**Національний фармацевтичний університет**
**Кафедра мікробіології, вірусології та імунології**

# ВІЛ та герпесвіруси

***Навчальна дисципліна***
«Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою»
***Спеціальність***
«Лабораторна діагностика», 4 курс
**Викладач**
доцент Шаповалова Ольга Вікторівна

# План

- ***ВІЛ – таксономія, будова, резистентність.***
- ***СНІД.***
- ***Лабораторна діагностика.***
- ***Герпесвіруси людини - таксономія, будова, резистентність.***
- ***Герпесвірусні інфекції.***
- ***Лабораторна діагностика.***

# Питання для самостійного вивчення

1. Структура геному ВІЛ. Генетична і білкова мінливість.
2. Епідеміологія, патогенез, клінічні прояви ВІЛ-інфекції.
3. Лікування і профілактика СНІД.
4. Структура геному вірусів герпесу.
5. Особливості життєвого циклу вірусів герпесу.
6. Патогенез інфекцій, викликаних герпесвірусами. Профілактика.
7. Принцип ІФА. Різновиди.
8. Метод імуноблотингу.
9. Метод імунофлюоресценції.
10. Метод *real-time* ПЛР

# Рекомендована література


- Мікробіологія: Підр. для студ. / І. Л.Дикий, І. Ю.Холупяк, Н. Ю. Шевельова, та ін. 2-е вид.– Х. : Вид-во НФаУ, 2006. – 432 с.
- Микробиология: Руководство к лабораторным занятиям. Учеб. пособие для студентов высших учебных заведений / И.Л. Дикий, И.И Сидорчук, И.Ю. Холупяк и др. – Х.: Изд-во НфаУ; Золотые страницы, 2002.- 444 с.
- Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. / За редакцією В.П. Широбокова/ Видання 2-е. - Вінниця: Нова Книга. 2011. – 952 с.
- Вирусология: Учеб. пособие для студентов медицинсих вузов/ Под ред. А.Г. Букринской. - 2-е издание. – Луганск , " Виртуальная реальность", 2012, 364с.
- ПОРЯДОК проведення тестування на ВІЛ-інфекцію та забезпечення якості досліджень [: Наказ МОЗУ № 718 від 17.09.2012. Електронний ресурс] – Режим доступу: http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/z1927-12 - 24.09.2018. - Заг. з екрану.
- ДЕРЖАВНІ САНІТАРНІ ПРАВИЛА ДСП 9.9.5.-080-02 Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю. Затверджено Постановою Головного державного санітарного лікаря України від 28 січня 2002 р. № 1.

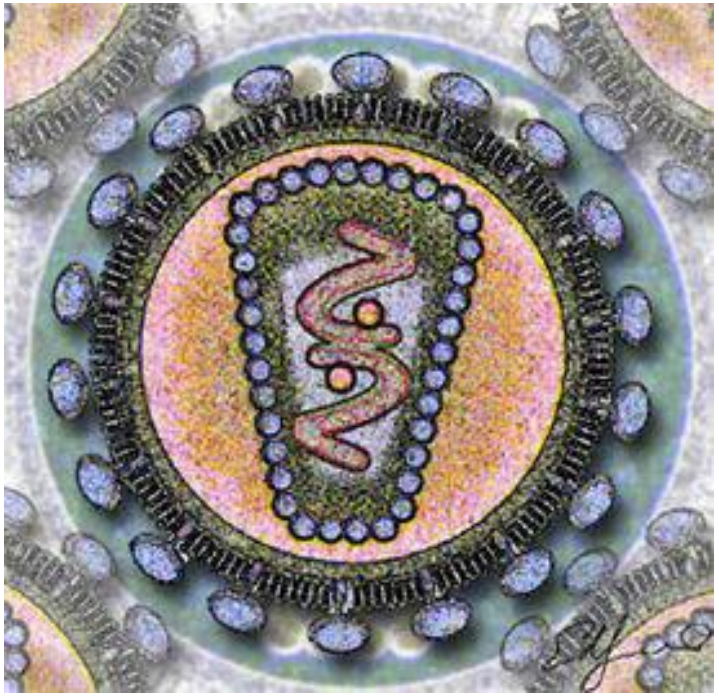
# ВІЛ - Таксономія

- Родина ***Retroviridae*** (**ретровіруси**)
- Підродина – ***Lentivirinae*** ***(*****лентівіруси*****)***
- Синоніми – HTLV-III, LAV *(віруси, асоційовані з лімфоаденопатією)*, AIDS

