

2

Морфология и классификация микробов

2.1. Систематика и номенклатура микробов

Микробы, или микроорганизмы (бактерии, грибы, простейшие, вирусы), систематизированы по их сходству, различиям и взаимоотношениям между собой. Этим занимается специальная наука — *систематика микроорганизмов*. Систематика включает три части: классификацию, таксономию и идентификацию. В основу *таксономии* (от греч. *taxis* — расположение, порядок) микроорганизмов положены их морфологические, физиологические, биохимические и молекулярно-биологические свойства. Различают следующие таксономические категории: *царство, подцарство, отдел, класс, порядок, семейство, род, вид, подвид* (табл. 2.1) и др. В рамках той или иной таксономической категории выделяют таксоны — группы организмов, объединенные по определенным однородным свойствам. Названия микроорганизмов регламентируются Международным кодексом номенклатуры (зоологической, ботанической, номенклатуры бактерий, вирусов).

Таблица 2.1

Таксономические категории, применяемые при классификации микробов

Таксономические категории	Пример для бактерий	Пример для грибов	Пример для простейших	Пример для вирусов
Домен (Domain)	<i>Bacteria</i>	<i>Eukarya</i>	<i>Eukarya</i>	—
Царство (Kingdom)		<i>Fungi (Eumycota)</i>	<i>Protozoa</i>	<i>Virae</i>
Тип* (Phylum)	<i>Proteobacteria</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Sporozoa</i>	—
Класс (Class)	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Archiascomycetes</i>	<i>Coccidea</i>	—
Порядок (Order)	<i>Thiotrichales</i>	<i>Pneumocystidales</i>	<i>Haemosporida</i>	<i>Mononegavirales</i>

Таксономические категории	Пример для бактерий	Пример для грибов	Пример для простейших	Пример для вирусов
Семейство (Family)	<i>Francisellaceae</i>	—	—	<i>Rhabdoviridae</i>
Род (Genus)	<i>Francisella</i>	<i>Pneumocystis</i>	<i>Plasmodium</i>	<i>Lyssavirus</i>
Вид (Species)	<i>Francisella tularensis</i>	<i>Pneumocystis jiroveci</i>	<i>Plasmodium vivax</i>	<i>Rabies virus</i> (вирус бешенства)
Подвид (Subspecies)	<i>F. tularensis</i> subsp. <i>tularensis</i>	—	—	—

* Для таксонов высшего ранга предпочтительно название «Тип» (Phylum), а не «Отдел» (Division).

Микроорганизмы представлены доклеточными формами (вирусы — царство *Virae*) и клеточными формами (бактерии, археобактерии, грибы и простейшие).

По новому высшему уровню в иерархии классификации клеточных форм жизни различают царства микроорганизмов, объединенные в три домена (или «империи»), — *Bacteria*, *Archaea* и *Eukarya*:

- **домен *Bacteria*** — прокариоты, представленные настоящими бактериями (эубактериями);
- **домен *Archaea*** — прокариоты, представленные археями, или археобактериями;
- **домен *Eukarya*** — эукариоты, клетки которых имеют ядро с ядерной оболочкой и ядрышком, а цитоплазма состоит из высокоорганизованных органелл (митохондрий, аппарата Гольджи и др).

Домен *Eukarya* включает царства *Protozoa* (простейшие), *Eumycota* (настоящие грибы) и *Chromista* (хромовики). Царство *Chromista* (*Stramenopila*) — новое, образованное в результате реклассификации некоторых простейших и грибов из более раннего устаревшего таксона — царства грибов (*Fungi*, *Mycota*).

Одной из основных таксономических категорий является **вид** (*species*) — совокупность особей, объединенных по близким свойствам, но отличающихся от других представителей рода.

Совокупность однородных микроорганизмов, выделенных на питательной среде, характеризующихся сходными морфологическими, тинкториальными (отношение к красителям), культуральными, биохимическими и антигенными свойствами, называется **чистой культурой**. Чистая культура микроорганизмов, выделенных из определенного источника и отличающихся от других представителей вида, называется **штаммом**. Штамм — более узкое понятие, чем вид или подвид. Близким к понятию штамма является понятие клона. **Клон** представляет собой совокупность потомков, выращенных из единственной микробной клетки.

Для обозначения некоторых совокупностей микроорганизмов, отличающихся по тем или иным свойствам, употребляется суффикс *var* (разновидность) вместо ранее применявшегося *type*. Поэтому микроорганизмы в зависимости от характера различий обозначают как *морфовары* (отличие по морфологии), *резистентовары* (отличие по устойчивости, например к антибиотикам), *серовары* (отличие по антигенам), *фаговары* (отличие по чувствительности к бактериофагам), *биовары* (отличие по биологическим свойствам), *хемовары* (отличие по биохимическим свойствам) и т.д.

Для идентификации и типирования бактерий используют фенотипические, генотипические и филогенетические показатели (сущность их описана в последующих главах).

