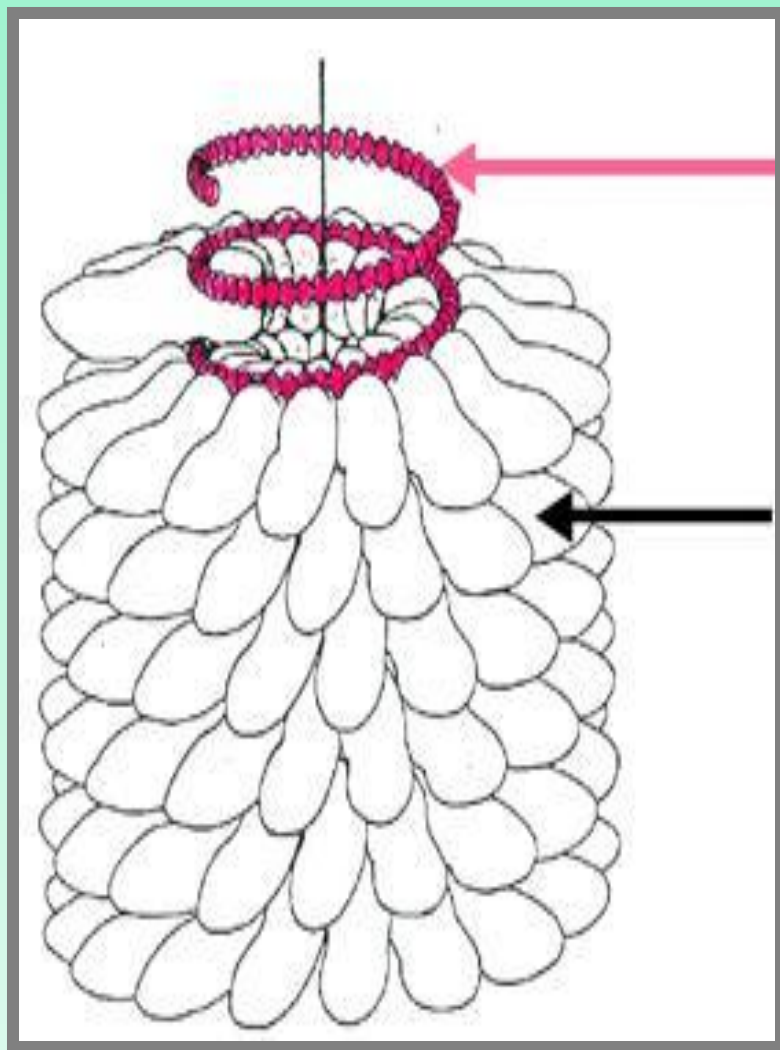
Кубическая
(Икосаэдрическая)



Тип симметрии

- **Спиральный – вирус гриппа, коронавирусы**
- **Икосаэдрический – вирус герпеса**

Строение вириона



Строение вирионов

Вирус – нуклеокапсид:

- ◆ нуклеиновая кислота,

- ◆ капсид

(белковые субъединицы – *капсомеры*)

Вирусы



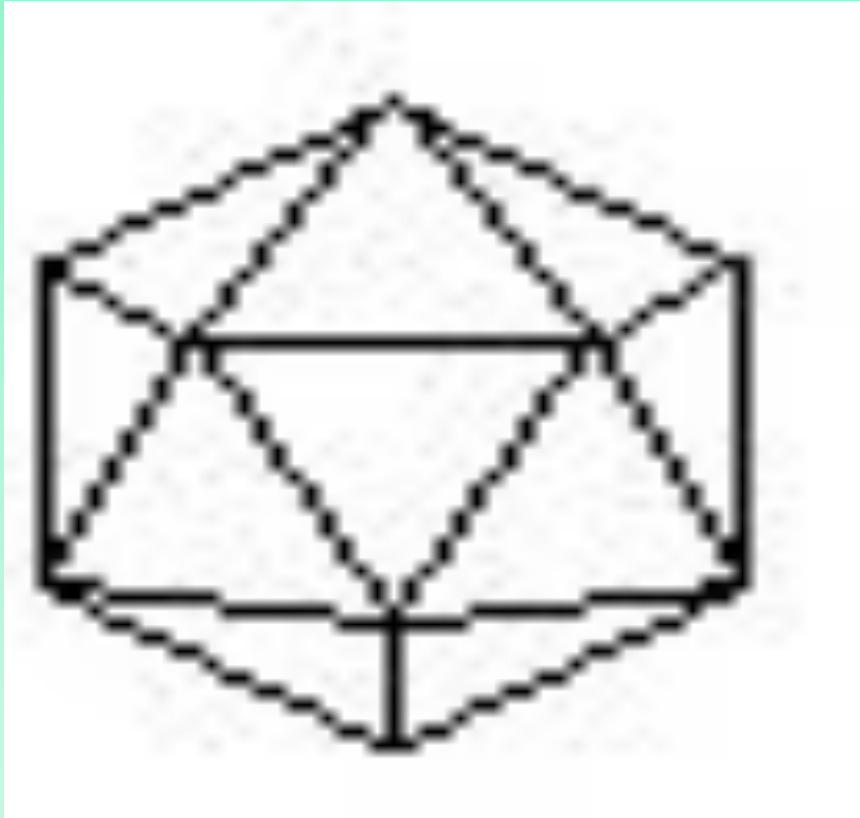
Простые

- нуклеиновая кислота
- белковая оболочка

Сложные

- нуклеиновая кислота
- белковая оболочка
- липиды
- углеводы
- компоненты клетки хозяина (суперкапсид).

Строение вириона



Простой:

НК+белковая
оболочка (*капсид*) -
нуклеокапсид

Сложный:

нуклеокапсид+липопротеино
вая оболочка - *суперкапсид*

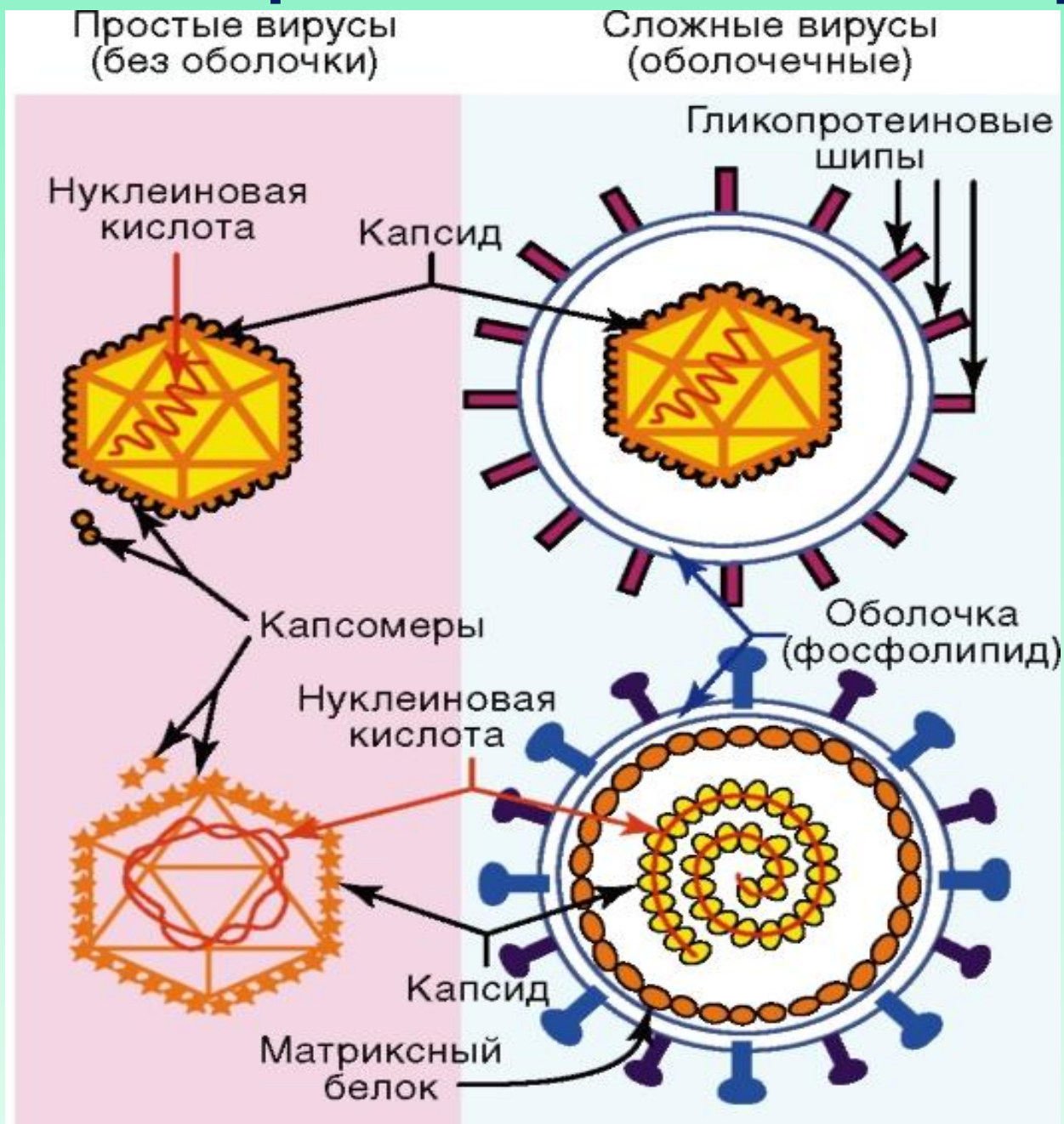
Сложные вирусы

Суперкапсид (пеплос) – мембранная двойная липопротеиновая оболочка.

Приобретается путем почкования вириона через мембрану клетки (плазматическую, ядра, ЭПР).

Гликопротеиновые шипы – пепломеры.

Строение простых и сложных вирусов



СХЕМАТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВИРУСА ГРИППА

Ø 80-120 нм

Нуклеокапсид

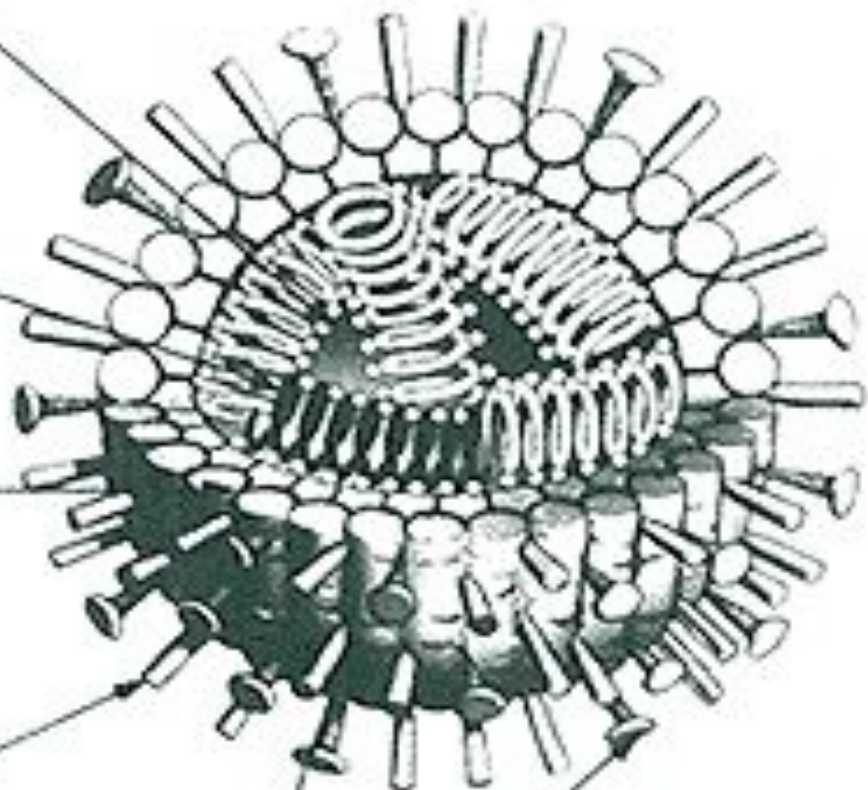
РНК,
несущая
генетическую
информацию

Белковые
субъединицы

Гемагглютинин

Оболочка со специфичными
антигенами, образованная
частично из клеточных
элементов хозяина

Нейраминидаза



Химический состав вирусов

- ДНК или РНК
- Белки- из 16-20 аминокислот:
 - *капсидные*
 - *внутренние*
- Липиды и углеводы
- Ферменты вирусов – *нейраминидаза, фосфатаза, лизоцим, гиалуронидаза*

Белки вирусов

обладают видовой специфичностью - обуславливают антигенные и иммуногенные свойства вирионов.

Капсид и суперкапсид:

защищают нуклеиновую кислоту от воздействия окружающей среды, нуклеиновую кислоту от деградации;

участвуют в избирательном прикреплении (*адсорбции*) рецепторными белками к клеткам хозяина;

устойчивы к действию протеолитических ферментов:

Репродукция вирусов

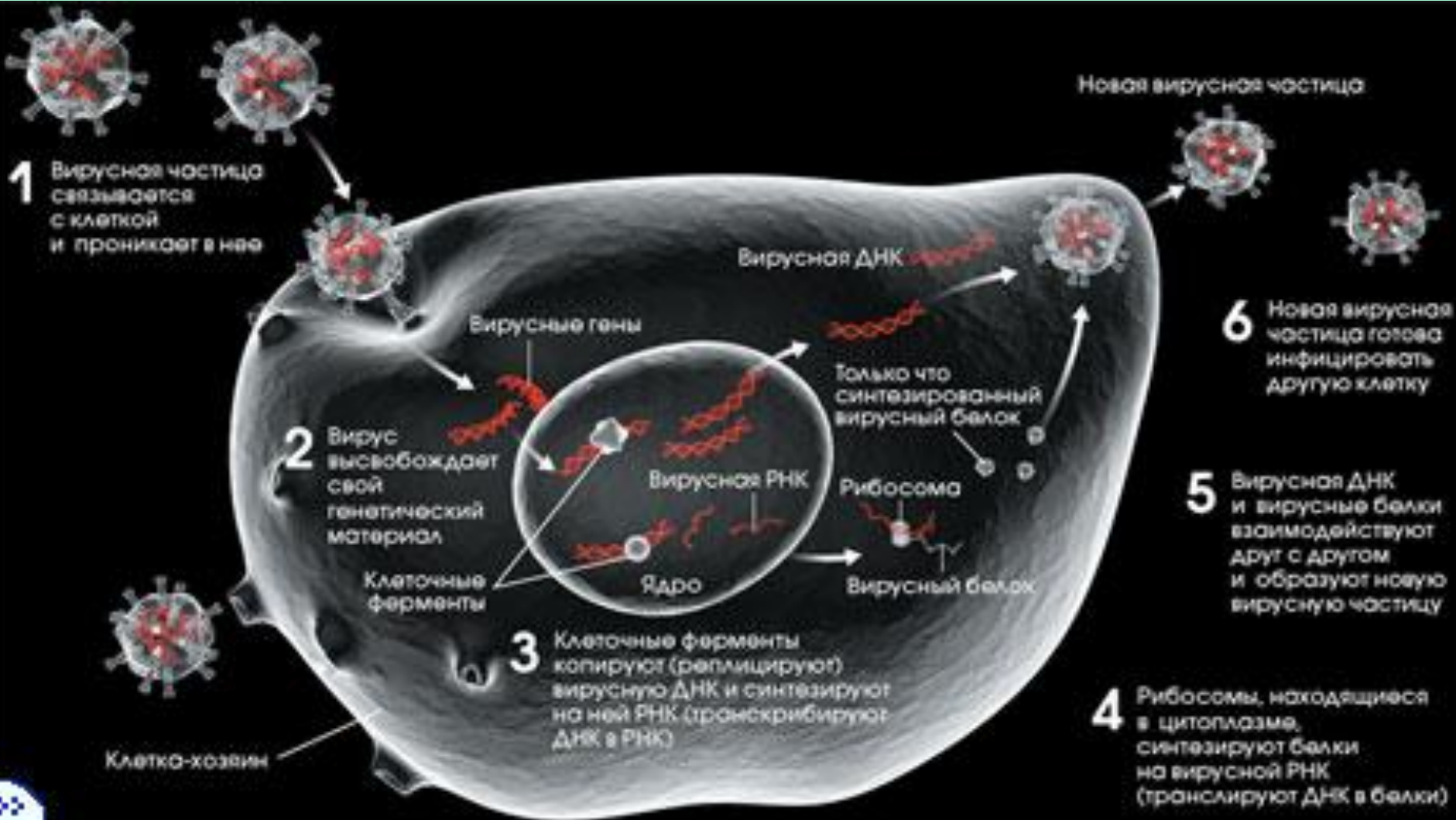
- **Внутри живой клетки-хозяина.**
- **Нуклеиновые кислоты и белки синтезируются клеткой-хозяином *раздельно* в разных частях клетки - *разобщиенная* или *дисъюнктивная* репродукция.**

Репродукция вирусов

1. Адсорбция вируса на поверхности клетки
2. Проникновение внутрь
3. «Раздевание» вирионов
4. Синтез компонентов вириона
5. Сборка вириона
6. Выход вириона из клетки



Продуктивное взаимодействие «вирус-клетка» чаще носит литический характер, то есть заканчивается гибелью инфицированной клетки, что происходит после полной сборки дочерней популяции и выхода вирусов из клетки.



Адсорбция вириона на клеточной мембране

- прикрепление к клеточной мембране в результате взаимодействия поверхностных прикрепительных белков вируса с мембранными рецепторами клеток хозяина;

В основе *тропизма* – избирательности поражения вирусами определенных клеток, тканей и органов лежат *специфичность* рецепторов поражаемой клетки и *возможность* в ней *репродуктивного* цикла вируса (*пермиссивные условия клетки*).

Вирусы, репродуцирующиеся в клетках печени – *гепатотропные*, в нервных клетках – *нейротропные*, в иммунокомпетентных клетках – *иммунотропные*.

Способы проникновения вирусов в чувствительные клетки

- *виropексис* (рецепторный эндоцитоз)
- *слияние* вирусной оболочки и клеточной мембраны

Проникновение вирионов в клетку:

- ***Виропексис*** - проникновение в результате *инвагинации* участка плазматической мембраны и образования вакуоли с вирусной частицей (в области ямок с белком клатрином).
- ***Слияние мембран*** - за счет белка слияния суперкапсид вириона интегрирует с клеточной мембраной, а нуклеокапсид попадает в цитоплазму клетки.

Рецепторзависимый эндоцитоз

В результате захватывания и поглощения вириона клеткой - клеточная мембрана с прикрепленным вирионом впячиваются, образуя **эндосому** (внутриклеточная вакуоль).

Содержимое эндосомы закисляется - ЛПО сложного вируса сливается с мембраной эндосомы – вирусный нуклеокапсид выходит в цитозоль клетки. Эндосомы объединяются с лизосомами, которые разрушают оставшиеся вирусные компоненты.

Слияние оболочки вириона с клеточной мембраной

Только для некоторых оболочечных вирусов – герпесвирусов, парамиксовирусов, ретровирусов.

У них имеются белки слияния с липидами клеточной мембраны – вирусная ЛПО интегрирует с клеточной мембраной, внутренний компонент вируса попадает в цитозоль клетки.

Проникновение безоболочечных вирусов

- мембранный прокол – вирион образует пору в мембране, геном попадает в цитозоль, а капсид остается за пределами;
- перфорация – капсид переносится через мембрану без основного лизиса мембраны;
- лизис – вирионы индуцируют поломку мембраны ЦПМ органелл – вирус проникает в цитозоль.

Выход из клетки

Простые вирусы

- Взрывной путь
- Гибель клетки

Сложные вирусы

- Почкование (экзоцитоз)

Типы взаимодействия вируса с клеткой

- продуктивный тип – активная репродукция новых вирионов с выходом из клетки;
- абортивный тип – образование вирионов внезапно прерывается на какой-то стадии;
- интегративный (вирогения) – встраивание (интеграция) нуклеиновой кислоты вируса в ДНК клетки-хозяина (клетка приобретает ряд новых свойств - могут возникнуть аутоиммунные хронические заболевания, опухоли). Сосуществование вируса и клетки хозяина – *вирогения*.

Культивирование вирусов

Виды культур клеток

- Неперевиваемые клетки (in vitro не размножаются).
- Полуперевиваемые клетки (50 генераций).
- Перевиваемые (раковые клетки или нормальные клетки зародыша).

Критерии:

- Цитопатическое действие (ЦПД)
- Включения
- Образование бляшек
- Гемадсорбция
- “Цветная” проба.

Влияние факторов окружающей среды

- **при действии высоких T большинство вирусов инактивируется (вирус гепатита – термоустойчив);**
- **к низким T вирусы не чувствительны;**
- **УФ солнечные лучи инактивируют вирусы;**
- **устойчивы к глицерину;**
- **устойчивы к антибиотикам;**
- **кислоты, щелочи, дезинфицирующие ве-ва инактивируют вирусы**

Основные пути передачи вирусов

- ***воздушно-капельный*** (грипп, оспа);
- ***пищевой*** (полимиелит, гепатит А),
- ***контактно-бытовой*** (бешенство),
- ***трансмиссивный*** (энцефалит).

