

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

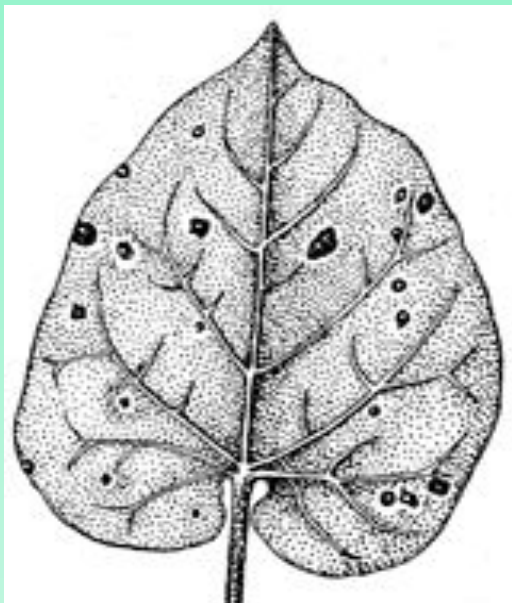
- Краткий очерк развития вирусологии;
- Общая характеристика вирусов;
- Морфология и структура вирусов;
- Классификация вирусов;
- Особенности взаимодействия вируса с клеткой хозяина;
- Культивирование и индикация вирусов;
- Бактериофаги — вирусы бактерий;
- Морфология фагов;
- Строение бактериофагов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

Вирусология – наука о вирусах

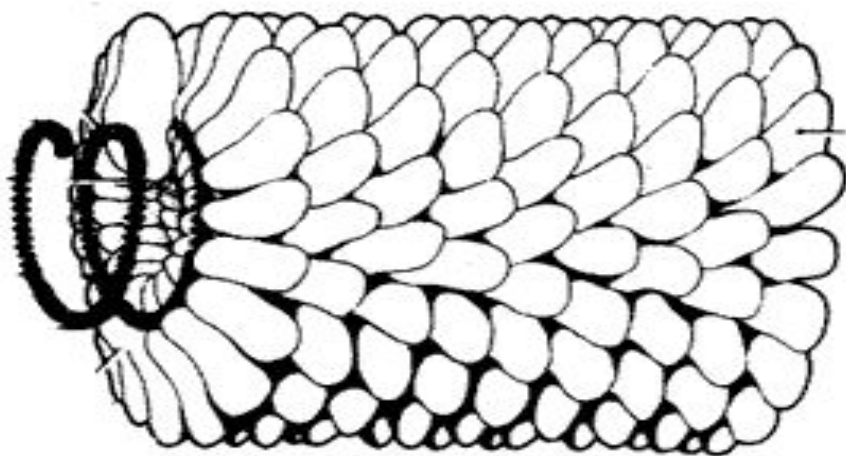


**Д.И.
Ивановский
(1864 – 1920)**
В 1892 г. изучая
мозаичную
болезнь листьев
табака,
установил, что
она вызывается
вирусами.

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

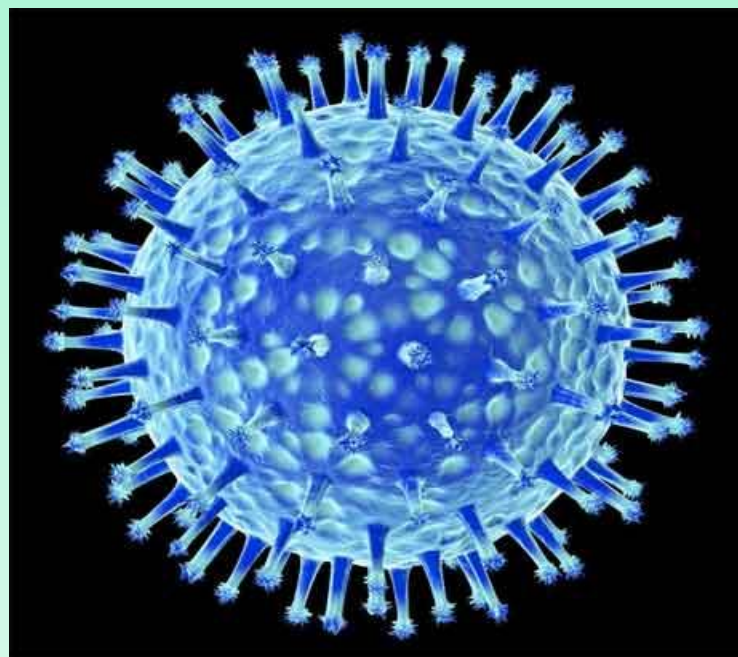
Вирион

Внеклеточная форма

Вирус

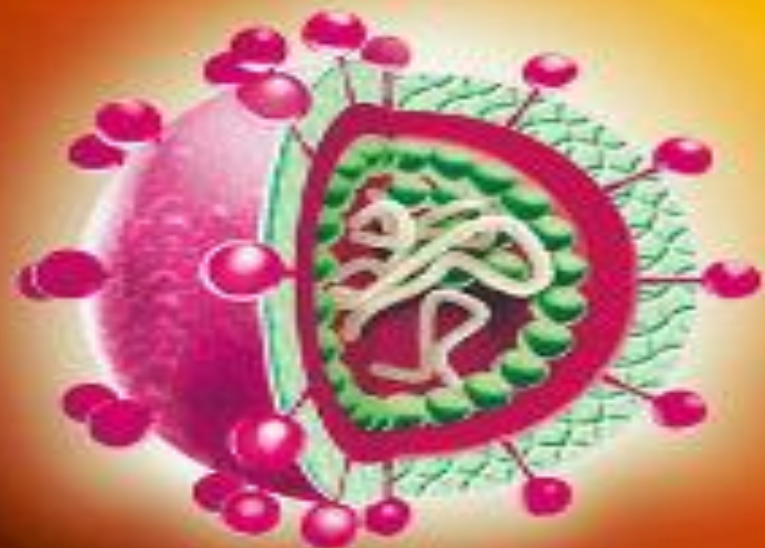
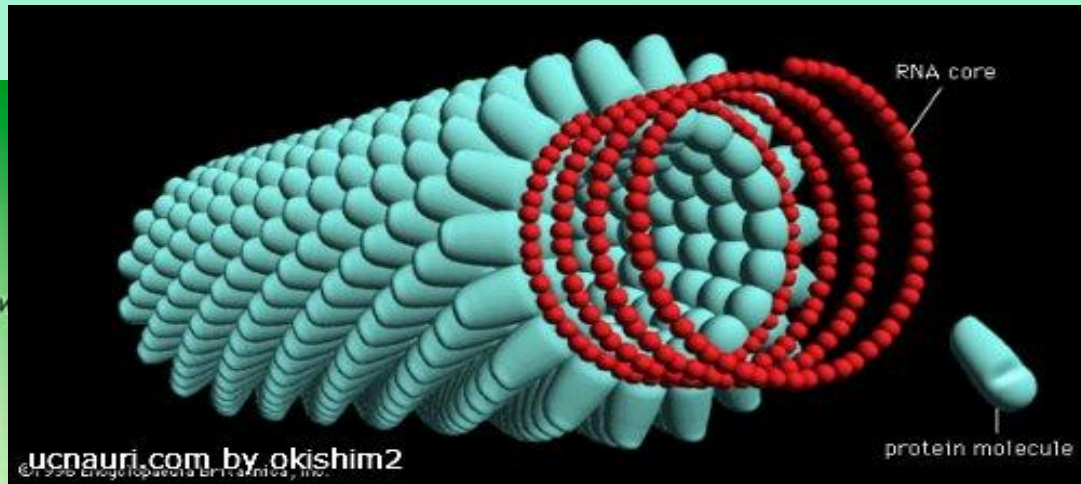
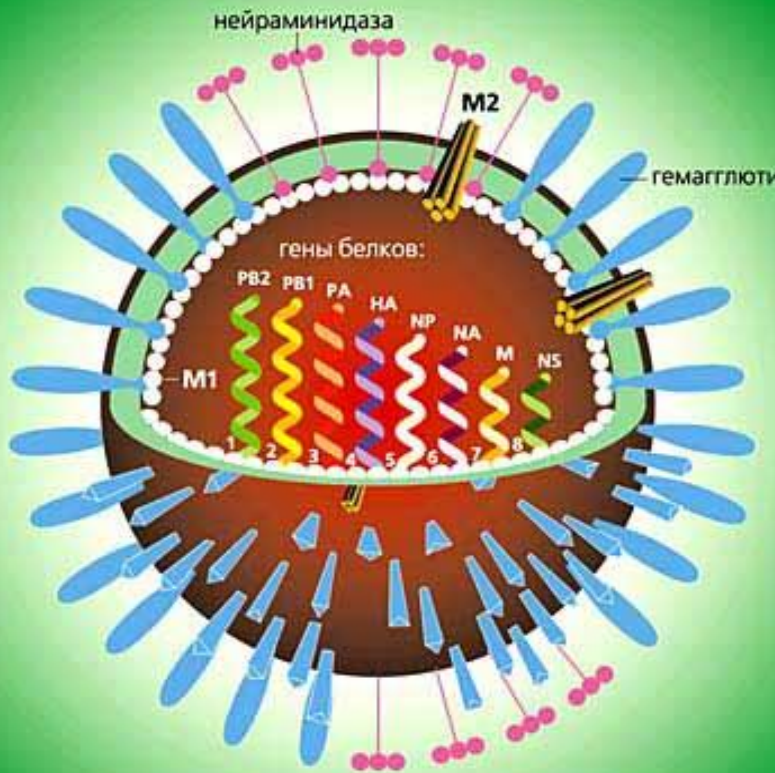
Внутриклеточная форма