Фенотипические: окраска по Граму, морфологические и культуральные свойства, биохимические реакции, хромогенные ферментативные реакции, использование источников углевода, антибиотикограмма, бактериоцинотипирование, фаготипирование, антигенные свойства, химический состав клеточной стенки (пептидогликан, миколовая кислота и др.), а также белков и липидов клетки.

Генотипические: соотношение G+C, гибридизация ДНК, молекулярное зондирование, плазмидный анализ, полиморфизм длины фрагментов рестрикции ДНК, риботипирование.

Филогенетические: анализ рРНК-последовательности, РНК-РНК-гибридизация, амплификация полиморфной ДНК с использованием производных праймеров, секвенирование 16S и 23S рРНК.

2.2. Классификация и морфология бактерий

Классификация бактерий. Решением Международного кодекса для бактерий рекомендованы следующие таксономические категории: класс, отдел, порядок, семейство, род, вид. Название вида бактерий соответствует бинарной номенклатуре, т.е. состоит из двух слов. Например, возбудитель сифилиса пишется как *Treponema pallidum*. Первое слово — название рода и пишется с прописной буквы, второе слово обозначает вид и пишется со строчной буквы. При повторном упоминании вида родовое название сокращается до начальной буквы, например *T. pallidum*.

Бактерии относятся к **прокариотам**, т.е. доядерным организмам, поскольку у них имеется примитивное ядро без оболочки, ядрышка, гистонов, а в цитоплазме отсутствуют высокоорганизованные органеллы (митохондрии, аппарат Гольджи, лизосомы и др.).

Согласно Руководству Берджи последних изданий (2001–2011 гг.), бактерии делят на два домена: **Bacteria** и **Archaea** (табл. 2.2).

Таблица 2.2

Характеристика доменов *Bacteria* и *Archaea*

Домен <i>Bacteria</i> (эубактерии)	Домен <i>Archaea</i> (археи, или археобактерии)
В домене <i>Bacteria</i> можно выделить следующие бактерии: 1) с тонкой клеточной стенкой, грам-отрицательные*; 2) с толстой клеточной стенкой, грам-положительные; 3) без клеточной стенки (класс <i>Mollicutes</i> — микоплазмы)	<i>Археи</i> — одна из древних форм жизни, на что указывает приставка «архе». Они могут расти при высокой температуре, повышенной концентрации соли, высоком давлении. Часть из них — метаногены, облигатные анаэробы; не содержат пептидогликан в клеточной стенке. Имеют особые рибосомы и рибосомные РНК (рРНК). Среди них нет возбудителей инфекций

* Большинство грамотрицательных бактерий объединены в тип **протеобактерии**, основанный на сходстве по рибосомной РНК (*Proteobacteria* — от греческого бога Протеуса, принимавшего разнообразные формы).

В домен ***Bacteria*** входят 30 типов бактерий, из которых имеют медицинское значение следующие (по Берджи 2001–2011 гг.).

Тип *Proteobacteria*

Класс *Alphaproteobacteria*. Роды: *Rickettsia*, *Orientia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia*, *Bartonella*, *Brucella*

Класс *Betaproteobacteria*. Роды: *Burkholderia*, *Bordetella*, *Neisseria*, *Kingella*, *Alcaligenes*, *Spirillum*

Класс *Gammaproteobacteria*. Роды: *Francisella*, *Legionella*, *Coxiella*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Enterobacter*, *Callitambacterium*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*, *Pasteurella*

Класс *Deltaproteobacteria*. Род: *Bilophila*

Класс *Epsilonproteobacteria*. Роды: *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Wolinella*

Тип *Firmicutes* (главным образом грамположительные)

Класс *Bacilli*. Роды: *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Gemella*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Sporosarcina*,

Класс *Clostridia*. Роды: *Clostridium*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Sarcina*, *Ruminococcus*, *Veillonella* (грамотрицательные)

Тип *Tenericutes*

Класс *Mollicutes*. Роды: *Mycoplasma*, *Ureaplasma*

Тип *Actinobacteria*

Класс *Actinobacteria*. Роды: *Actinomyces*, *Arcanodacterium*, *Mobiluncus*, *Micrococcus*, *Rothia*, *Stomatococcus*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium*, *Gardnerella*

Тип *Chlamydiae*

Класс *Chlamydiae*. Роды: *Chlamydia*, *Chlamydomonas*

Тип *Spirochaetes*

Класс *Spirochaetes*. Роды: *Spirochaeta*, *Borrelia*, *Treponema*, *Leptospira*

Тип *Bacteroidetes*

Класс *Bacteroidetes*. Роды: *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*