з 1986 р. –рішення експертів ВООЗ – **HIV (ВІЛ)**

***Відкритий в 1983 р.*** незалежно в двох лабораторіях:

1. В Інституті Пастера в Парижі **Люком Монтан'є** (*виділив з периферичної крові* )
2. У Національному інституті раку в США **Робертом Галло** (*виділив з лімфатичного вузла*)

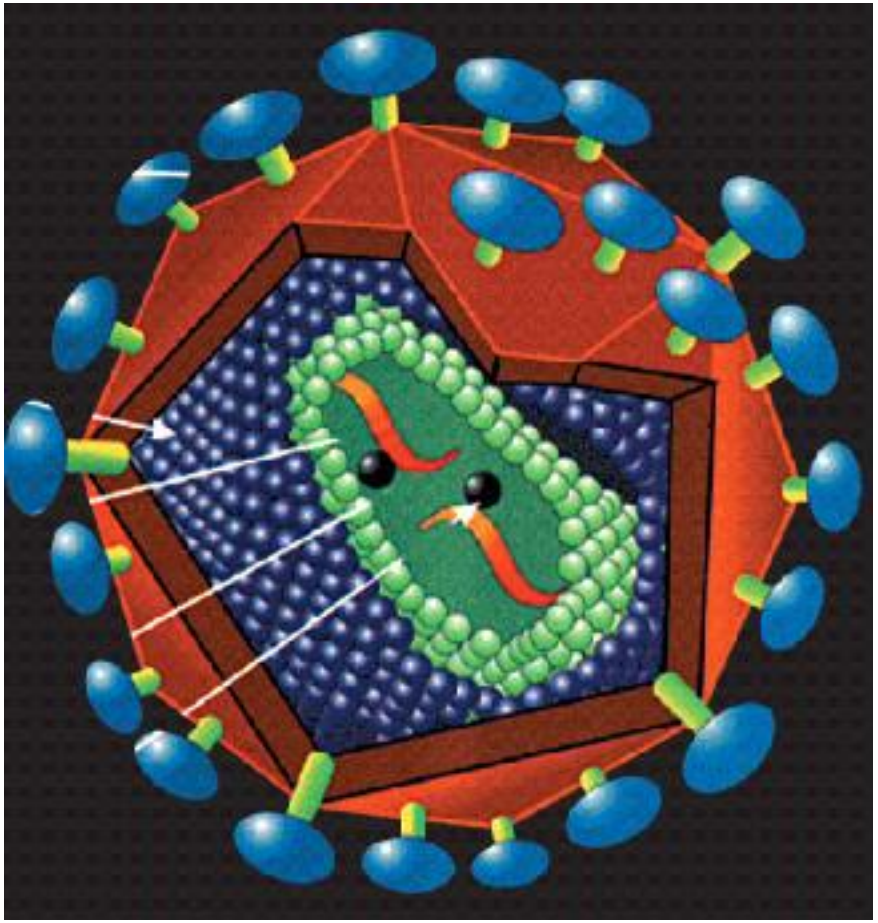


існують принаймні **два** споріднених типу збудника імунодефіциту людини:

**ВІЛ-1** і **ВІЛ-2**.

Зазвичай СНІД викликається одним з них, хоча описані випадки одночасного існування в організмі людини обох типів вірусів.