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

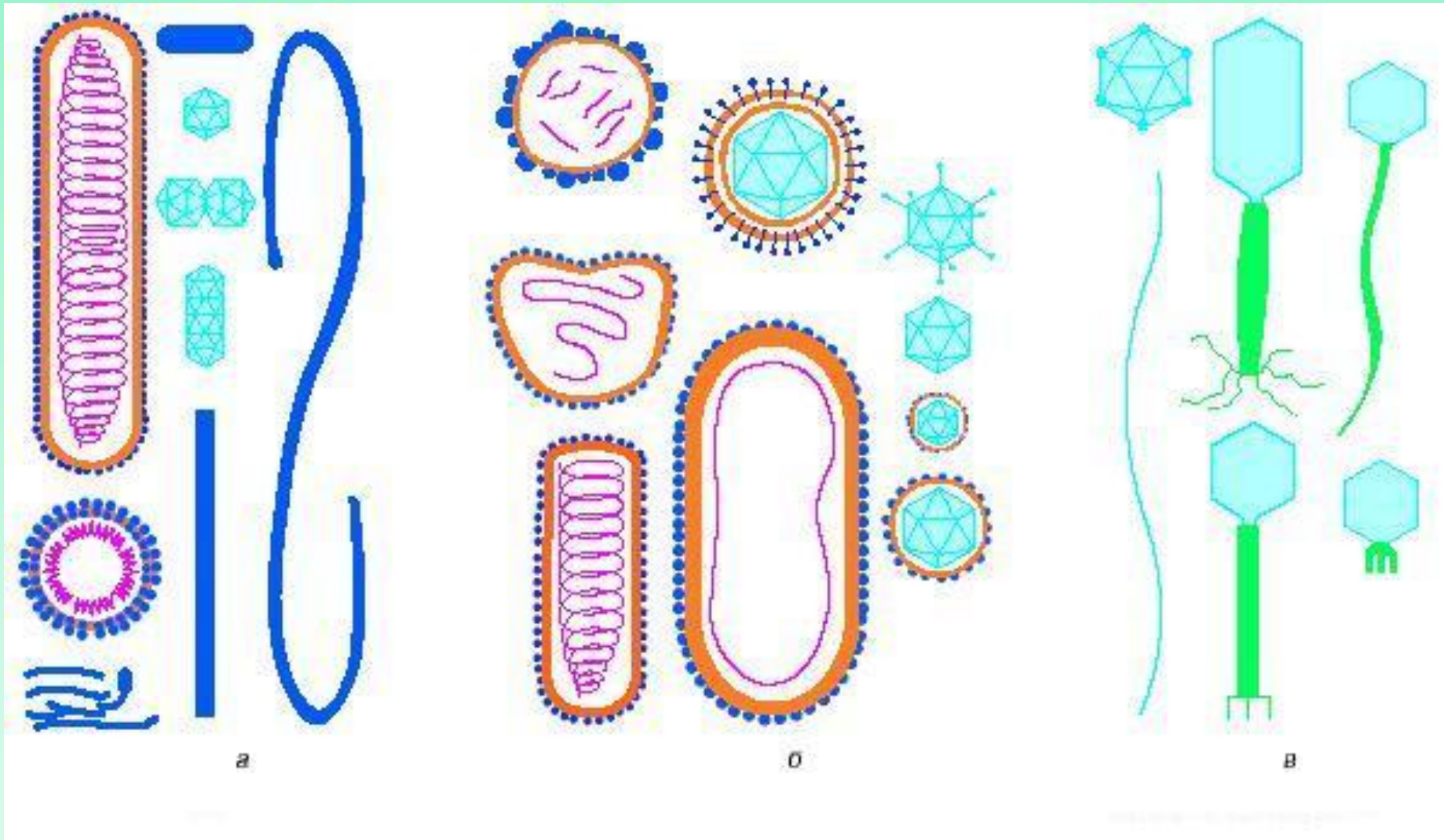


Морфология вирусов

палочковидные, пулевидные, сферические, овалыные, комбинированные.