Класс *Flavobacteria*. Род: *Flavobacterium*

Тип *Fusobacteria*

Класс *Fusobacteria*. Род: *Fusobacterium*

Подразделение бактерий (в домене *Bacteria*) по особенностям строения клеточной стенки связано с возможной вариабельностью их окраски в тот или иной цвет по методу Грама. По этому методу, предложенному в 1884 г. датским ученым Х. Грамом, бактерии делятся на **грамположительные**, окрашиваемые в сине-фиолетовый цвет, и **грамотрицательные**, красящиеся в красный цвет. Однако оказалось, что бактерии с так называемым грамположительным типом клеточной стенки (более толстой, чем у грамотрицательных бактерий), например бактерии рода *Mobiluncus* и некоторые спорообразующие бактерии, вместо обычной грамположительной имеют грамотрицательную окраску. Поэтому для таксономии бактерий большую значимость, чем окраска по Граму, имеют особенности строения и химического состава клеточных стенок.

Грамотрицательные бактерии имеют тонкую клеточную стенку (рис. 2.1). К ним относятся *сферические* формы (кокки — гонококки, менингококки, вейлонеллы), *извитые* — спирохеты и спириллы, а также *палочковидные* формы и наиболее мелкие бактерии (риккетсии и хламидии — *облигатные внутриклеточные* паразиты).

Для **грамположительных бактерий** характерна толстая клеточная стенка. К ним относятся *сферические формы* (кокки — стафилококки, стрептококки, пневмококки), *палочковидные* формы и *ветвящиеся, нитевидные* формы (актиномицеты).

2.2.1. Формы бактерий

Основные формы бактерий (кокки, палочки, спирохеты и др.) представлены на рис. 2.1.

Кокки — шаровидные бактерии размером 0,5–1,0 мкм*, которые по взаимному расположению делятся на микрококки, диплококки, стрептококки, тетракокки, сарцины и стафилококки.

- **Микрококки** (от греч. *micros* — малый) — отдельно расположенные клетки.
- **Диплококки** (от греч. *diploos* — двойной) располагаются парами (пневмококк, гонококк, менингококк), так как клетки после деления не расходятся.
Пневмококк (возбудитель пневмонии) имеет с противоположных сторон ланцетовидную форму, а **гонококк** (возбудитель гонореи) и **менингококк** (возбудитель эпидемического менингита) имеют форму кофейных зерен, обращенных вогнутой поверхностью друг к другу (см. рис. 2.1).
- **Стрептококки** (от греч. *streptos* — цепочка) — клетки округлой или вытянутой формы, составляющие цепочку вследствие деления клеток в одной плоскости и сохранения связи между ними в месте деления.

* Размеры бактерий измеряются в микрометрах (мкм), а размеры их отдельных компонентов — в нанометрах (нм). Один микрометр равен 1000 нм.

Грамотрицательные бактерии (красного цвета по Граму) с тонкой клеточной стенкой	Грамположительные бактерии (сине-фиолетового цвета по Граму) с толстой клеточной стенкой
Гонококки	Стафилококки
Менингококки	Стрептококки
Вейлонеллы	Пневмококки
Палочки (<i>Escherichia coli</i> и др.)	Палочки
Вибрионы	Бациллы
Кампилобактерии Хеликобактерии	Клостридии
Спириллы	Коринебактерии
Спирохеты	Микобактерии
Риккетсии	Бифидобактерии
Хламидии	Актиномицеты

Рис. 2.1. Формы грамотрицательных и грамположительных бактерий. Некоторые бактерии образуют споры, располагающиеся центрально (1), субтерминально (2) или терминально (3)

- **Сарцины** (от лат. *sarcina* — связка, тюк) располагаются в виде пакетов из восьми и более кокков, так как они образуются при делении клетки в трех взаимно перпендикулярных плоскостях.
- **Стафилококки** (от греч. *staphyle* — виноградная гроздь) — кокки, расположенные в виде грозди винограда в результате деления в разных плоскостях.

Палочковидные бактерии различаются по размерам, форме концов клетки и взаимному расположению клеток. Палочки могут быть правильной (кишечная палочка) и неправильной (коринебактерии) формы, в том числе ветвящиеся, например у актиномицетов. К наиболее мелким палочковидным бактериям относятся риккетсии.

Длина клеток варьирует от 1,0 до 10 мкм, толщина — от 0,5 до 2,0 мкм. Концы палочек могут быть как бы обрезанными (сибиреязвенная бацилла), закругленными (кишечная палочка), заостренными (фузобактерии) или в виде утолщения. В последнем случае палочка похожа на булаву (коринебактерии дифтерии).

Слегка изогнутые палочки называются *вибрионами* (холерный вибрион). Большинство палочковидных бактерий располагается беспорядочно, так как после деления клетки расходятся. Если после деления клетки остаются связанными общими фрагментами клеточной стенки и не расходятся, то они располагаются под углом друг к другу (коринебактерии дифтерии) или образуют цепочку (сибиреязвенная бацилла).

Извитые формы — спиралевидные бактерии, к которым относятся *спириллы*, *кампилобактерии*, *хеликобактерии* и *спирохеты*.