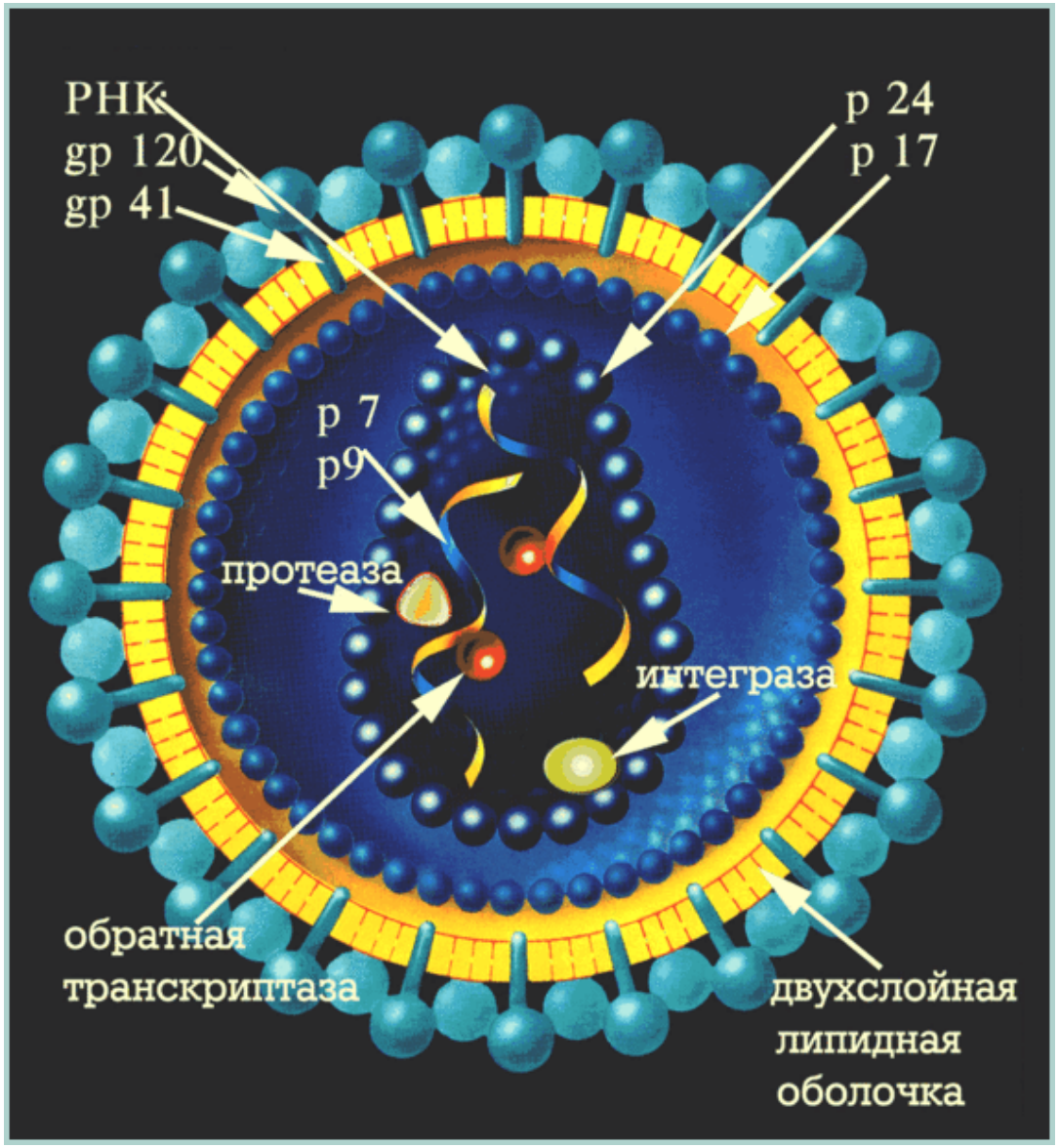
# Структура ВІЛ



***РНК-вміщуючий ретровірус**, у якого на матриці РНК за допомогою ферменту **зворотньої транскриптази (ревертази)** синтезується ДНК, яка потім вбудовується в геном клетини-господаря.*

**Геном представлений двома не зв'язаними нитками +РНК. Має 11 генів, з них 3 кодують структурні компоненти віріона, решта - регуляторні**