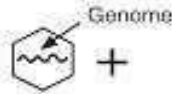


Морфология вирусов



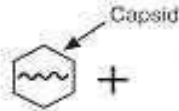
РНК-содержащие

Picornavirus



C = 32
22-30 nm

Astrovirus



C = 32?
30-35 nm

Calicivirus



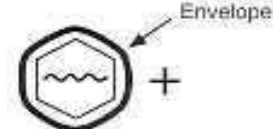
C = 32 (holes)
35-39 nm

Flavivirus



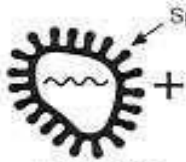
Icosahedral
45-50 nm

Togavirus



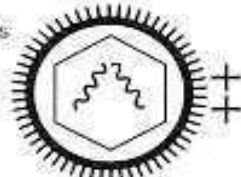
Icosahedral
70 nm

Coronavirus



Pleomorphic
120-160 nm

Retrovirus



Icosahedral
90-120 nm

Reovirus



C = 132
60-80 nm

Bunyavirus



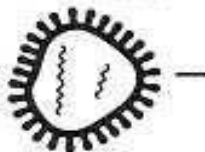
90-120 nm

Orthomyxovirus



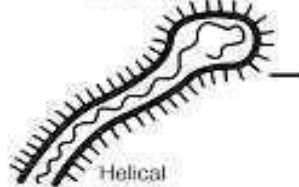
Helical, Pleomorphic
80-120 nm

Arenavirus



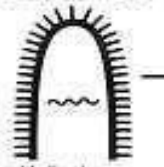
Pleomorphic
110-130 nm

Filovirus



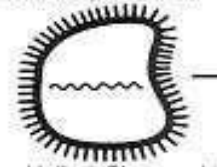
Helical
80x800-2500 nm

Rhabdovirus



Helical
60x180 nm

Paramyxovirus



Helical, Pleomorphic
150-300 nm

ДНК-содержащие

Circovirus



Icosahedral
17-22 nm

Parvovirus



C = 12
18-26 nm

Hepadnavirus



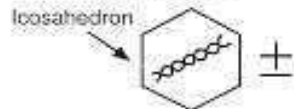
C = 180 Icosahedral
40-48 nm

Papovavirus



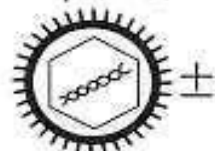
C = 72
45/55 nm

Adenovirus



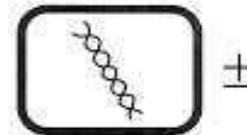
C = 252
75-80 nm

Herpesvirus



C = 162
150-200 nm

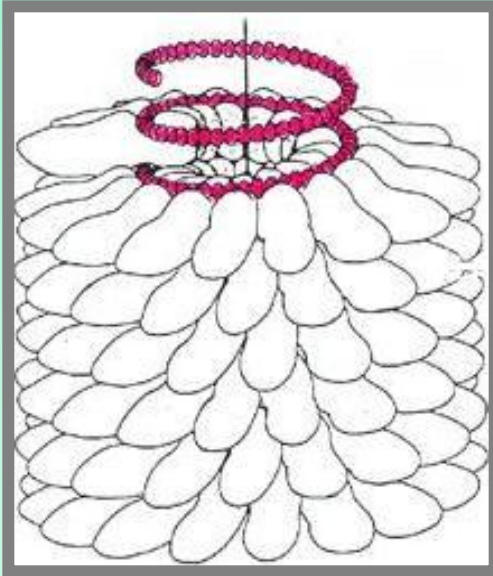
Poxvirus



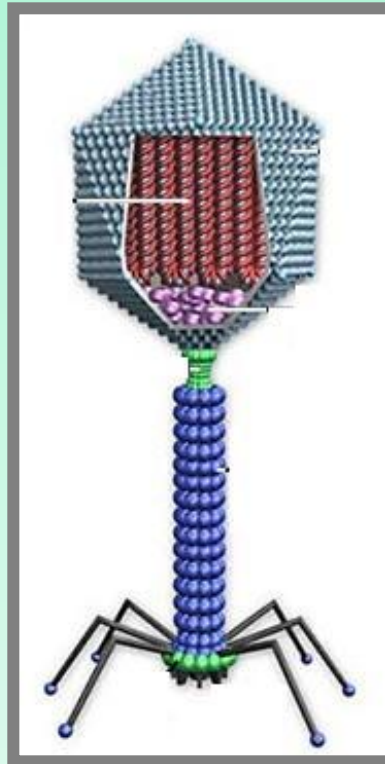
Complex
240x300 nm

Симметрия капсида

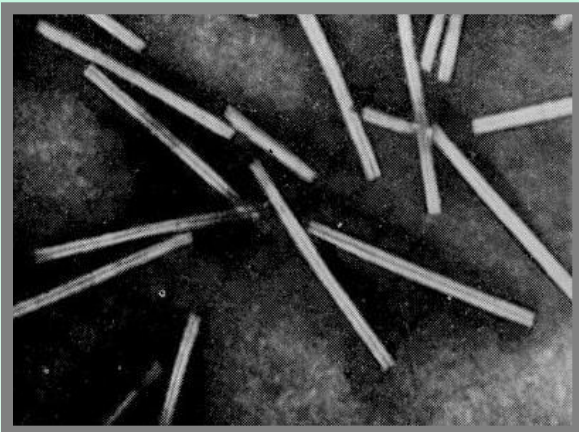
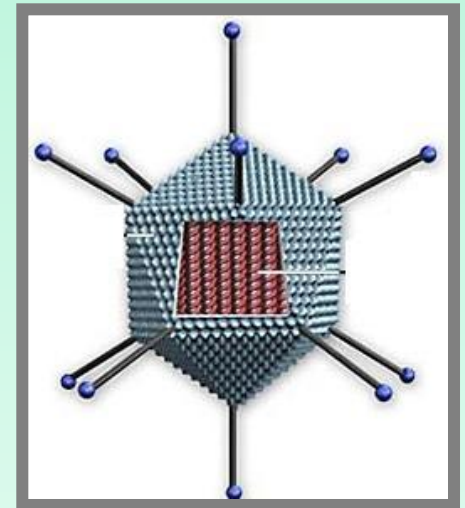
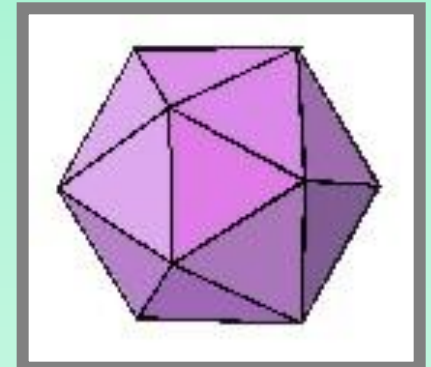
Спиральная



Смешанная



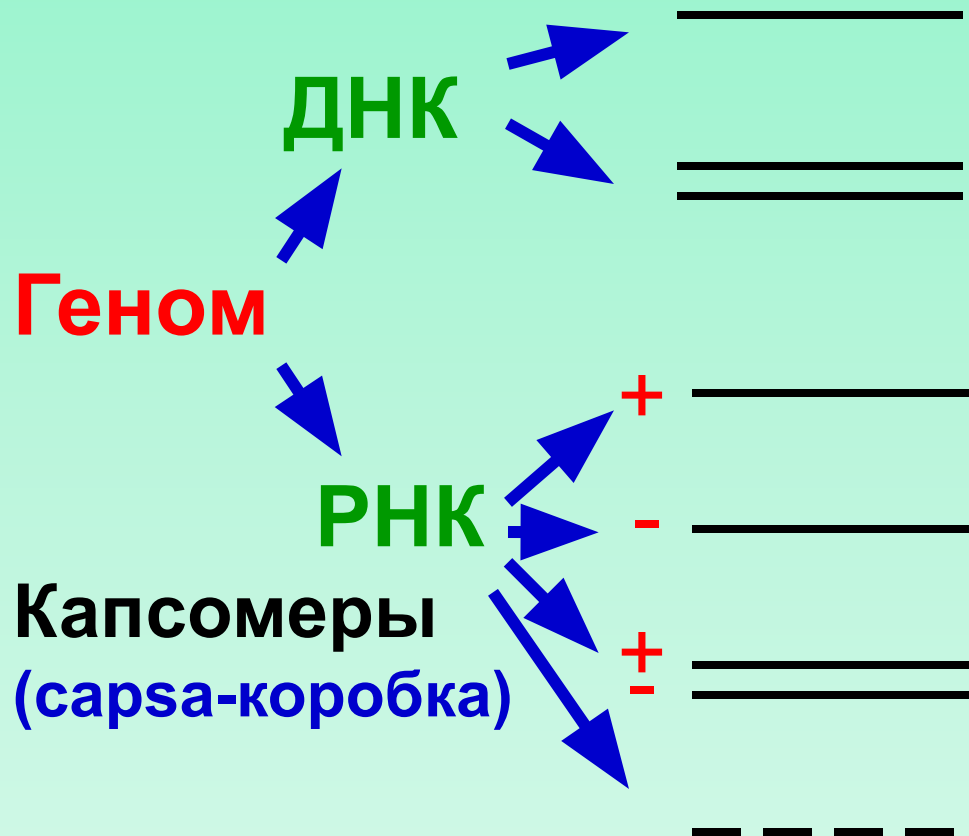
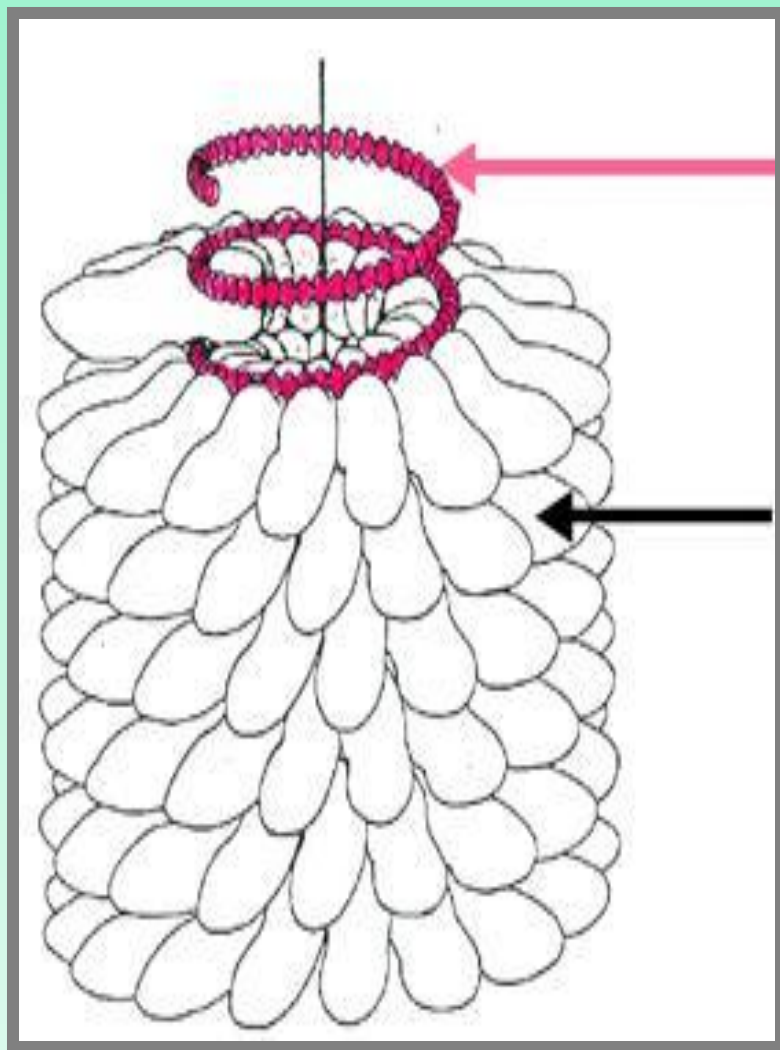
Кубическая
(Икосаэдрическая)



Тип симметрии

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

Строение вириона



Строение вирионов

Вирус – нуклеокапсид:

- ◆ нуклеиновая кислота,

- ◆ капсид

(белковые субъединицы – *капсомеры*)