Спириллы имеют вид штопорообразно извитых клеток. К патогенным спириллам относится возбудитель содоку (болезнь укуса крыс). **Кампилобактерии** и **хеликобактерии** имеют изгибы как у крыла летящей чайки.

Спирохеты — тонкие, длинные, извитые (спиралевидной формы) бактерии, отличающиеся от спирилл подвижностью, обусловленной сгибаемыми изменениями клеток. Они имеют тонкую наружную мембрану клеточной стенки, окружающую протоплазматический цилиндр с цитоплазматической мембраной и периплазматические фибриллы (жгутики), которые как бы закручиваются вокруг протоплазматического цилиндра спирохеты, придавая ей винтообразную форму (первичные завитки спирохет). Периплазматические фибриллы — аналоги обычных жгутиков бактерий и представляют собой сократительный белок флагеллин.



Рис. 2.2. Электронограмма фрагмента клетки *Treponema pallidum* (негативное контрастирование) (по Н.М. Овчинникову и В.В. Делекторскому)

Они прикреплены к концам клетки (рис. 2.2) и направлены навстречу друг другу. Другой конец фибрилл свободен. Число и расположение фибрилл варьируют у разных видов. Фибриллы участвуют в передвижении спирохет, придавая клеткам вращательное, сгибаемое и поступательное движение. При этом спирохеты образуют петли, завитки, изгибы, которые названы вторичными завитками. Спирохеты плохо воспринимают красители. Обычно их окрашивают

12

Иммунодиагностические реакции и их применение

12.1. Реакции антиген–антитело

Способности взаимодействия антитела с антигеном являются основой диагностических реакций в лабораториях. Реакция *in vitro* между антигеном и антителом состоит из специфической и неспецифической фазы. В **специфическую фазу** происходит быстрое специфическое связывание активного центра Fab-фрагмента антитела с детерминантой (эпитопом) антигена, что обусловлено ван-дер-ваальсовыми силами, водородными связями и гидрофобным взаимодействием. Прочность и количество связавшегося антителами антигена зависят от аффинности, avidности антител и их валентности. Специфическую фазу реакции сменяет **неспецифическая фаза** — более медленная, для которой характерны видимые физические явления, например образование хлопьев при агглютинации и др. Эта фаза требует наличия определенных условий (электролитов, оптимального pH среды).

На основе реакций антиген–антитело определяют или антитела с помощью известных антигенов (диагностикумов) или антигены с помощью известных антител (иммунных сывороток).

В практике для постановки диагноза инфекций применяют **серологический метод диагностики** (от лат. *serum* — сыворотка) — выявление антител или антигенов в сыворотке крови и других жидкостях с помощью реакций антиген–антитело. При выделении микроба от больного проводят его идентификацию с помощью иммунных диагностических сывороток, т.е. сывороток крови гипериммунизированных животных, содержащих специфические антитела. Это так называемая **серологическая идентификация** микроорганизмов.

В микробиологии и иммунологии применяют различные варианты реакций агглютинации, преципитации, нейтрализации, а также реакций с участием ком-

плементы, с использованием меченых антител и антигенов (радиоиммунный, иммуноферментный, иммунофлюоресцентный методы). Эти реакции различаются по регистрируемому эффекту и технике постановки, однако они основаны на эффекте взаимодействия антигена с антителом и применяются для выявления как антител, так и антигенов. Реакции иммунитета характеризуются высокой чувствительностью и специфичностью.

12.2. Реакции агглютинации

Реакция агглютинации — РА (от лат. *agglutinatio* — склеивание) — простейшая по постановке реакция, при которой происходит связывание антителами циркулирующих антигенов (бактерий, эритроцитов, различных частиц с адсорбированными на них антигенами, а также макромолекулярных агрегатов). Она протекает при наличии электролитов, например при добавлении изотонического раствора натрия хлорида, и проявляется образованием хлопьев или осадка (клетки и частицы, «склеенные» антителами, — рис. 12.1). Применяются различные варианты РА: развернутая, ориентировочная, непрямая и др. Их используют для определения противомикробных антител в сыворотке крови больного возбудителем, выделенного от больного; групп крови с использованием моноклональных антител против аллоантигенов эритроцитов.