# Структура ВІЛ



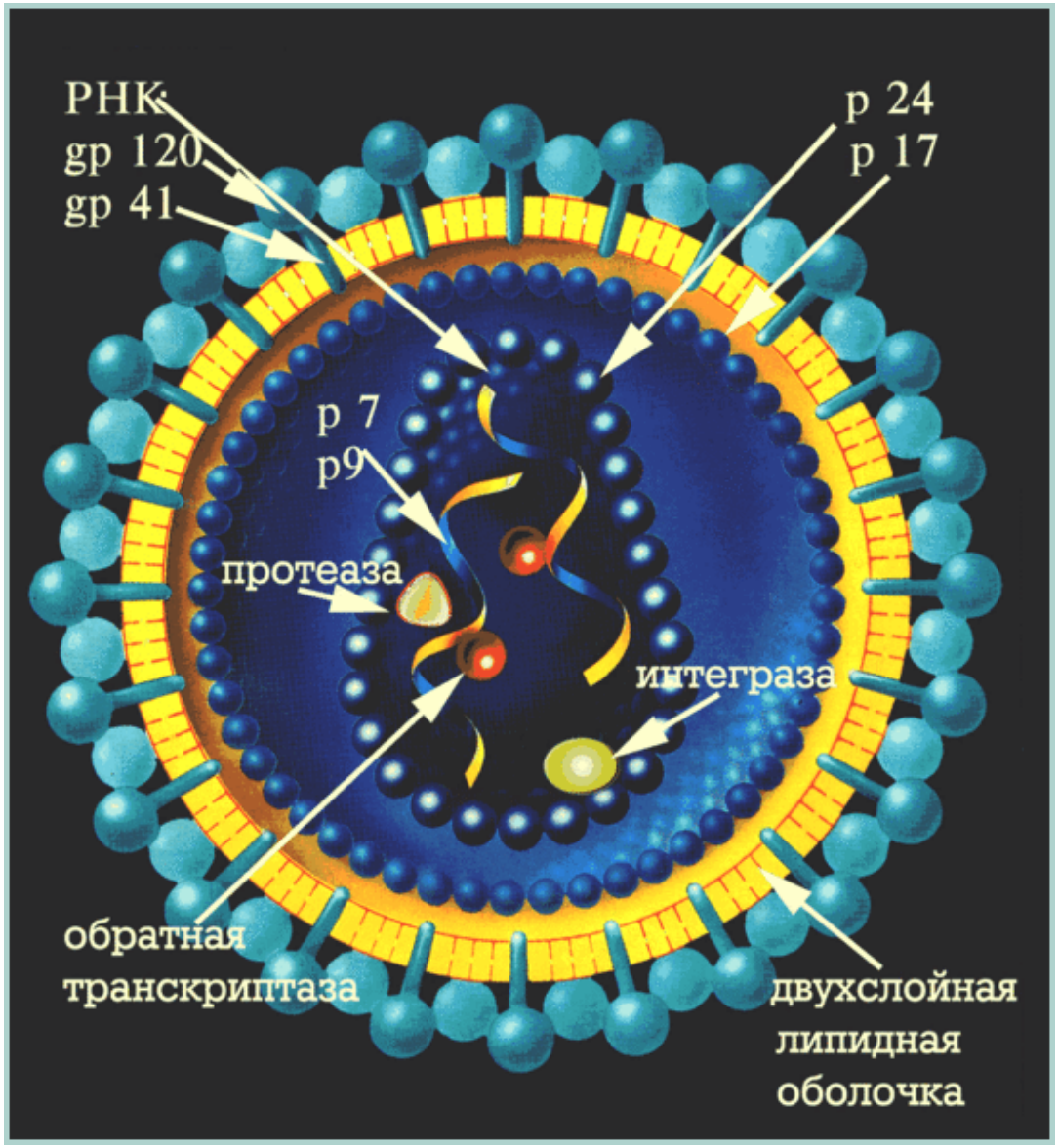

Зрілі віріони мають сферичну форму, **розміри ≤ 100-120 нм** в діаметрі.

Капсид утворює **білок p24**.

Геном оточений матричною оболонкою, утвореною білком **p17**.

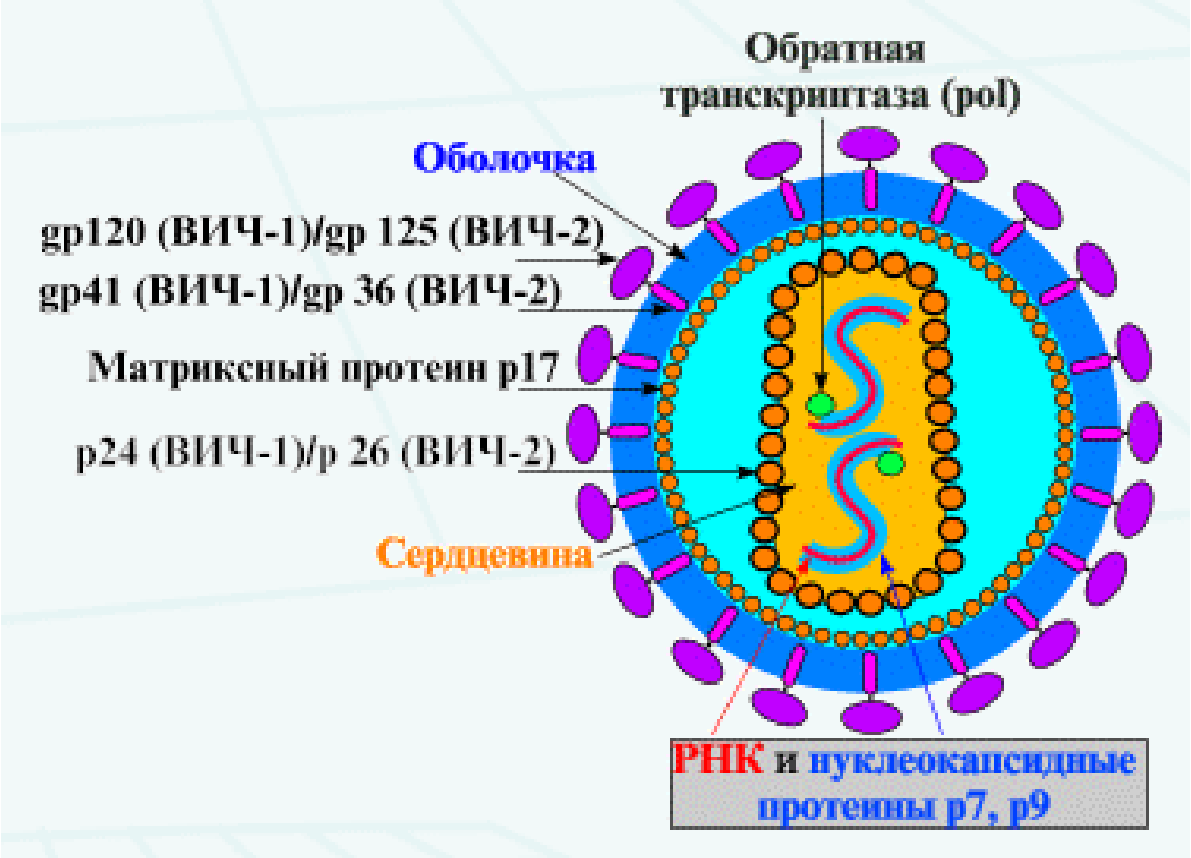
В серцевині вірусу розташовуються 2 нитки РНК, **внутрішні білки (p7 і p9), ферменти зворотна транскриптаза, протеаза** і **інтеграза**.