Выделение вирусов в окружающую среду

- со слюной – вирус бешенства,
- с отделяемым слизистой носоглотки – вирус гриппа,
- с калом – вирус полимиелита и др. энтеровирусы

Рис. 2. Герпесвирус (слева),
вирус гепатита В (справа) (электронная микроскопия)

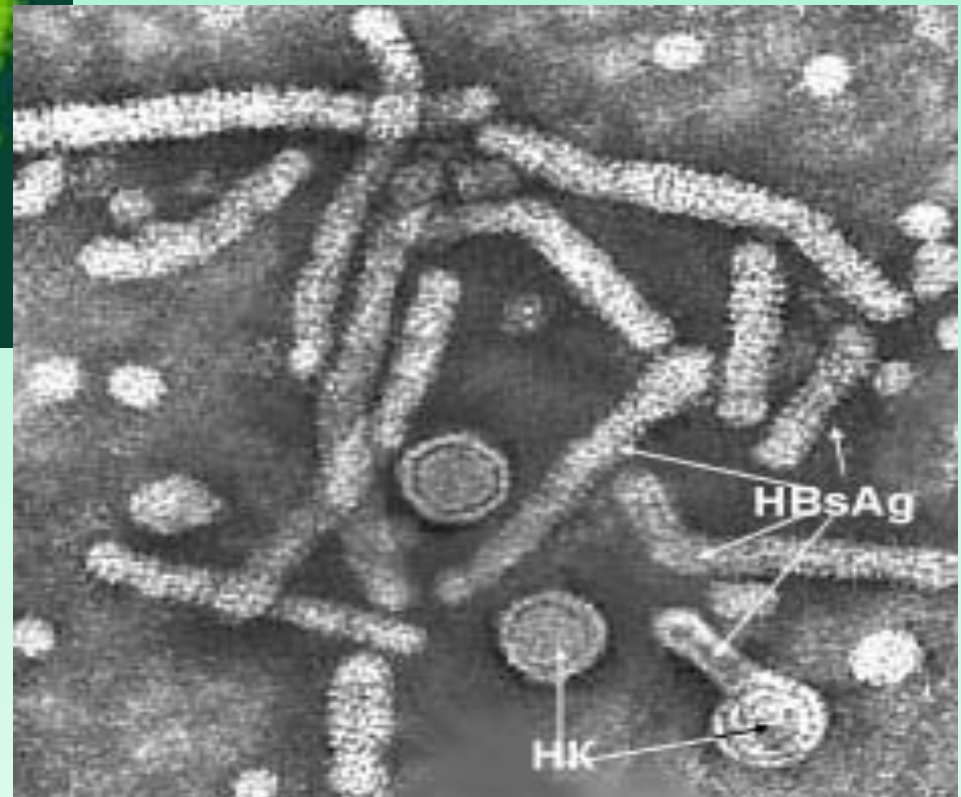
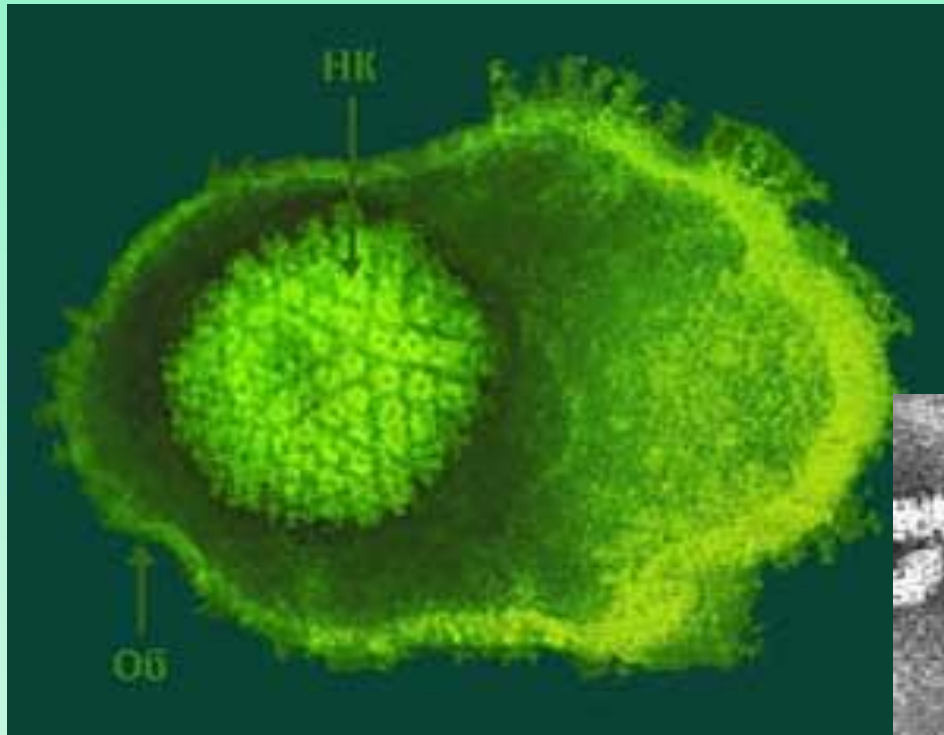
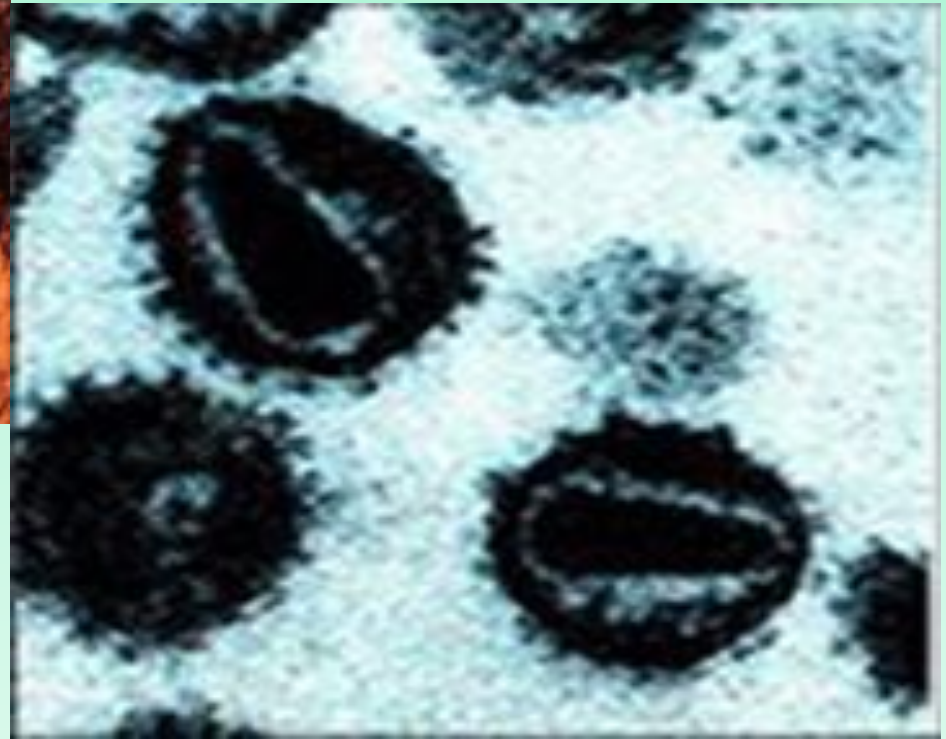
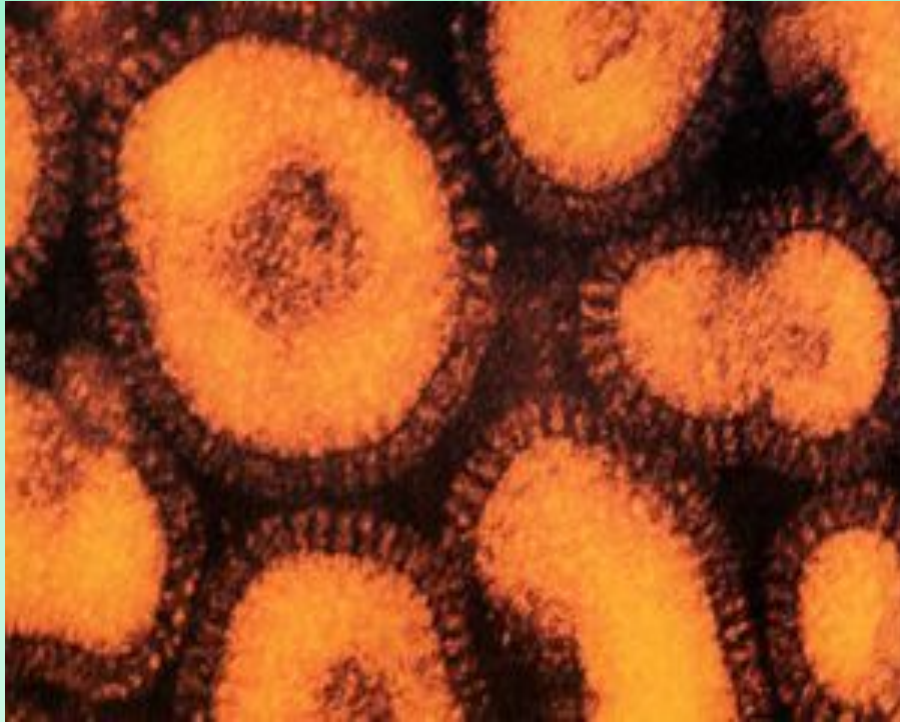