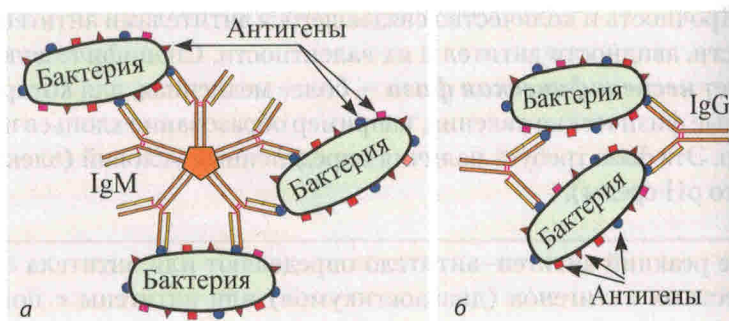


Рис. 12.1. Схема реакции агглютинации с IgM-антителами (а) и IgG-антителами (б)

1. Определение антител в сыворотке крови больного проводят с помощью **развернутой реакции агглютинации**: к разведениям сыворотки крови больного добавляют **диагностикум** (взвесь убитых микробов) и через несколько часов инкубации при 37 °С отмечают наибольшее разведение сыворотки (титр сыворотки), при котором произошла агглютинация, т.е. образовался осадок. Реакция с **О-диагностикумом** (бактерии, убитые нагреванием, сохранившие термостабильный О-антиген) происходит в виде мелкозернистой агглютинации. Реакция агглютинации с **Н-диагностикумом** (бактерии, убитые формалином)

сравнившие термолабильный жгутиковый Н-антиген) — крупнохлопчатая протекает быстрее.

2. Для **определения возбудителя, выделенного от больного**, ставят **ориентировочную реакцию агглютинации**, применяя диагностические антитела агглютинирующую сыворотку, полученную гипериммунизацией кролика убитыми микробами), т.е. проводят серотипирование возбудителя. Ориентировочную реакцию проводят на предметном стекле: к капле диагностической агглютинирующей сыворотки в разведении 1:10 или 1:20 добавляют чистую культуру возбудителя, выделенного от больного. Рядом ставят контроль — вместо сыворотки наносят каплю раствора натрия хлорида. При появлении в капле с сывороткой и микробами хлопьевидного осадка (положительная реакция) ставят **обратную реакцию агглютинации** в пробирках с увеличивающимися разведениями этой же агглютинирующей сыворотки, добавляя в каждую пробирку по 2–3 капли взвеси возбудителя. Агглютинацию учитывают по количеству хлопьев и степени просветления жидкости. Реакцию считают положительной, если агглютинация отмечается в разведении, близком к титру диагностической сыворотки. Одновременно учитывают контроли: сыворотка, разведенная изотоническим раствором натрия хлорида, должна быть прозрачной, взвесь микробов в том же растворе — равномерно мутной, без осадка.

Разные родственные бактерии могут агглютинироваться одной и той же диагностической агглютинирующей сывороткой за счет перекрестно реагирующих антител, что затрудняет идентификацию возбудителя. Поэтому пользуются **адсорбированными агглютинирующими сыворотками**, из которых удалены перекрестно реагирующие антитела путем адсорбции их родственными бактериями. В таких сыворотках сохраняются антитела, специфичные только к данной бактерии. Получение таким способом монорецепторных диагностических агглютинирующих сывороток было предложено А. Кастелляни (1902 г.).

Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (РНГА, или РПГА) основана на использовании эритроцитов или латекса с адсорбированными на их поверхности антигенами или антителами (рис. 12.2), взаимодействие которых с соответствующими антителами или антигенами сыворотки крови больных вызывает склеивание и выпадение эритроцитов на дно пробирки или ячейки в виде фестончатого осадка («зонтика»). При отрицательной реакции эритроциты оседают в виде «пуговки». Обычно в РНГА выявляют антитела с помощью антигенного эритроцитарного диагностикума, который представляет собой эритроциты с адсорбированными на них антигенами. Иногда применяют эритроцитарные диагностикумы, на которых адсорбированы антитела. Например, можно обнаружить ботулинический токсин, добавляя к нему эритроцитарный антителы ботулинический диагностикум (такую реакцию называют **реакцией обратной непрямой гемагглютинации** — РОНГА). РНГА применяют для диагностики инфекционных болезней, определения гонадотропного гормона в моче при установлении беременности, для выявления по-

вышенной чувствительности к лекарственным препаратам, гормонам и в некоторых других случаях.

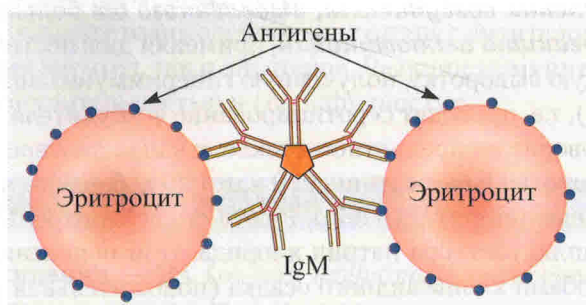


Рис. 12.2. Схема реакции непрямой (пассивной) агглютинации

Реакция коагглютинации. Клетки возбудителя определяют с помощью филококков, предварительно обработанных иммунной диагностической сывороткой. Стафилококки, содержащие белок А, имеющий сродство к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, неспецифически адсорбируют антимикробные антитела, которые затем взаимодействуют активными центрами с соответствующими микробами, выделенными от больных. В результате коагглютинации образуются хлопья, состоящие из стафилококков, антител диагностической сыворотки и определяемого микроба.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) основана на блокаде подавлении антигенов вирусов антителами иммунной сыворотки, в результате чего гемагглютининовые шипы вирусов теряют свойство агглютинировать эритроциты (рис. 12.3). РТГА применяют для диагностики вирусных заболеваний возбудители которых (вирусы гриппа, кори, краснухи и др.) могут агглютировать эритроциты.