# Структура ВІЛ




**Суперкапсид утворений подвійним ліпідним шаром, який пронизують глікопротеїнові шипи. Кожен шип складається з білків gp120 і gp41. Глікопротеїни gp 120 локалізовані в виступаючій частини шипа і взаємодіють з молекулами CD4 на мембранах Т-клітин. Глікопротеїни gp41 (білки злиття) розташовуються усередині оболонки віруса і забезпечують її злиття з клітинною мембраною.**

# Антигенна структура




**Антигенними властивостями володіють білки капсиду і суперкапсиду.**

**Групо- і видоспецифічні антигени ВІЛ = серцевинні білки p24, типоспецифічні антигени = оболонкові глікопротеїди gp120 і gp41, за структурою яких і розрізняють ВІЛ-1 і ВІЛ-2.**

# ОСОБЛИВІ ОЗНАКИ ВІЛ

- **Не викликають злоякісної трансформації клітин,**
- **мають складну систему негативної та позитивної регуляції і спеціальні регуляторні гени: rev, tat, nef, vif, vpu, vpr,**
- **можуть протягом тривалого часу перебувати в латентному стані і починають експресуватися після індукції різними агентами, які індукують також імунну відповідь,**
- **Як і інші ретровіруси, мають надзвичайно варіабельний геном. Швидкість мутації у HIV-1 в мільйон разів вище, ніж у ссавців, і становить $10^{-4}$ - $10^{-3}$ мутацій на одну пару основ на один цикл реплікації. Тому ВІЛ легко уникає знищення імунною системою господаря і утворює варіанти, стійкі до нейтралізації антитілами.**
- **Найбільш мінлива структура глікопротеїдів зовнішньої оболонки вірусу**

# Резистентність ВІЛ

- ***Не стійкий*** у зовнішньому середовищі (гине під дією високих (56˚ С протягом 30 хв., при кипятінні через 13 хв) і низьких температур (декілька місяців), чутливий до традиційних дезінфектантів та антисептиків.

- **Стійкий** до УФ променів, радіації **! ! !**
- При кімнатній температурі **залишається заразним** у висушеному стані 4 - 7 днів
- **Стійкість підвищується**, якщо вірус знаходиться в біологічній рідині (кров, сперма та інш.)

# Резистентність ВІЛ

- В зовнішньому середовищі, при висушуванні лімфоїдних клітин, інфікованих ВІЛ, вірусна активність зникає протягом декількох діб.
- При висушуванні безклітинної рідини з додаванням людської плазми вірус гине за температури (23-27)°С через 7 днів.
- В рідкому середовищі за температури (23-27)°С вірус зберігає активність протягом 15 днів, при (36-37)°С - 11 днів.
- В крові, призначеній для переливання, вірус переживає роки, а в замороженій сироватці його активність зберігається до 10 років.

# СНІД

**Синдром набутого імунного дефіциту** (англ. AIDS, **Aquired Immunodeficiency Syndrom**) - антропонозне хронічне вірусне інфекційне захворювання, завершальна стадія ВІЛ-інфекції (англ. **Human immunodeficiency virus**, HIV), різноманітне за клінічними проявами, характеризується зниженням кількості $CD_4$ + лімфоцитів-хелперів, множинними опортуністичними інфекціями, неінфекційними і пухлинними захворюваннями.