Вирусы



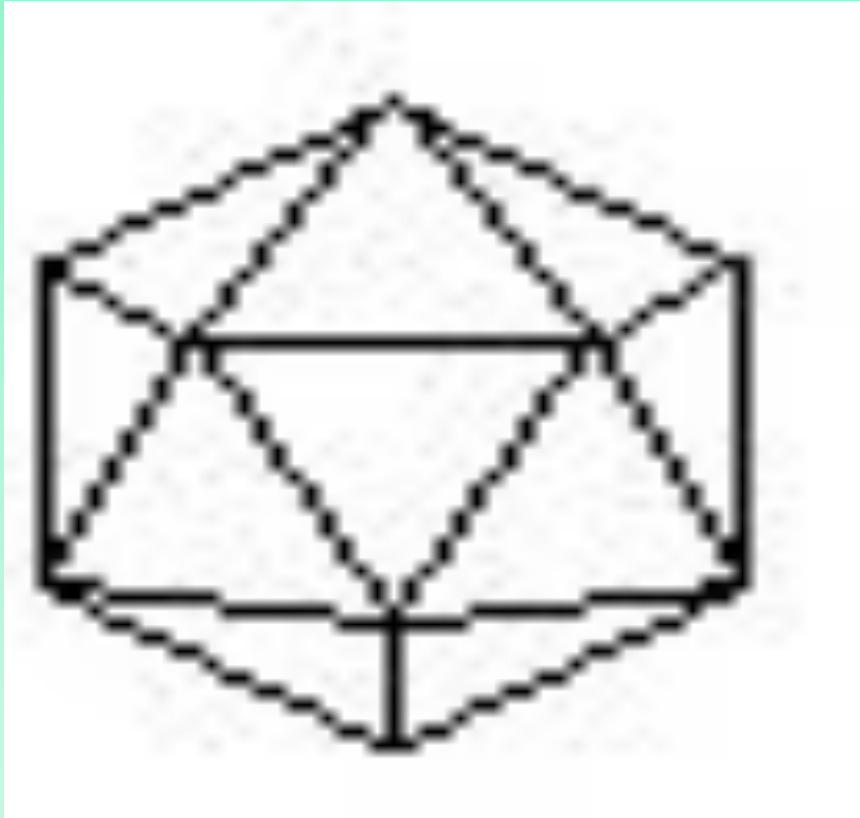
Простые

- 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*

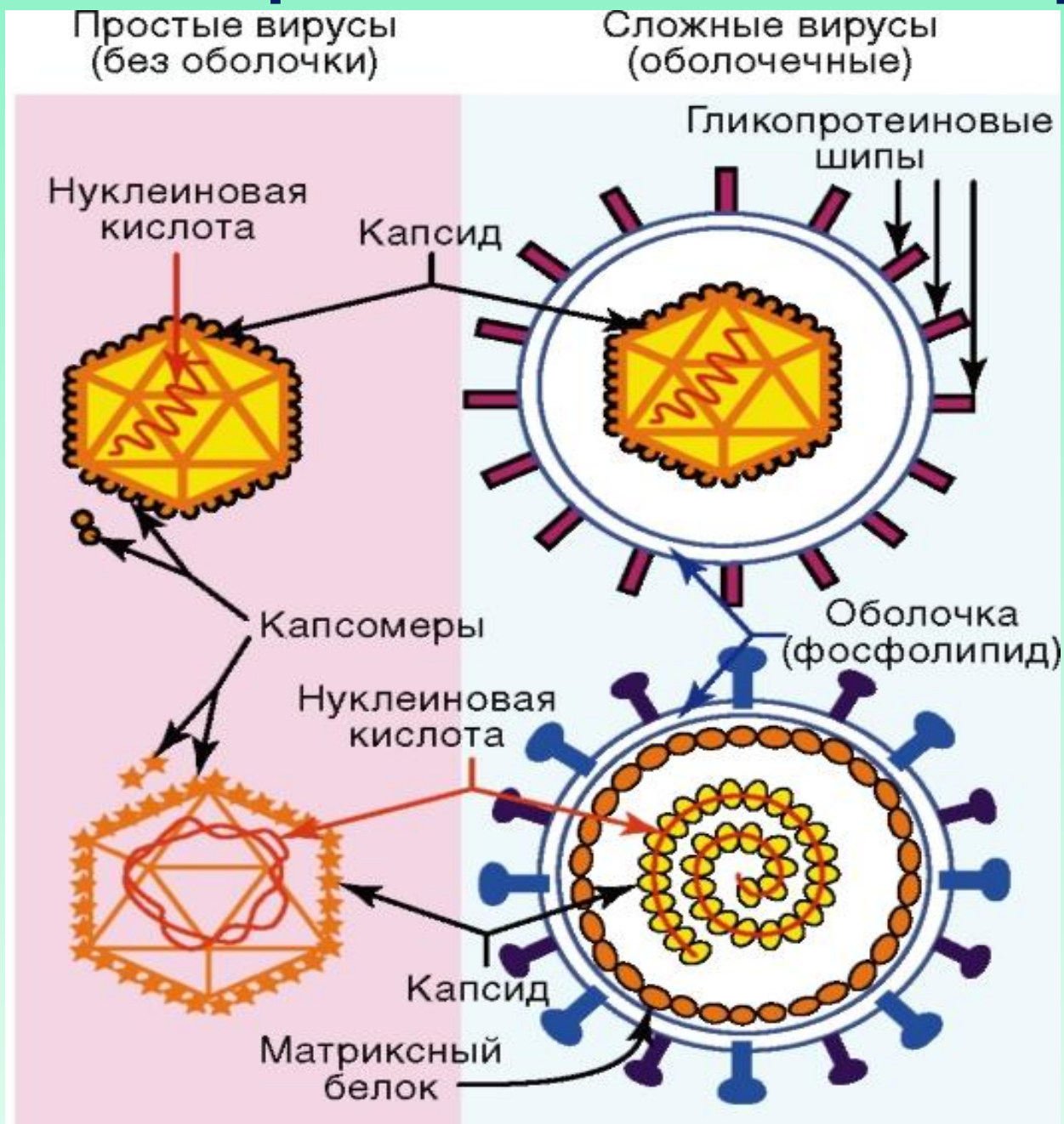
Сложные вирусы

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

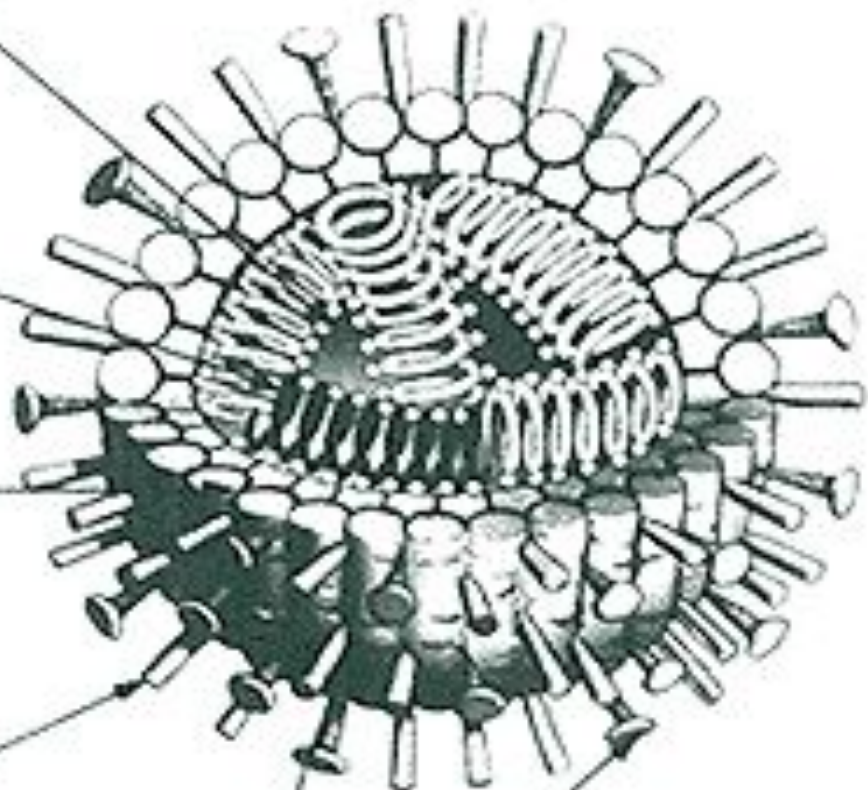
РНК,
несущая
генетическую
информацию

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;

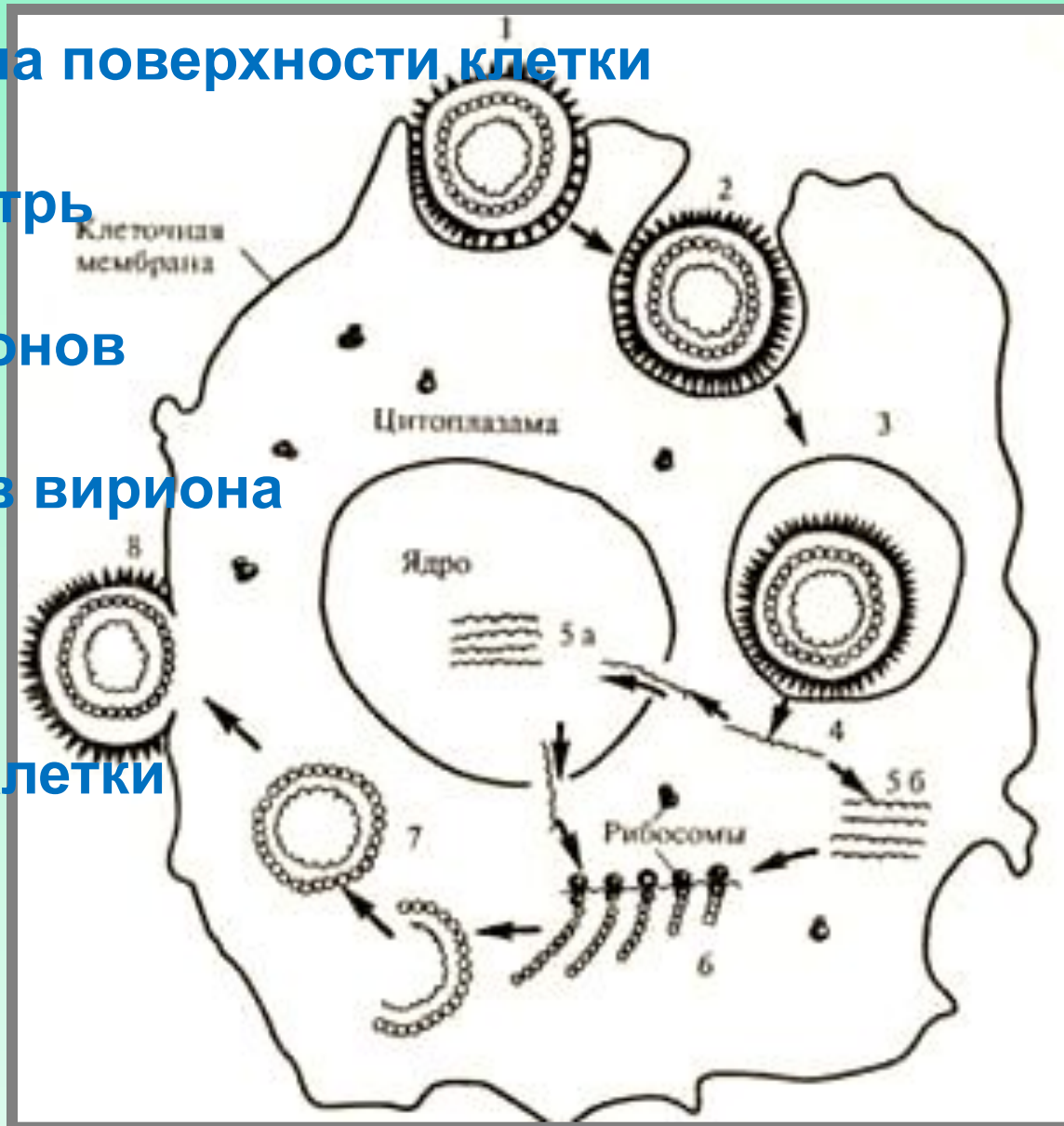
устойчивы к действию протеолитических ферментов:

Репродукция вирусов

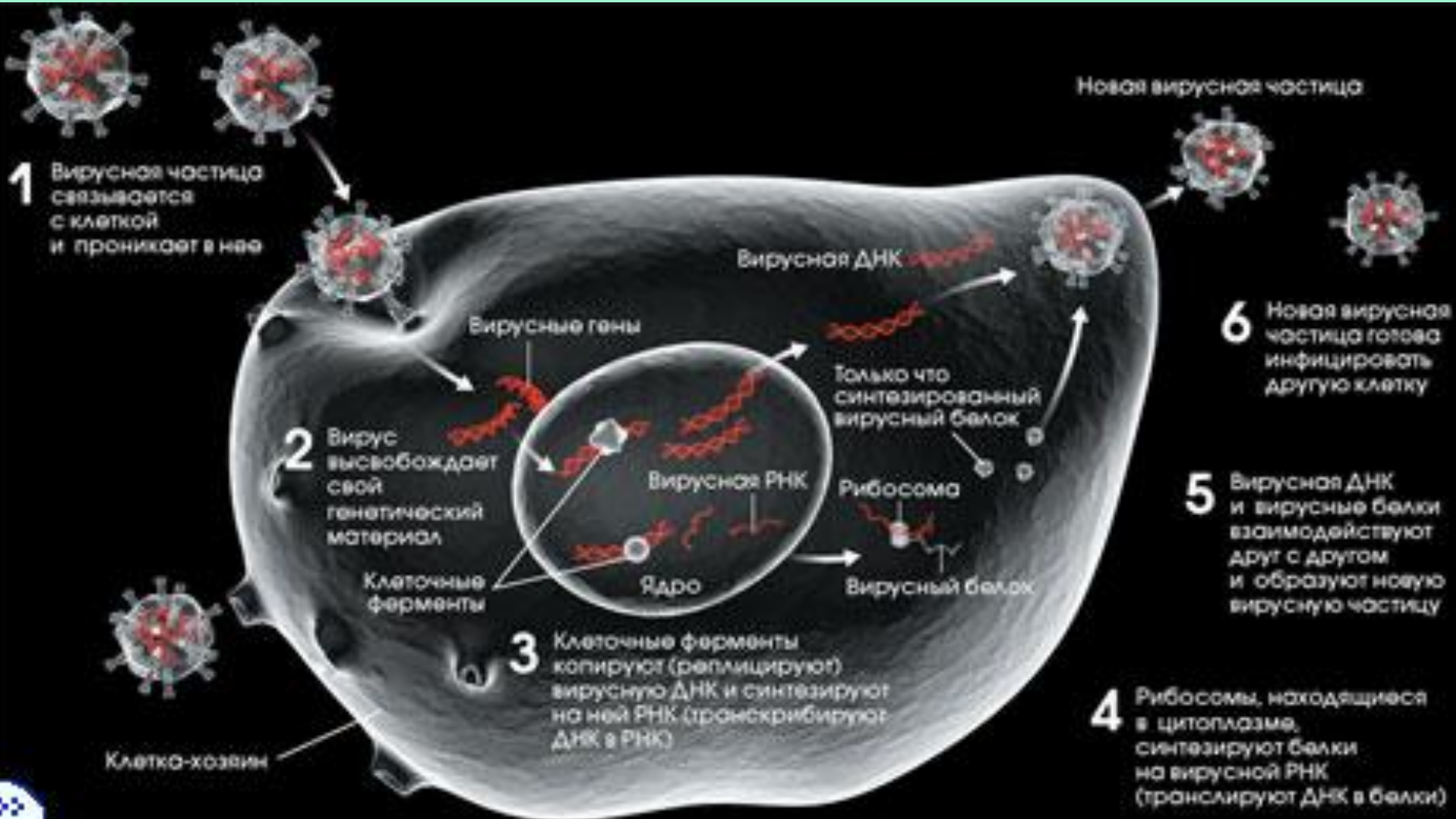
- **Внутри живой клетки-хозяина.**
- **Нуклеиновые кислоты и белки синтезируются клеткой-хозяином *раздельно* в разных частях клетки - *разобшенная* или *дисъюнктивная* репродукция.**

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 Т большинство вирусов инактивируется (вирус гепатита – термоустойчив);**
- **к низким Т 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 полиомиелита и др. энтеровирусы