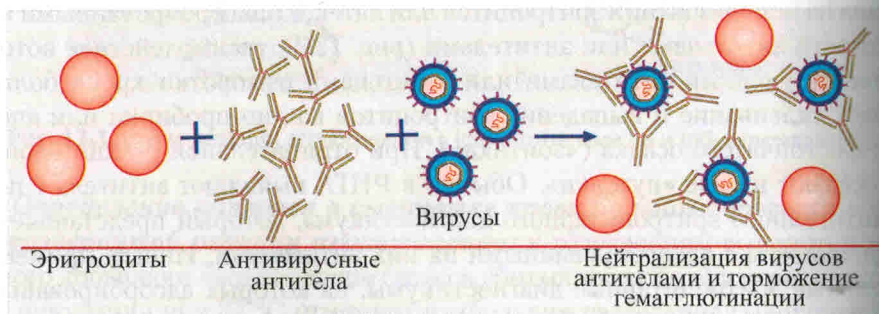


Рис. 12.3. Схема реакции торможения гемагглютинации

Реакцию агглютинации для определения групп крови применяют установления системы АВ0 (см. разд. 9.2.2) с помощью агглютинации эритроцитов.

16.1. РНК-содержащие вирусы

16.1.1. Пикорнавирусы (семейство *Picornaviridae*)

Picornaviridae (от исп. *pico* — малый, *na* — рибонуклеиновая кислота) — семейство безоболочечных вирусов, содержащих одонитевую плюс-РНК. Семейство включает более 230 представителей и включает роды: *Enterovirus* (260 серотипов), *Aphthovirus* (7 серотипов), *Hepatovirus* (два серотипа — 1 человека, 1 обезьяны), *Cardiovirus* (2 серотипа); *Parechovirus*, *Erbovirus*, *Kobuvirus*, *Teschovirus* — названия новых родов. Роды состоят из видов, виды — из серотипов.

Структура. Пикорнавирусы относятся к мелким просто организованным вирусам. Диаметр вируса — около 30 нм. Вирион состоит из икосаэдрического капсида, окружающего инфекционную одонитевую плюс-РНК с протеином VPg (рис. 16.1).

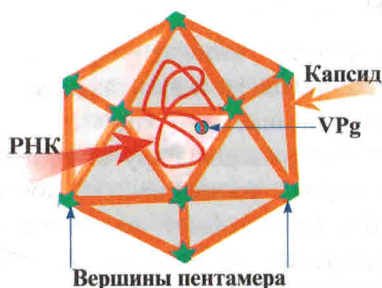


Рис. 16.1. Схема строения пикорнавируса

Капсид состоит из 12 пятиугольников (пентамеров), каждый из которых, в свою очередь, состоит из пяти белковых субъединиц — протомеров. Протомеры образованы четырьмя вирусными полипептидами: VP1, VP2, VP3, VP4.

Репродукция пикорнавирусов (рис. 16.2) происходит в цитоплазме клетки и сопровождается цитопатическим действием. В культуре клеток под агаровым покрытием вирусы образуют бляшки.