# Епідемія ВІЛ/СНІДу в Україні

http://www.antiaids.org/news/aids_stat/spid-v-ukraine-statistika-na-01012018-11253.html

- **Україна** залишається лідером у Європі за масштабами поширення ВІЛ-інфекції. За оцінками експертів, **в Україні з ВІЛ-інфекцією живе до 240 тисяч осіб**. І тільки кожен другий знає про свій діагноз – **станом на 1 травня 2018 року на обліку в Україні перебуває 143 766 ВІЛ-позитивних пацієнтів.**
- **З 2014 року епідситуація в Україні стрімко погіршується**. За 2017 рік кількість нових випадків ВІЛ-інфекції виросла на 6,6% у порівнянні з 2016 роком.
- Захворювання поширюється не тільки серед груп ризику (наркоманів, працівників секс-індустрії), але і серед всього населення.
- Більше 77% серед ВІЛ-позитивних - це українці працездатного віку (15-49 років).
- За 20 років розповсюдження інфекції більше 12 тисяч хворих вже померли
- В Україні щодня реєструється 48 випадків захворювання на ВІЛ-інфекцією.

Найбільш уражені ВІЛ-інфекцією регіони України
(нові випадки ВІЛ-інфекції)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
3 580
2 698
1 725
1 473
998
923
Дніпропетровська
Одеська
м. Київ
Донецька
Київська
Миколаївська
2015
2016
2017

# Епідеміологія СНІДу

***Джерело інфекції:*** вірусоносії
хворі на СНІД люди

Кількість носіїв вірусу в світі - 39 млн.
Кожні 8-19 міс. загальне число хворих у світі подвоюється

***Механізми зараження:***

- Контактний статевий,
- Гемотрансфузійний,
- Вертикальний,
- Артифіціальний (*штучне зараження людини в лікувальних установах в основному при інвазивних процедурах*).

# Зараження різними шляхами
(за Р.М. Хаітовим)

| Шляхи передачі | Вірогідність зараження при одноразовому впливі, % | Вклад в розповсюдження епідемії, % |
|---|---|---|
| Сексуальні контакти (вагінальні, анальні, оральні) | 0,1 – 1,0 | 70 - 80 |
| Переливання крові і препаратів з неї | > 90 | 3 - 5 |
| Парентерально (забруднені медичні та інші інструменти) | 0,5 – 1,0 | 5 - 10 |
| Поранення медперсоналу забрудненими інструментами | < 0,5 | < 0,01 |
| Перинатальне інфікування (вагітність, пологи) | 30 | 5 - 10 |

**Рідкісні випадки зараження - професійний і побутовий: зараження через пошкоджені шкіру і слизові при контакті з кров'ю або деякими секретами (слизом з піхви, спермою, грудним молоком, виділеннями з ран)**

# Розподіл заражених ВІЛ біосубстратів людини за ступенем інфекційності

| Біосубстрати | Заражаючих од. в 1 мл біологічн. рідини | Примітка |
|---|---|---|
| Кров | До 3000 | Високо інфекційна |
| Сперма | 10-50 | Інфекційна |
| Вагінальний секрет | 1 | Інфекційний |
| Грудне молоко | 1 | Інфекційне |
| Сльози | < 1 | Не приводять до зараження |
| Слина | < 1 | Не приводить до зараження |
| Піт | < 1 | Не приводить до зараження |

# Патогенез

Проникнення вірусу до організму

Клітини, що мають **рецептори адсорбції СД 4** (**Т-лімфоцити-хелпери**, тромбоцити, макрофаги, нейрони, гліальні клітини, клітини Лангерганса та ін.)