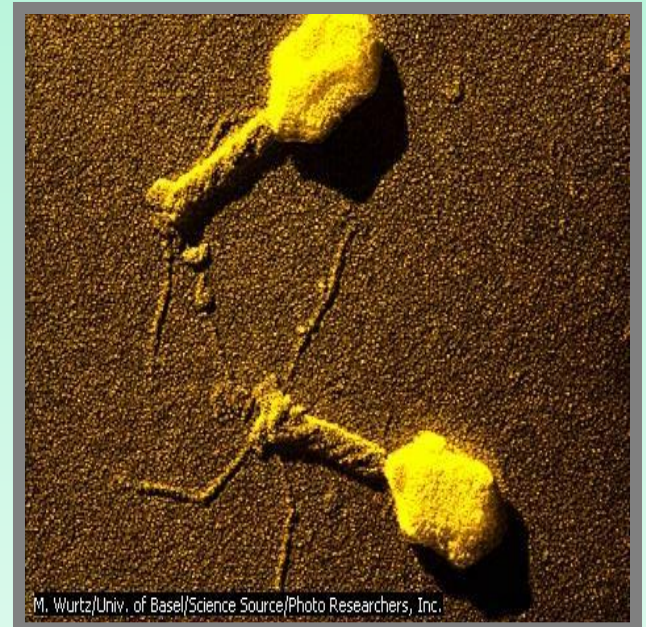
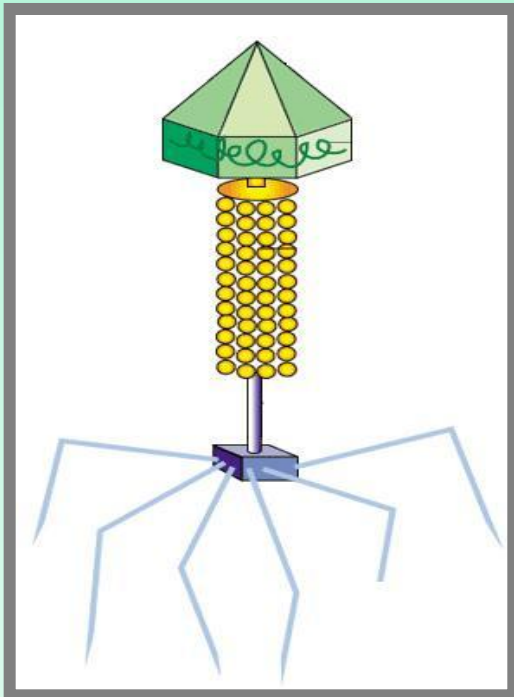
Рис. 3. Вирус гриппа (слева), вирус иммунодефицита человека (справа) электронная микроскопия



Бактериофаги – вирусы бактерий

- 1898 г. Н.Ф. Гамалея – лизис сибиреязвенных бацилл,
- 1915 Ф. Туорт – лизис стафилококков, первый описал.
- 1917 д'Эрелль – ввел термин «бактериофаг» (phagos – пожирающий).

20-200 нм

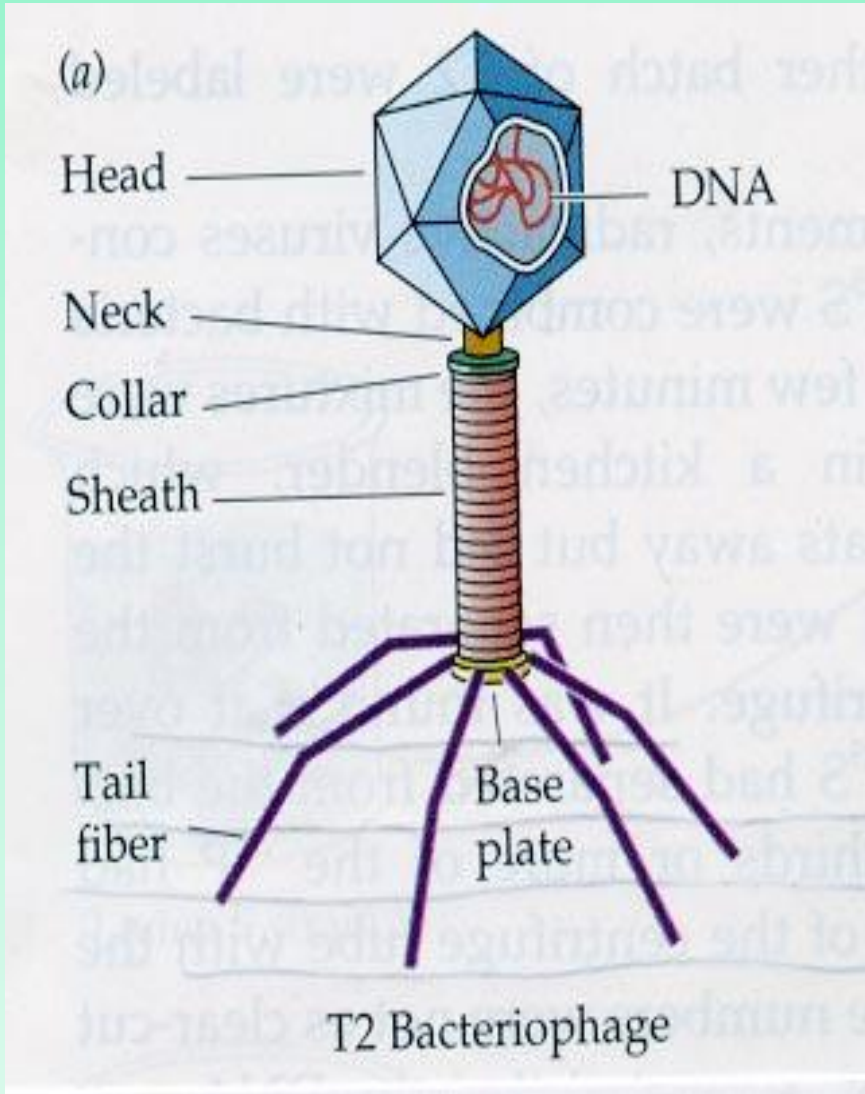


Свойства фагов

Способны:

- размножаться,
- передавать потомству свойства,
- изменяться под воздействием различных факторов,
- являются паразитами,
- обладают строгой специфичностью

Строение фагов



- Головка,
- Хвостовой отросток (стержень и чехол),
- Базальная пластина,
- Шипы, фибриллы.