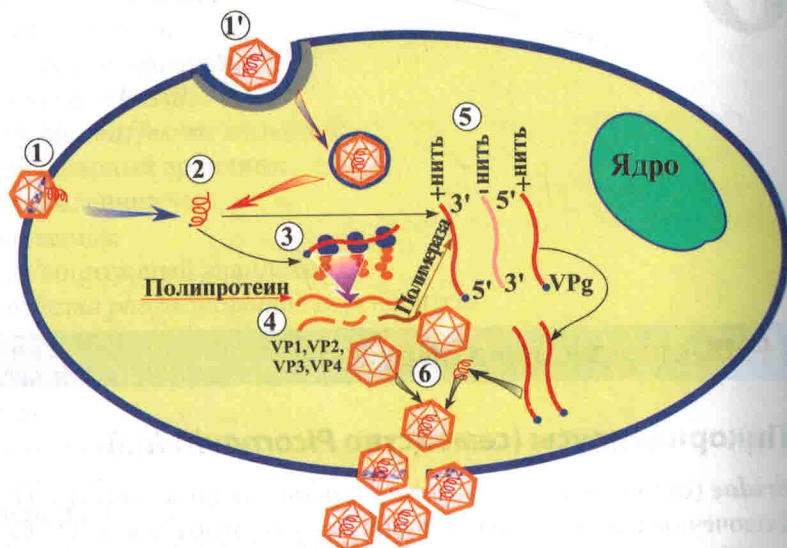


Рис. 16.2. Схема репродукции пикорнавирусов. Геном вируса поступает в клетку энтером (1') или инъекцией (1) в цитоплазму геномной плюс-РНК (2). На конце геномной плюс-РНК имеется вирусный VPg-протеин (3). Геном используется как мРНК для синтеза полипротеина (4). Полипротеин расщепляется на индивидуальные вирусные протеины, включая РНК-зависимую полимеразу. Полимераза синтезирует (5) с геномной плюс-нити РНК минус-нить РНК (матрицу). В дальнейшем на основе репликативного звена из плюс/минус-нитей реплицируется геном вируса с присоединением VPg-протеина. Вирусы после сборки нуклеокапсида (6) выходят из клетки.

16.1.1.1. Энтеровирусы

Энтеровирусы (от греч. *enteron* — кишка) — группа вирусов, обитающих преимущественно в кишечнике человека и вызывающая у него разнообразные клиническим проявлениям болезни.

Энтеровирусы — РНК-содержащие вирусы семейства *Picornaviridae* рода *Enterovirus*. Род включает вирусы полиомиелита, Коксаки А и В (по названию населенного пункта в США, где они были впервые выделены), ЕСНО (аббревиатура от англ. *Enteric cytopathogenic human orphan viruses* — кишечные цитопатогенные человеческие вирусы-сироты), энтеровирусы серотипов 68, 69, 70, 71 и др. В настоящее время имеются другие варианты классификации рода *Enterovirus*: например, энтеровирусы человека представлены видами энтеровируса А, В, С и D, состоящими из серотипов.

Структура и антигенные свойства. Энтеровирусы — мелкие и наиболее просто организованные вирусы, имеют сферическую форму, диаметр 20–30 нм.

состоят из одноцепочечной плюс-нитевой РНК и капсида с кубическим типом симметрии. Вирусы не имеют липопротеиновой оболочки. В их составе нет углеводов и липидов, поэтому они нечувствительны к эфиру и другим растворителям жира. Энтеровирусы имеют общие для всего рода группо- и типоспецифические антигены.

Культивирование. Большинство энтеровирусов (за исключением вируса Коксаки А) хорошо репродуцируется в первичных и перевиваемых культурах клеток из тканей человека и сопровождается цитопатическим эффектом. В культурах клеток под агаровым покрытием энтеровирусы образуют бляшки.

Резистентность. Энтеровирусы устойчивы к факторам окружающей среды в широком диапазоне рН — от 2,5 до 11, поэтому они длительно (месяцами) сохраняются в воде, почве, некоторых пищевых продуктах и на предметах обихода.

Многие дезинфектанты (спирт, фенол, поверхностно-активные вещества) малоэффективны в отношении энтеровирусов, однако последние погибают при высушивании, действии УФ-лучей, окислителей, формалина, температуре -50°C в течение 30 мин, а при кипячении — в течение нескольких секунд.

Восприимчивость животных. Энтеровирусы различаются по патогенности для лабораторных животных. Вирусы Коксаки по патогенности для новорожденных мышей разделены на группы А и В. Вирусы ЕСНО непатогенны для всех видов лабораторных животных.

Эпидемиология и патогенез. Заболевания, вызываемые энтеровирусами, распространены повсеместно, отличаются массовым характером с преимущественным поражением детей.

Источником инфекции являются больные и носители. Из организма больного возбудители выделяются с носоглоточной слизью и фекалиями, из организма вирусоносителя — с фекалиями. Энтеровирусы передаются через воду, почву, пищевые продукты, предметы обихода, загрязненные руки, через мух.

Водные и пищевые эпидемические вспышки энтеровирусных инфекций регистрируются в течение всего года, но наиболее часто в летние месяцы. В первые 1–2 нед. болезни энтеровирусы выделяются из носоглотки, обуславливая воздушно-капельный путь передачи.

Возбудители инфекции проникают в организм человека через слизистые оболочки носоглотки и тонкой кишки, размножаются в их эпителиальных клетках и регионарных лимфатических узлах, затем попадают в кровь. Последующее распространение вирусов определяется их свойствами и состоянием больного.

Клиника. Энтеровирусы вызывают заболевания, характеризующиеся многообразием клинических проявлений, так как могут поражать различные органы и ткани: ЦНС (полиомиелит, полиомиелитоподобные заболевания (миалгия, миокардит), органы дыхания (острые респираторные заболевания), пищеварительный тракт (гастроэнтерит, диарея), кожные и слизистые покровы (конъюнктивит, лихорадочные заболевания с сыпью и без нее) и др.

Иммунитет. После перенесенной энтеровирусной инфекции формируется стойкий, но типоспецифический иммунитет.