регулюють роботу всіх ланок імунітету, клітинного і гуморального

Дисфункція імунної системи

Тотальний розлад імунної системи

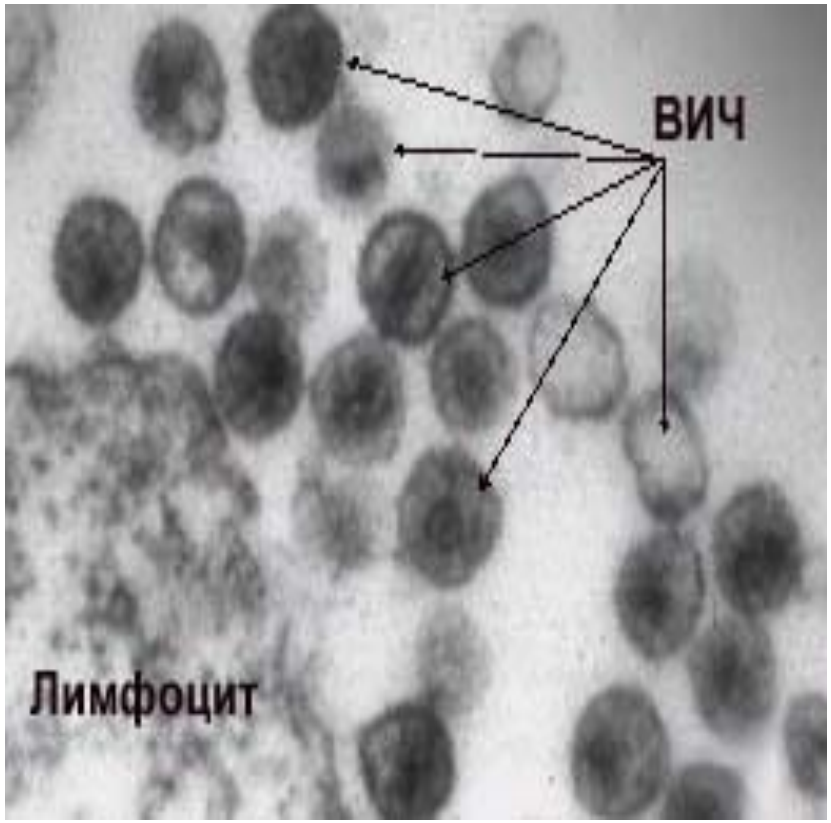
беззахисність перед антигенами:
екзогенними (бактерії, віруси, гриби, найпростіші) і
ендогенними (пухлинні)

розвиваються вторинні інфекційні та онкологічні захворювання

**ВІЛ вражає основні регуляторні клітини імунної системи**:

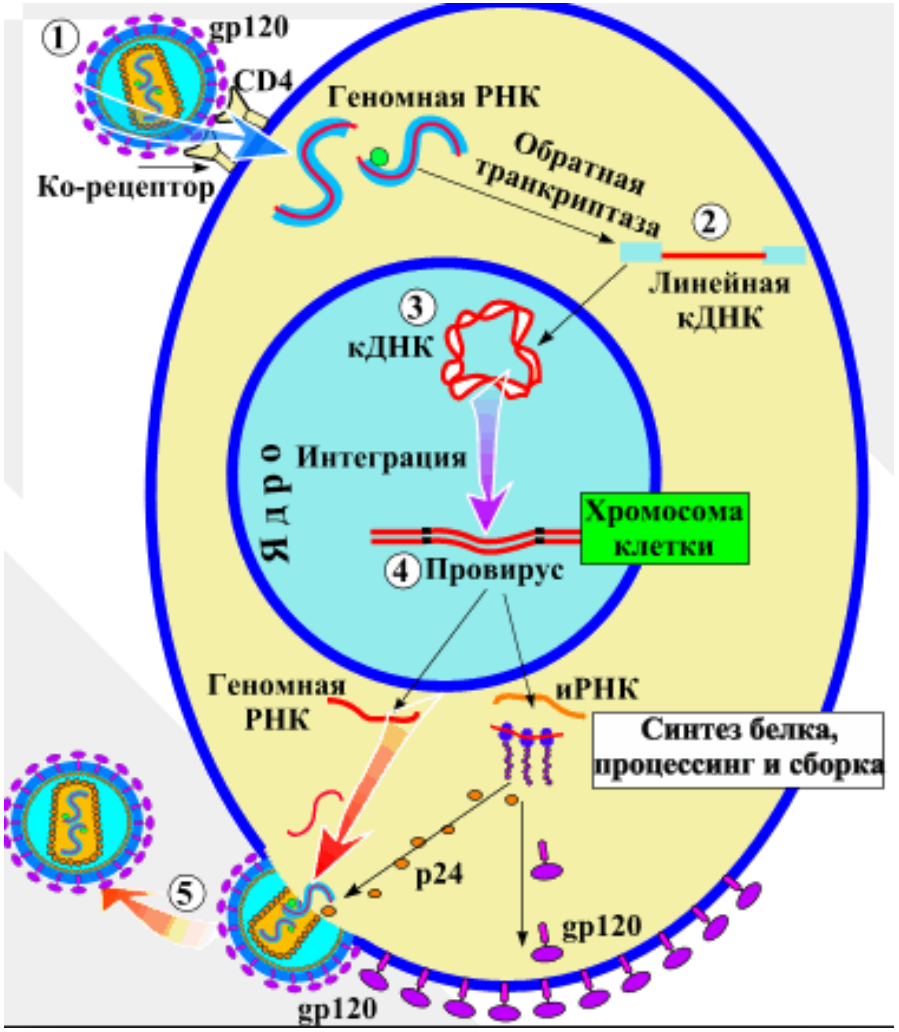
**Т- хелпери та макрофаги**

На відміну від інших вірусів, які викликають тимчасовий імунодефіцит, **ВІЛ викликає незворотні зміни в імунній системі** (зруйновані клітини не відновлюються)