Литические ферменты -

- ЛИЗОЦИМ,
- фосфатаза
- гиалуронидаза и др.

Специфичность фагов

Видовая специфичность:

**стафилококковый, стрептококковый,
холерный, дизентерийный и др.**

- ❖ *Моновалентные,*
- ❖ *Типовые,*
- ❖ *Поливалентные*

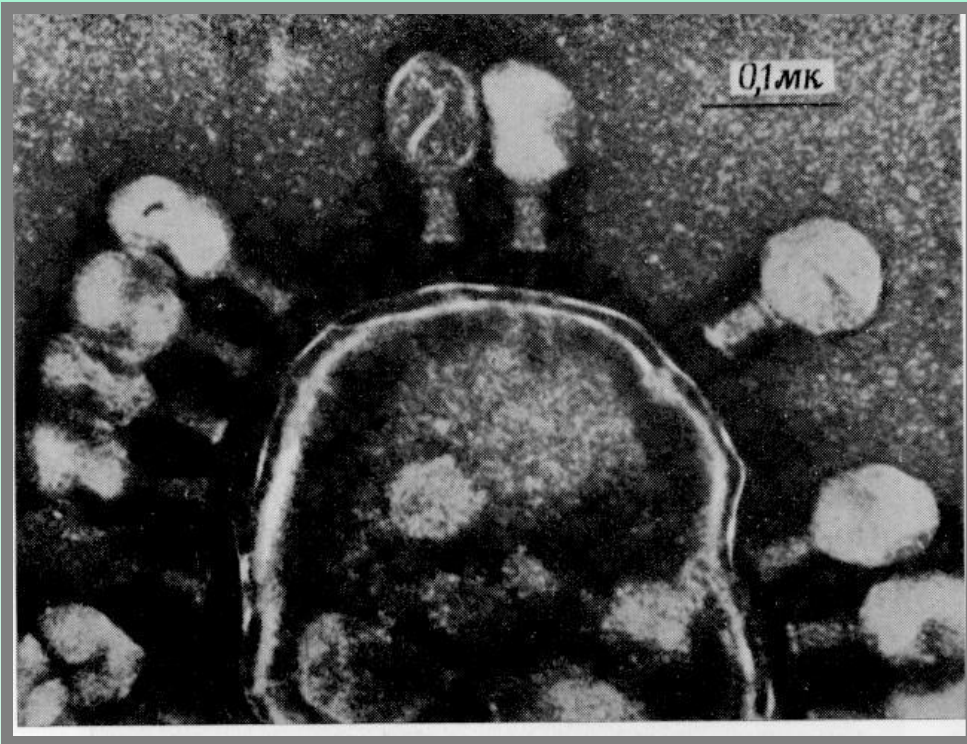
Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой - бактериофагия

- *адсорбция (специфична)*
- *проникновение (инъекция),*
- *репродукция белка и нуклеиновой кислоты,*
- *сборка и формирование зрелых частиц фага,*
- *лизис клетки и выход зрелых частиц («изнутри»).*

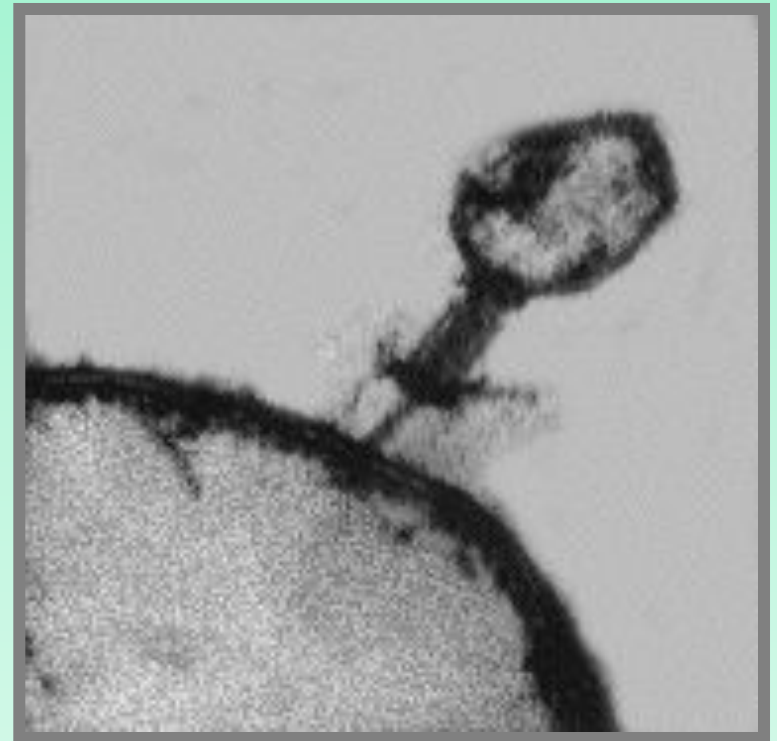
Лизис «извне» - большое количество фагов адсорбируется на клетке.

Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой

- Адсорбция бактериофага



- Внедрение



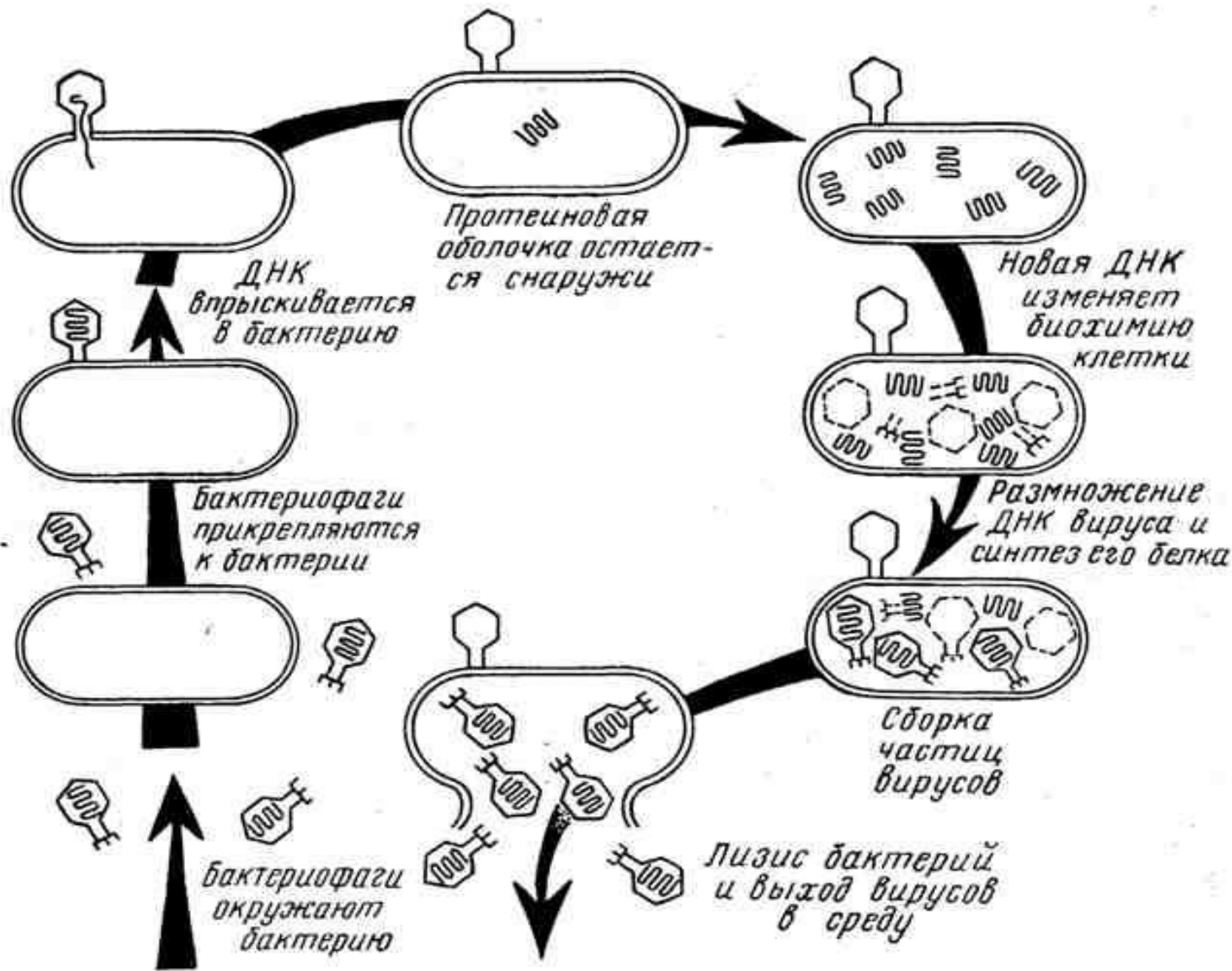
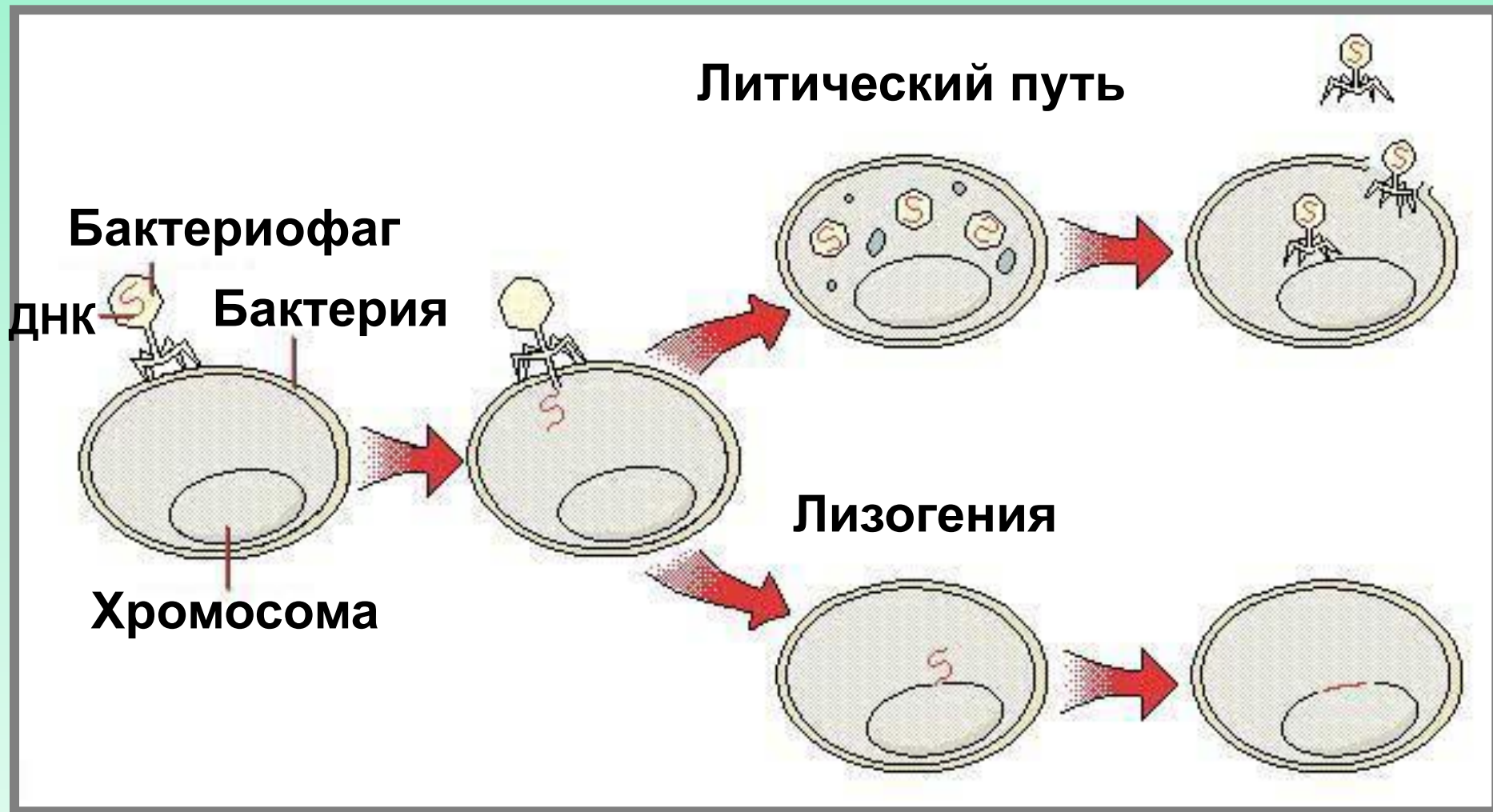


Рис. 81. Схема внедрения и размножения частицы фага в клетке бактерии.

Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой

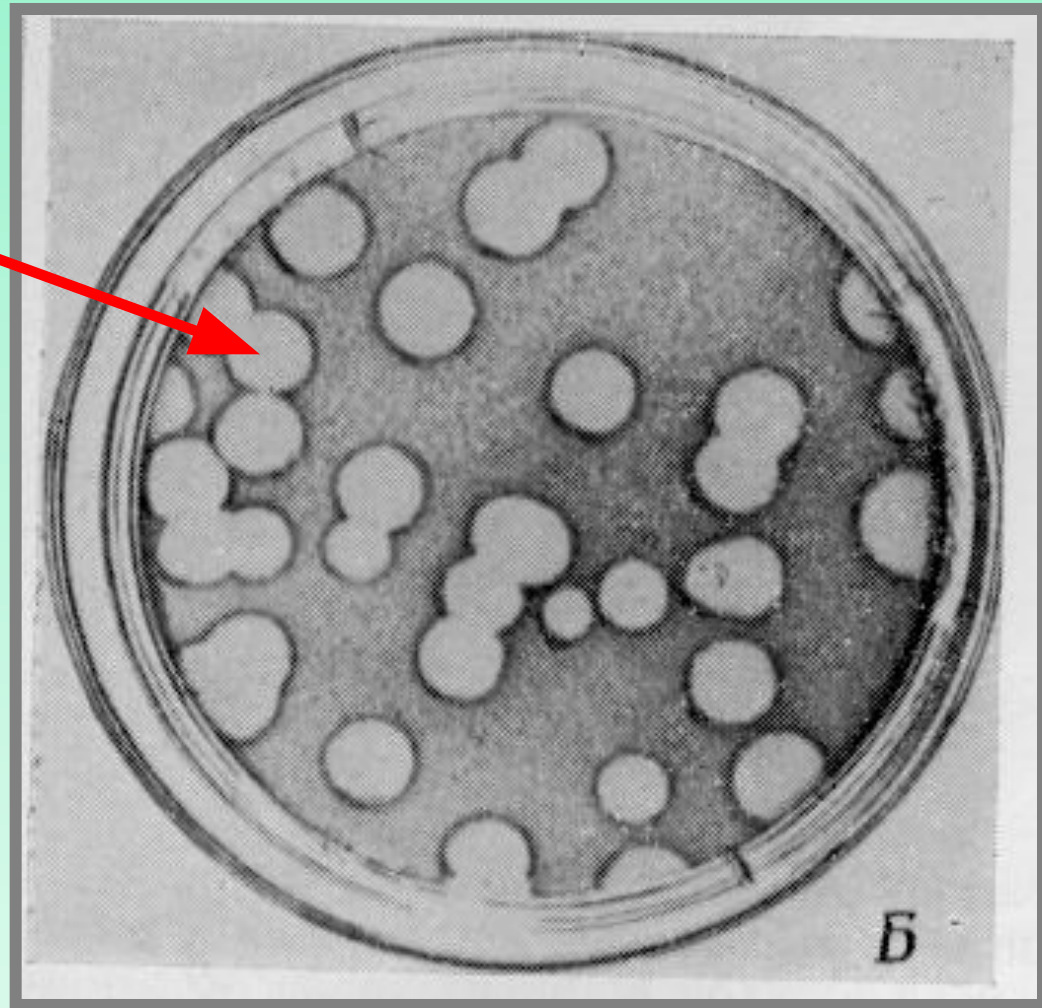
- Синтез ДНК и белка

- Формирование



Качественный метод

Зоны лизиса



По характеру действия на микроорганизмы:

- ***вирулентные фаги,***
- ***умеренные фаги.***

Вирулентные фаги - проникают в клетку, воспроизводятся в ней и вызывают ее лизис с выходом большого количества фагов.

Умеренные фаги - проникают в клетку и встраиваются в хромосому бактерии (***профаг***), лизис при этом не происходит – ***симбиоз - лизогения.***

- ***Фаговая конверсия*** - изменение свойств (образование токсинов и др).
- ***Индукция фага*** - под влиянием УФ лучей и химических веществ профаг может превращаться в вирулентный фаг.

Устойчивость фага

Выдерживают:

- нагревание до 75⁰С,
- длительное высушивание,
- рН 2,0 – 8,0.

- **нечувствительны** к антибиотикам, тимолу, хлороформу и др.
- кислоты и дезинфицирующие вещества – **губительны**.

Применение бактериофагов

Основано на их строгой специфичности

- **фаготипирования** бактерий, т.е. определения фаготипа по лизису штаммов бактерий одного и того же вида типоспецифическими фагами, при эпидемиологическом анализе заболеваний с целью установления их видовой принадлежности;
- **фагодиагностики**, заключающейся в выделении фага из организма больного (например, из испражнений), что косвенно свидетельствует о наличии в материале соответствующих микроорганизмов;
- **фагопрофилактики** - предупреждения некоторых заболеваний (например, дизентерии) среди лиц, находящихся в эпидемическом очаге;
- **фаготерапии** - лечения некоторых инфекционных заболеваний, вызванных, например, шигеллами, протеем, стафилококком.

Применение бактериофагов

Основано на их строгой специфичности

- **Диагностика заболеваний**
(фаготипирование) – **диагностические препараты.**
- **Лечение и профилактика заболеваний** –
лечебно- профилактические препараты.
- **Биотехнология.**
- **Микробиология.**

Лечебно-профилактические препараты бактериофагов

1. Для лечения и профилактики кишечных инфекций:

- **дизентерийный поливалентный,**
- **сальмонеллезный поливалентный групп АВСДЕ,**
- **брюшнотифозный.**

2. Для лечения и профилактики гнойно-воспалительных заболеваний:

- **стафилококковый,**
- **стрептококковый,**
- **синегнойный,**
- **протейный,**
- **клебсиеллезный,**
- **коли-фаг.**

Лечебно-профилактические препараты бактериофагов

3. Комбинированные препараты:

- коли-протейный,
- пиобактериофаг (против стафилококков, стрептококков, клебсиелл, протей, синегнойной и кишечной палочек),
- интести–бактериофаг (против шигелл, сальмонелл, стафилококков, энтерококков, кишечной и синегнойной палочек, протей).

Механизм действия препаратов бактериофагов

- лизис (гибель) бактерий в очаге воспаления;
- стимуляция иммунитета.

Способ применения препаратов бактериофагов

- ***местно*** - аппликации на раневую или ожоговую поверхность,
- ***введением в полости*** (брюшную, плевральную, суставную, мочевого пузырь),
- ***через рот***,
- ***ректально.***

Лекарственные формы

- **жидком виде,**
- **таблетках с пектином или
кислотоустойчивым покрытием,**
- **мазях,**
- **свечах,**
- **аэрозолях.**

Преимущества действия препаратов бактериофагов

- 1) специфичность действия (вызывают гибель определенного вида бактерий);
- 2) не подавляют нормальную микрофлору организма человека, как антибиотики;
- 3) нет противопоказаний и осложнений;
- 4) можно использовать в сочетании с другими лекарственными средствами;
- 5) активны против бактерий, устойчивых к антибиотикам;
- 6) можно использовать для профилактики заболеваний.

Недостатки препаратов бактериофагов

- быстро выводятся из организма;
- срок годности 12 – 24 мес;
- хранятся при температуре +2 - 10°C.

Условия успешного применения бактериофагов:

- **чувствительность возбудителя к данному бактериофагу;**
- **лечение фагами нужно начинать в первые дни заболевания;**
- **вводить препараты нужно в места локализации возбудителя.**

Препараты бактериофагов -

высокоэффективное и перспективное средство экстренной терапии гнойно-септических и кишечных инфекций:

- отсутствие противопоказаний и осложнений,**
- возможность использования в сочетании с другими средствами, в том числе антибиотиками,**
- активность в отношении антибиотикорезистентных штаммов,**
- адаптация бактериофагов к современным возбудителям.**

Вопросы по теме занятия

- **Дайте определение понятию «фаг».**
- **Укажите, кто впервые наблюдал действие фага; кто открыл фаг и изучил его природу?**
- **Охарактеризуйте природу, химический состав фагов?**
- **Опишите строение фагов.**
- **В чем выражается специфичность действия фага?**
- **Опишите цикл взаимодействия фагов с клетками.**
- **Чем отличается действие вирулентного и умеренного фагов?**
- **Укажите распространение фагов.**
- **Охарактеризуйте отношение фагов к физическим и химическим факторам.**
- **Укажите применение фагов**

Характеристика вирусов. Бактериофаги

Лекция 4