Микробиологическая диагностика. Методы диагностики — *вирусологический* и *серологический* с парными сыворотками больного. Вирусы выделяют из носоглоточной слизи в первые дни болезни, из кала, цереброспинальной жидкости. У погибших больных вирусы выделяют из пораженных органов. При серодиагностике характерно нарастание титров антител к энтеровирусам в 4 раз и более с 4–5-го до 14-го дня болезни.

Лечение патогенетическое. Применяют препараты интерферона в первые дни заболевания и другие противовирусные препараты.

Профилактика. Для профилактики энтеровирусных инфекций (за исключением полиомиелита) специфические средства не применяют. Большое значение имеет неспецифическая профилактика: своевременное выявление и изоляция больных, санитарный надзор за работой пищевых предприятий, водоснабжением, удалением нечистот и отходов. Детям, общавшимся с больными, рекомендуют интерфероновые препараты.

16.1.1.1. Вирусы полиомиелита

Полиомиелит — острое лихорадочное заболевание, которое иногда сопровождается поражением серого вещества (от греч. *polios* — серый) спинного мозга и ствола головного мозга, в результате чего развиваются вялые параличи и парезы мышц ног, туловища, рук.

Таксономия. Полиомиелит известен с глубокой древности. Вирусную этиологию болезни доказали К. Ландштайнер и Э. Поппер в 1909 г. Возбудитель полиомиелита относится к семейству *Picornaviridae* роду *Enterovirus* вид *Enterovirus C*.

Структура и антигенные свойства. По структуре полиовирусы — типичные представители рода *Enterovirus*. Различают три серотипа полиовирусов 1, 2, 3, не вызывающие перекрестного иммунитета. Все серотипы патогенны для людей, у которых возникает заболевание, сходное по клиническим проявлениям с полиомиелитом человека.

Патогенез и клиника. Естественная восприимчивость человека к вирусу полиомиелита высокая. Входными воротами служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей и пищеварительного тракта. Первичная репродукция вирусов происходит в лимфатических узлах глоточного кольца и тонкой кишки. Это обуславливает обильное выделение вирусов из носоглотки и с фекалиями еще до появления клинических симптомов болезни. Из лимфатической системы вирусы проникают в кровь (виремия), а затем в ЦНС, где избирательно поражают клетки передних рогов спинного мозга (двигательные нейроны). В результате этого возникают параличи мышц. В случае накопления в крови

нейтрализующих антител, блокирующих проникновение вируса в ЦНС, ее поражения не наблюдается.

Инкубационный период продолжается в среднем 7–14 дней. Различают три клинические формы полиомиелита: паралитическую (1% случаев), менингеальную (без параличей), abortивную (легкая форма). Заболевание начинается с повышения температуры тела, общего недомогания, головных болей, рвоты, болей в горле. Полиомиелит нередко имеет двухволновое течение, когда после легкой формы и наступившего значительного улучшения развивается тяжелая форма болезни. Паралитическую форму чаще вызывает вирус полиомиелита серотипа 1.

Иммунитет. После перенесенной болезни остается пожизненный типоспецифический иммунитет. Иммунитет определяется в основном наличием вируснейтрализующих антител, среди которых важная роль принадлежит местным секреторным антителам слизистой оболочки глотки и кишечника (местный иммунитет). Эффективный местный иммунитет играет важнейшую роль в прерывании передачи «диких» вирусов и способствует вытеснению их из циркуляции. Пассивный естественный иммунитет сохраняется в течение 3–5 нед. после рождения ребенка.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследования служат кал, отделяемое носоглотки, при летальных исходах — кусочки головного и спинного мозга, лимфатические узлы.

Вирусы полиомиелита выделяют путем заражения исследуемым материалом первичных и перевиваемых культур клеток. О репродукции вирусов судят по цитопатическому действию. Идентифицируют (типировать) выделенный вирус с помощью типоспецифических сывороток в реакции нейтрализации в культуре клеток. Важное значение имеет внутривидовая дифференциация вирусов, которая позволяет отличить «дикие» патогенные штаммы от вакцинных штаммов, выделяющихся от людей, иммунизированных живой полиомиелитной вакциной. Различия между «дикими» и вакцинными штаммами выявляют с помощью ИФА, реакции нейтрализации цитопатического действия вируса в культуре клеток со штаммоспецифической иммунной сывороткой, а также ПЦР.

Серологический метод основан на использовании парных сывороток больных с применением эталонных штаммов вируса в качестве диагностикума. Содержание сывороточных иммуноглобулинов классов IgG, IgA, IgM определяют методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

Лечение. Патогенетическое. Применение гомологичного иммуноглобулина для предупреждения развития паралитических форм весьма ограничено.

Эпидемиология и специфическая профилактика. Эпидемии полиомиелита охватывали в 1940–1950-х годах тысячи и десятки тысяч человек, из которых 10% умирали и примерно 40% становились инвалидами. Основной мерой профилактики полиомиелита является иммунизация. Массовое применение вакцины против полиомиелита привело к резкому снижению заболеваемости.