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

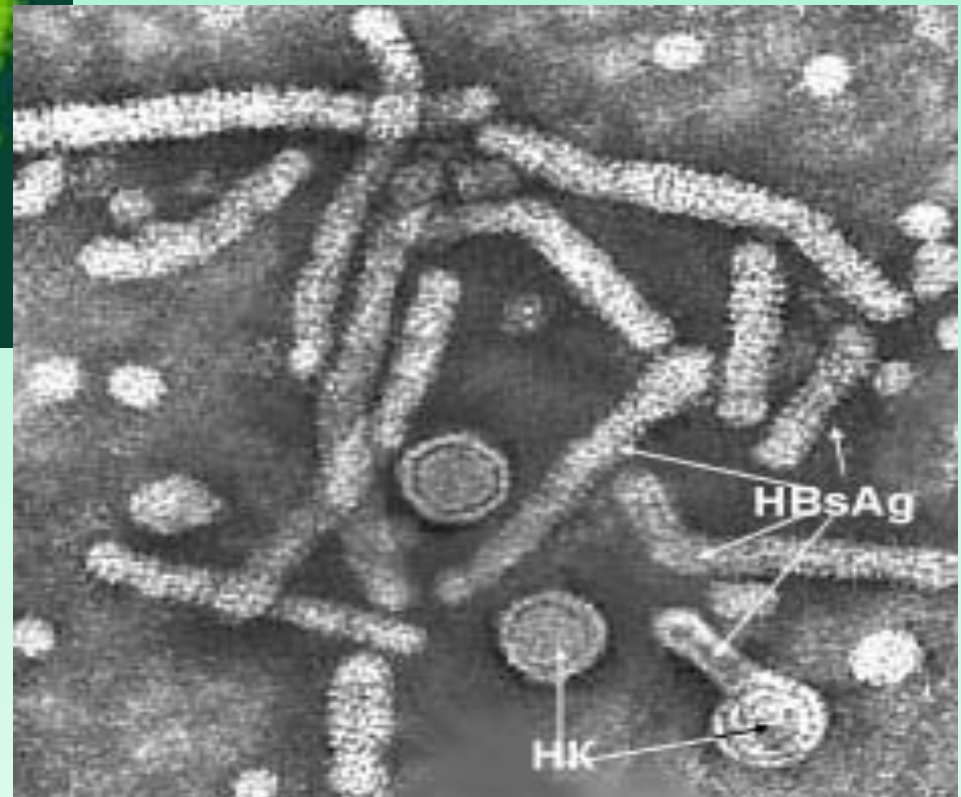
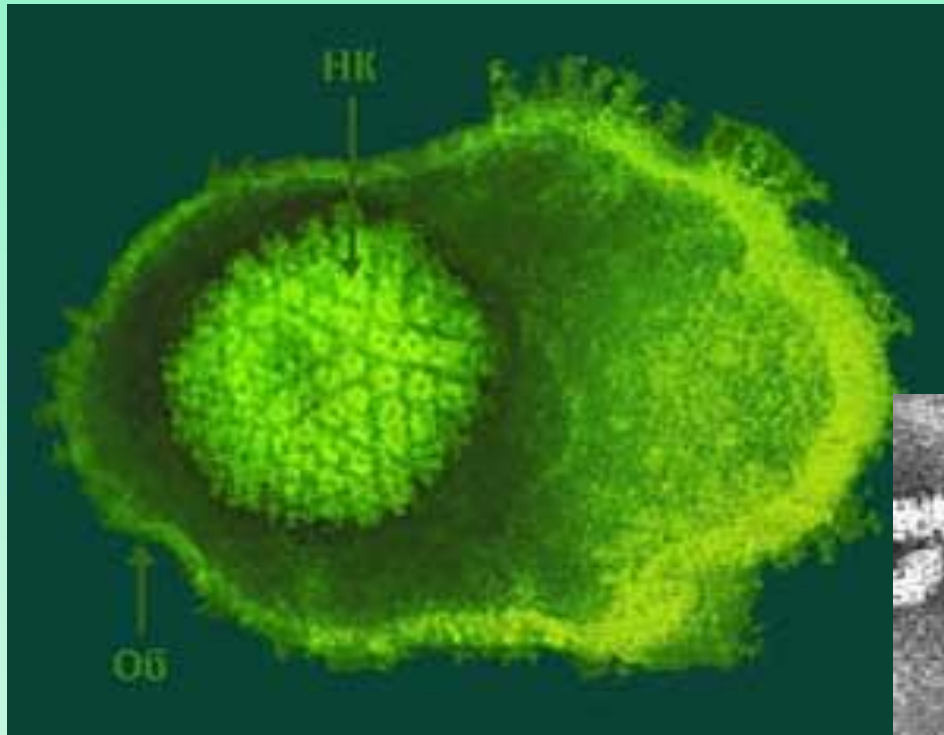
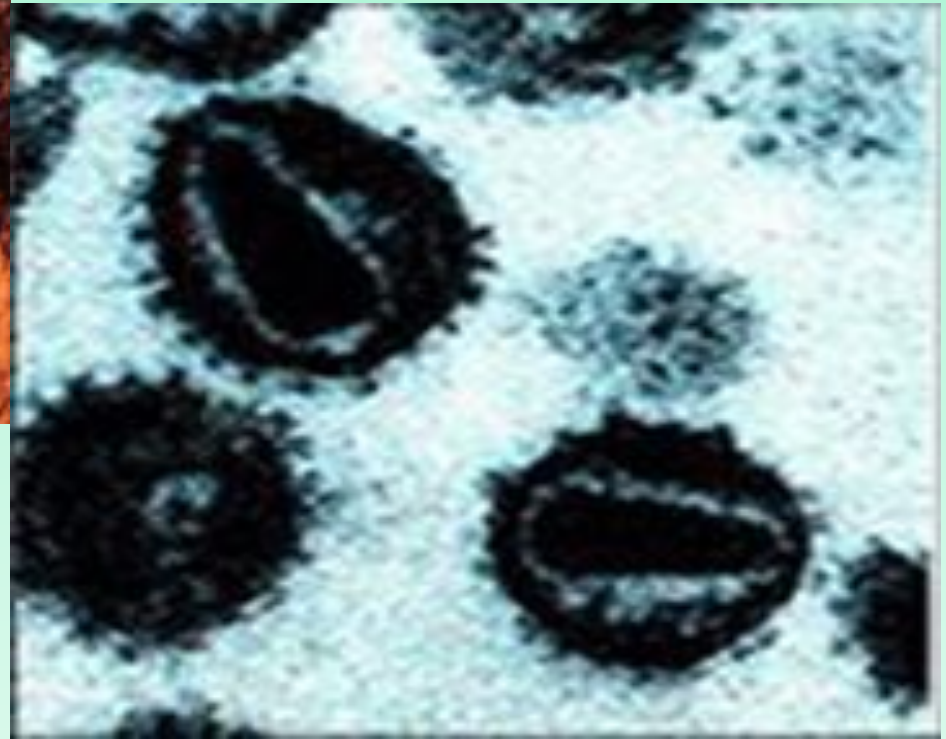
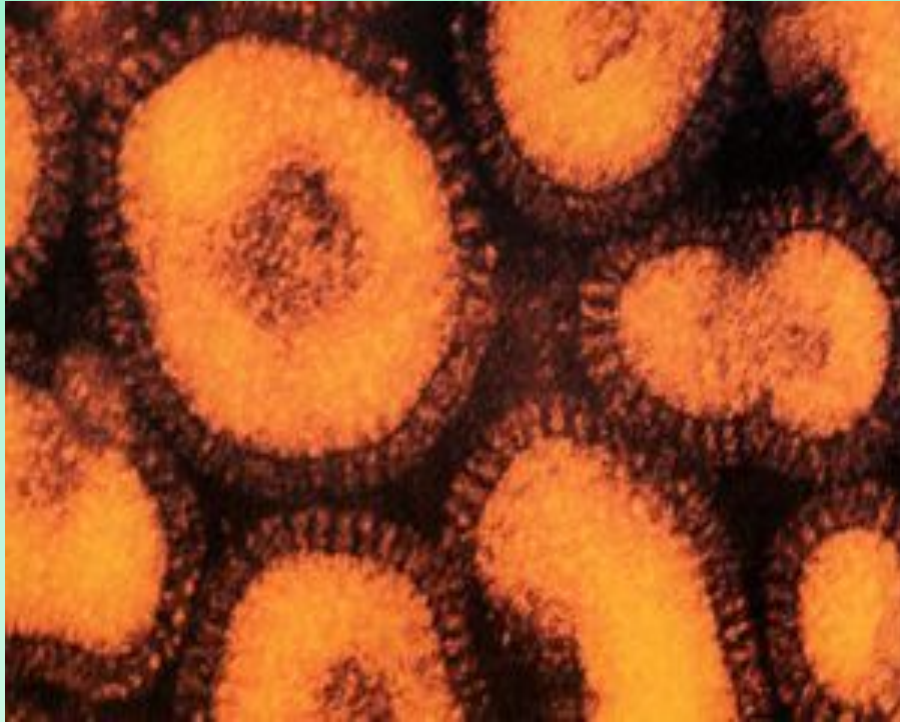


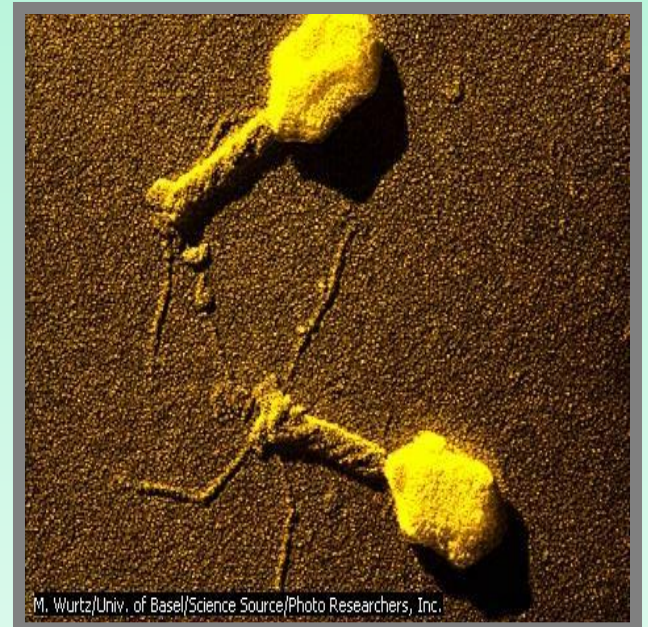
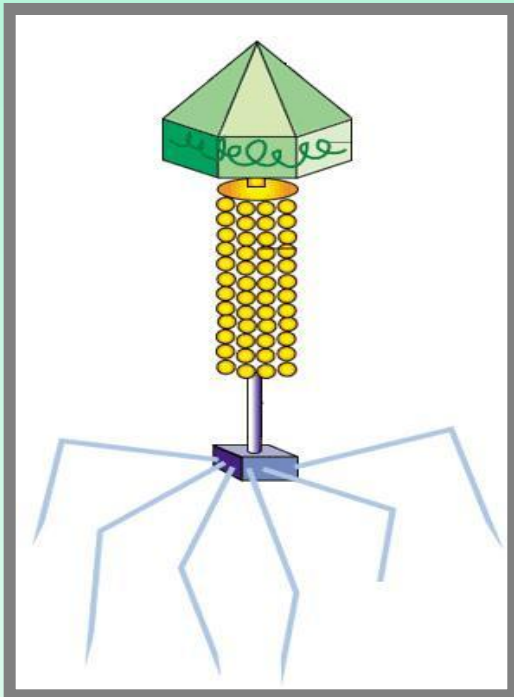
Рис. 3. Вирус гриппа (слева), вирус иммунодефицита человека (справа) электронная микроскопия



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

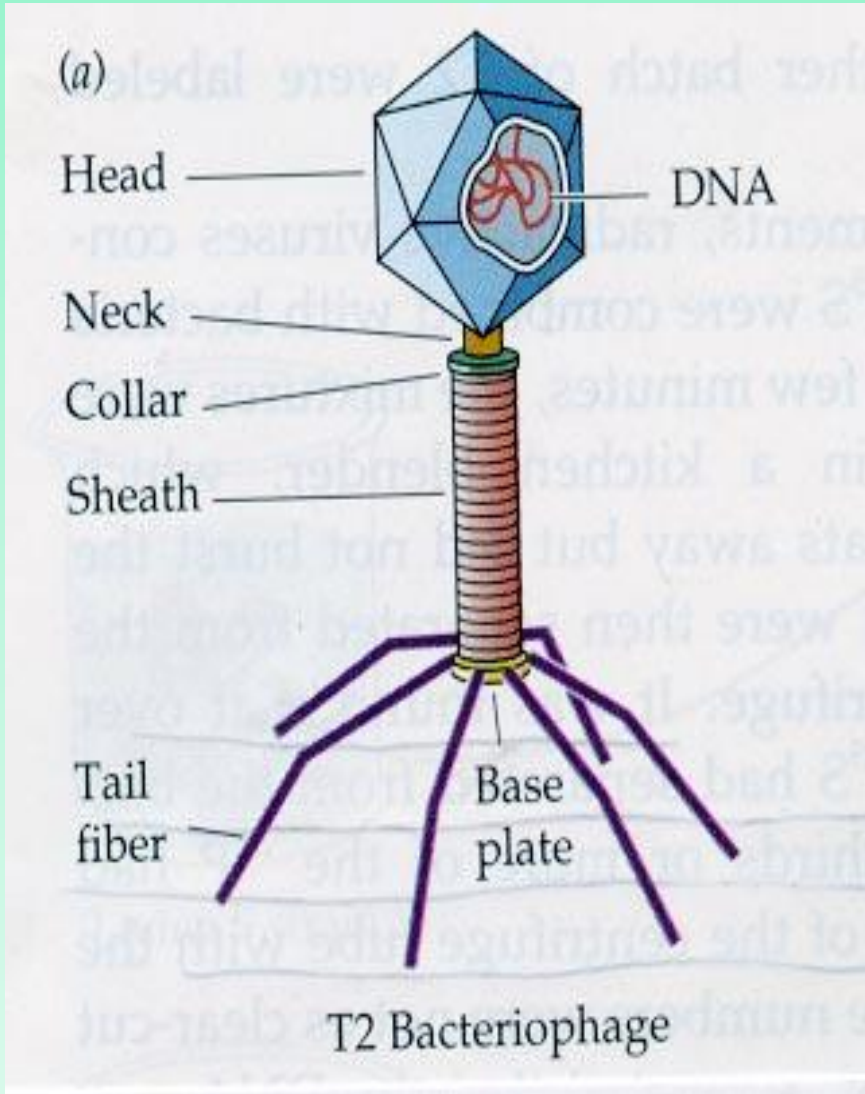


Свойства фагов

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*

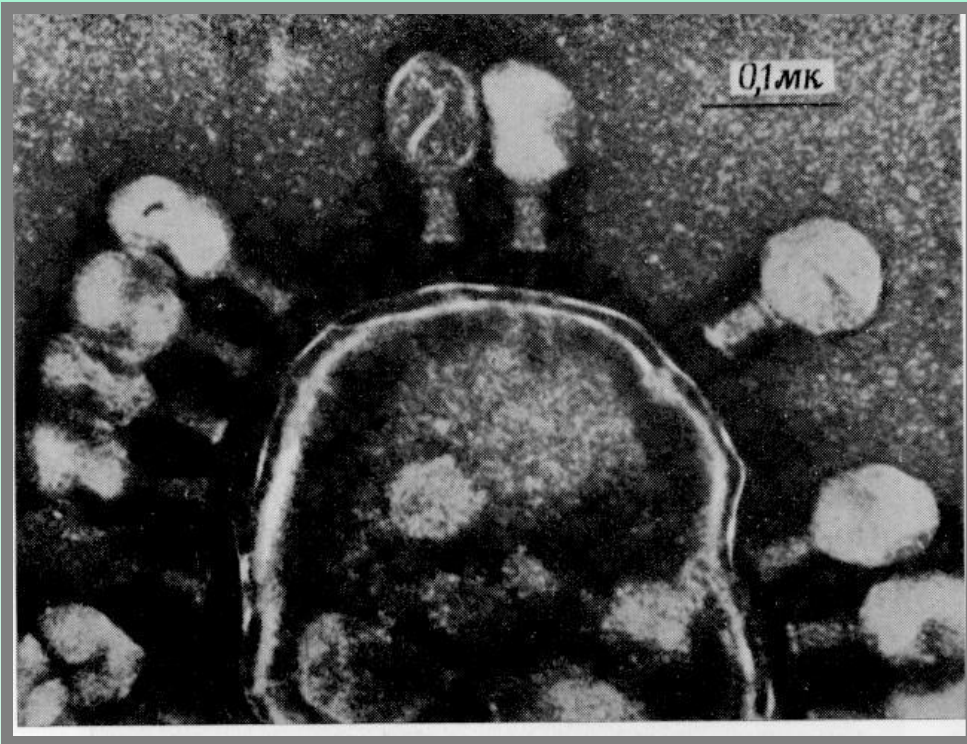
Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой - бактериофагия

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

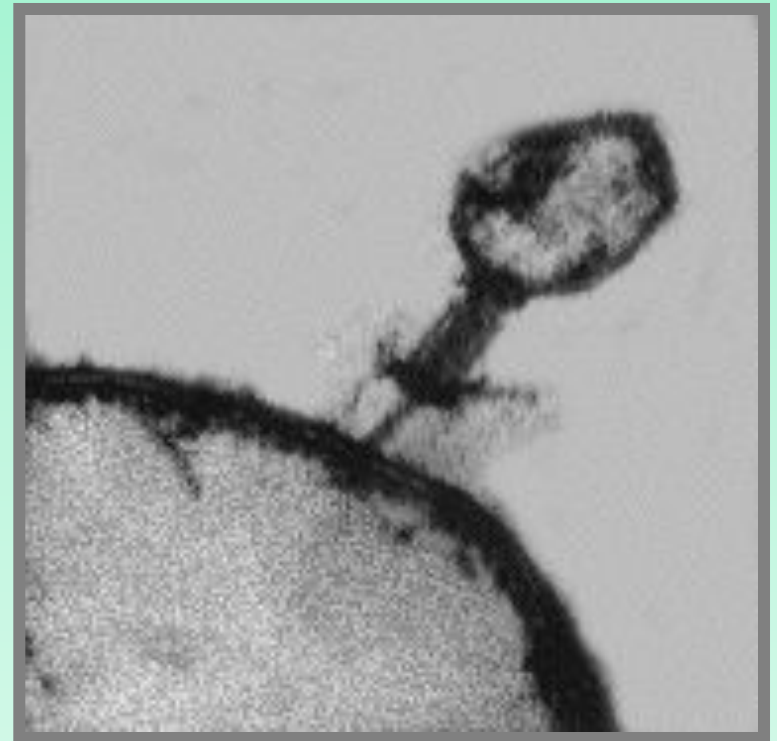
Лизис «извне» - большое количество фагов адсорбируется на клетке.

Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой

- Адсорбция бактериофага



- Внедрение



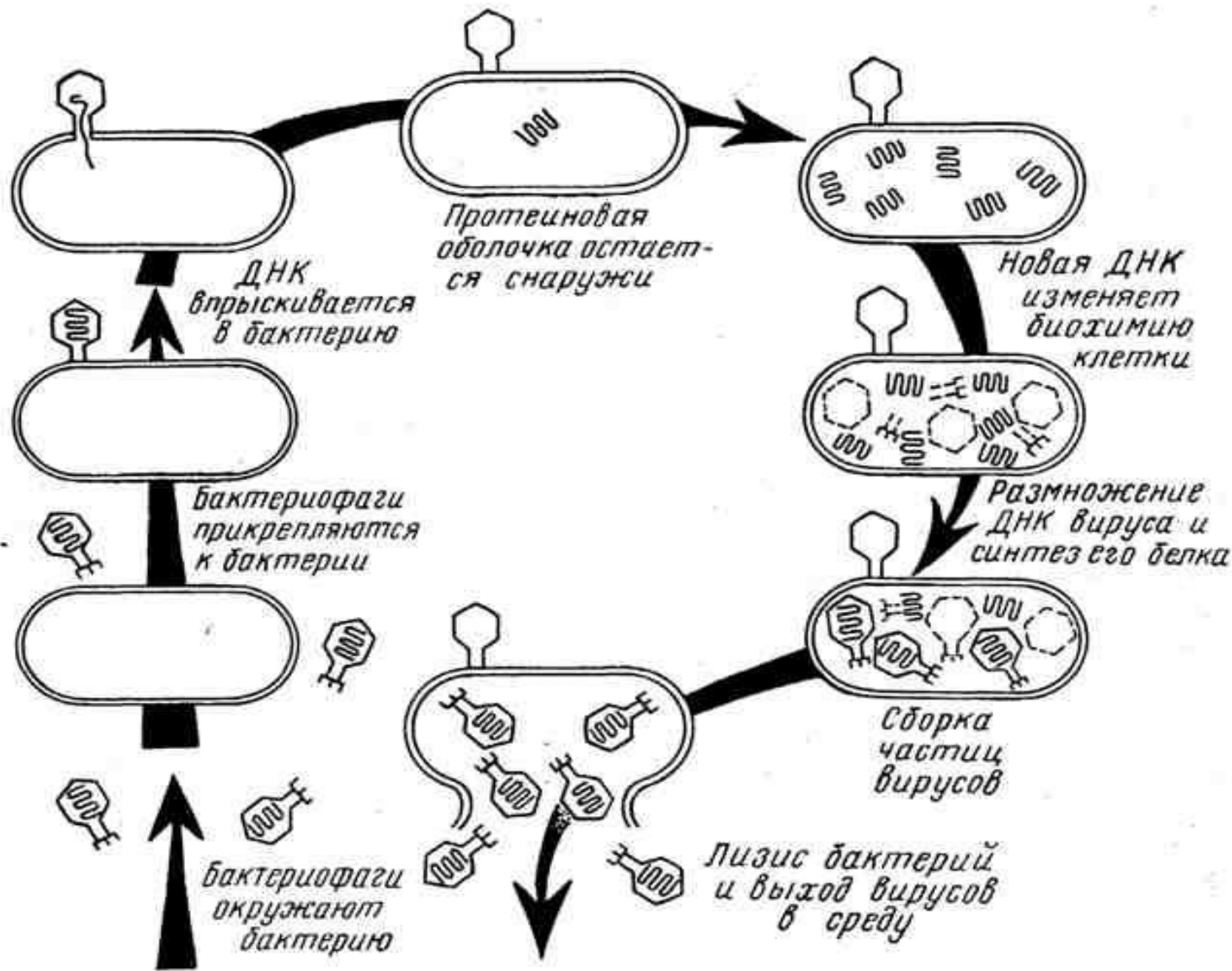
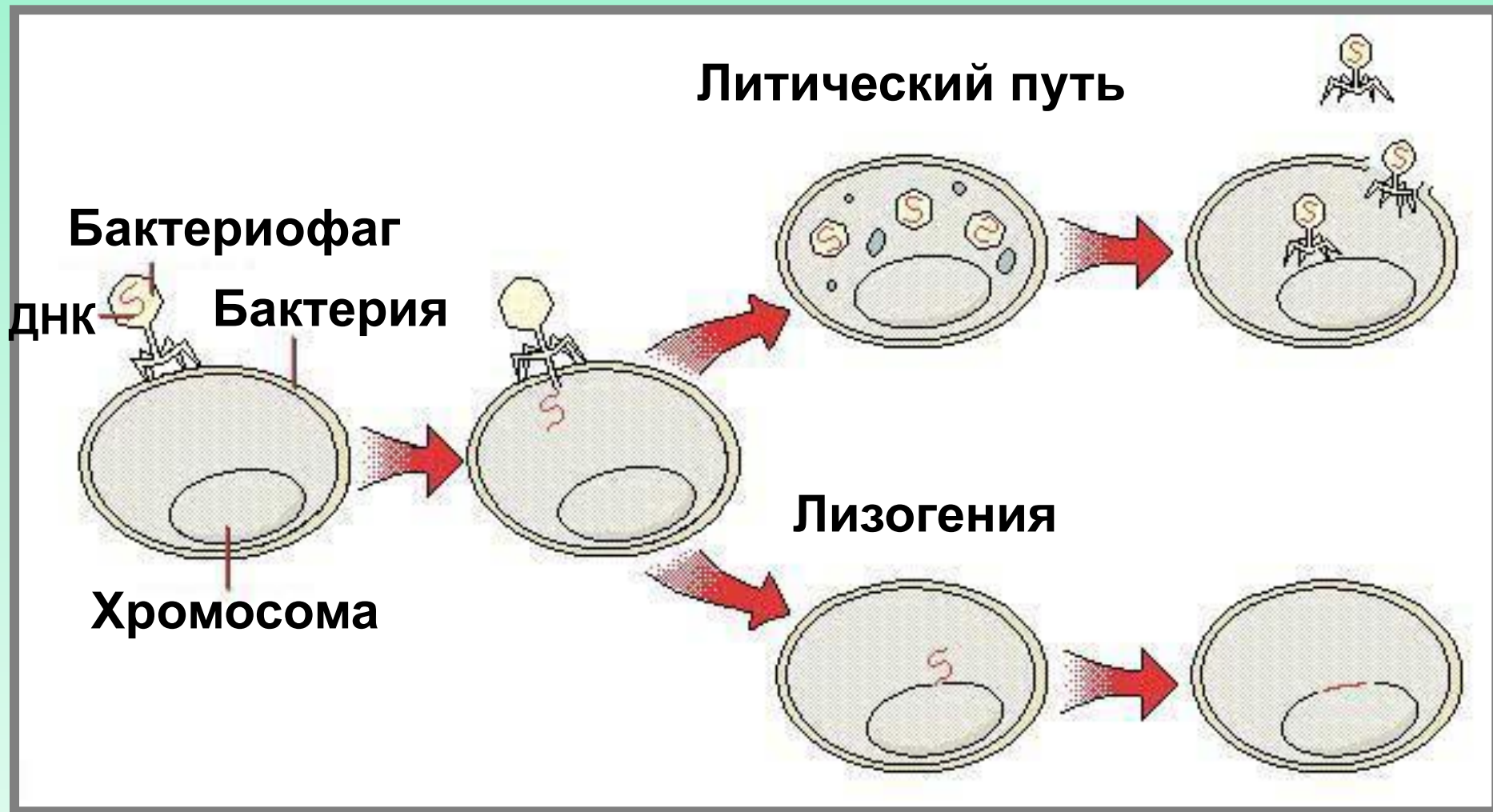


Рис. 81. Схема внедрения и размножения частицы фага в клетке бактерии.

Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой

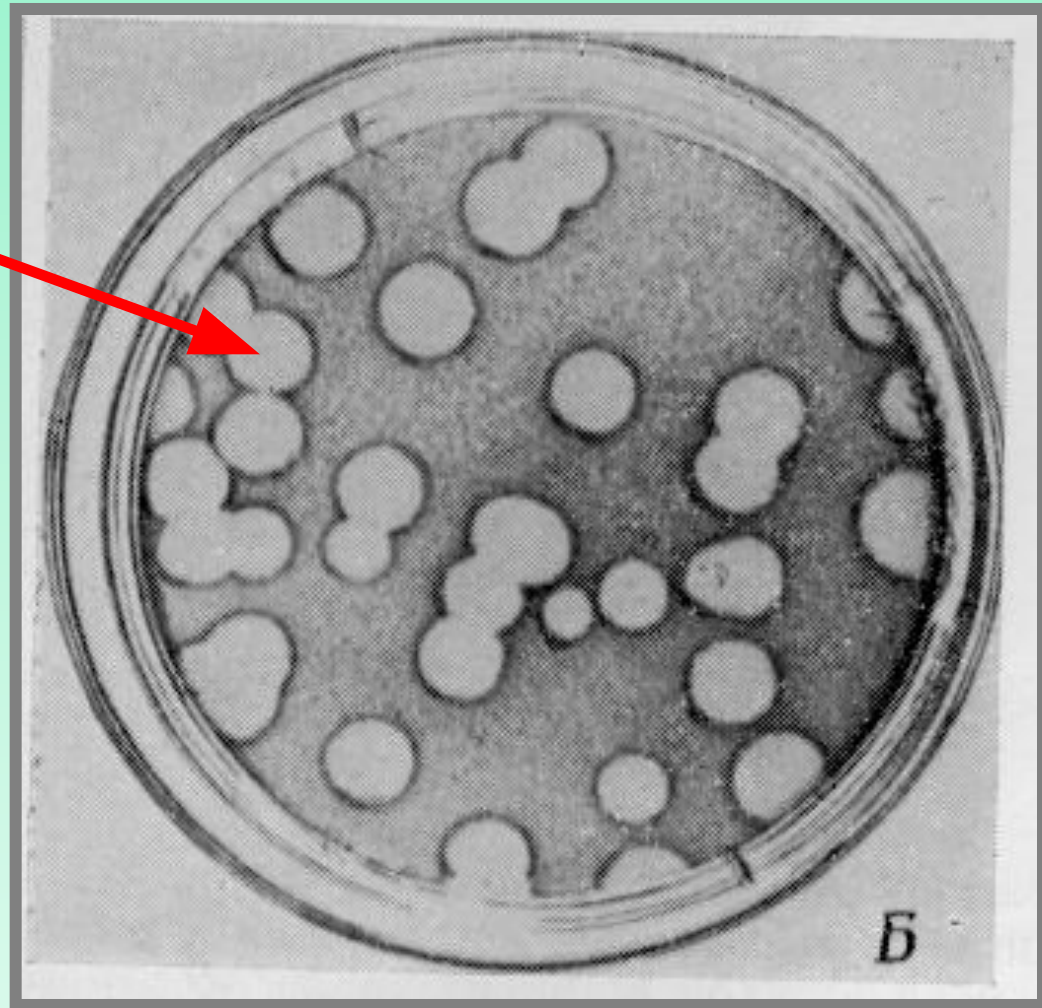
- Синтез ДНК и белка

- 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