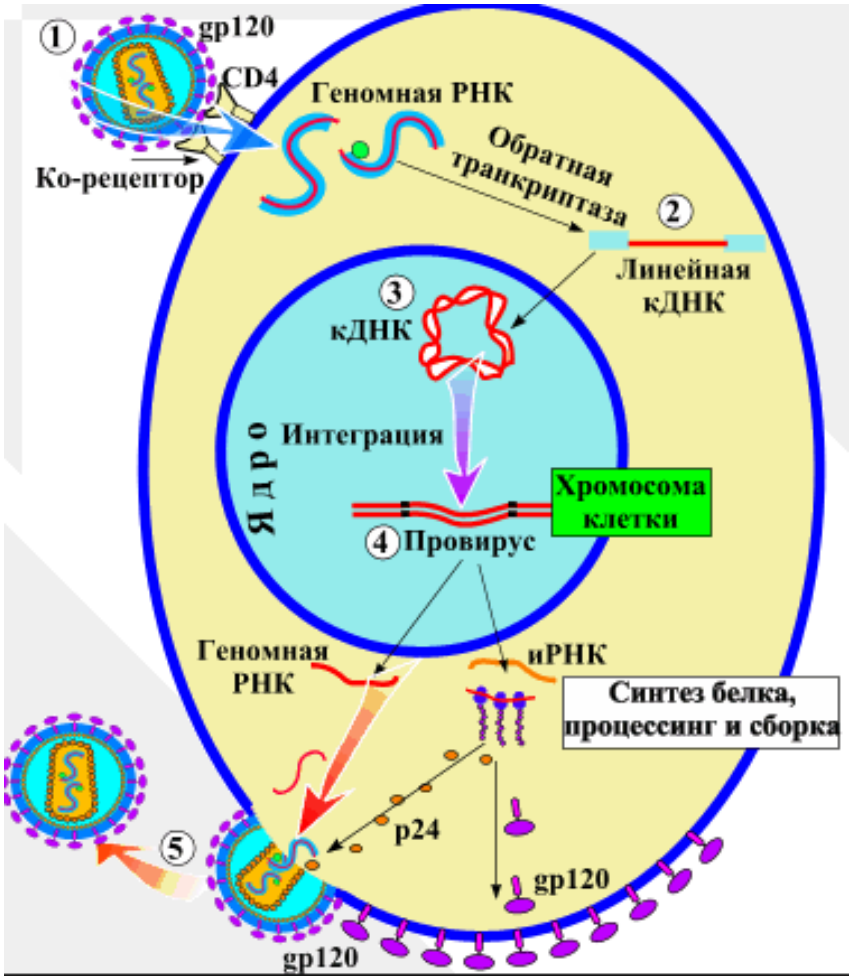
# Схема репродукції ВІЛ

1. **Адсорбція** - gp120 зв'язується з рецептором CD4 клітини-мішені, gp41 забезпечує злиття мембран, вірус потрапляє в клітину
2. **Депротеїнізація**
3. **Вихід РНК** вірусу в цитоплазму
4. **Зворотня транскрипція** - фермент ревертаза утворює на РНК однонитеву ДНК-копію, потім добудовує другу нитку ДНК



# Схема репродукції ВІЛ

5. **ДНК-копія вірусу** за допомогою вірусного ферменту інтегрази **вбудовується в ДНК клітини-господаря**
Такий стан вірусу наз. **ПРОВІРУС.**
6. **Транскрипція провірусу**, в результаті утворюються вірусні РНК
7. **Трансляція** - в рибосомах клітини на РНК вірусу синтезуються вірусні білки
8. **Складання ВІЛ і вихід з клітини**



# Перші прояви ВІЛ - інфекції

- У 50 - 90% інфікованих осіб **відзначаються в перші три місяці після зараження.**
- Найбільш часті первинні прояви практично нічим не відрізняються від звичайних ГРЗ, грипу: підвищення температури, збільшення лімфатичних вузлів, болі в горлі, кашель, нежить, висипання.
- **"Період вікна"** - період, від моменту зараження до появи в крові антитіл до ВІЛ, тривалість цього періоду в середньому, **від 3-х тижнів до 3 місяців, іноді і до 9 місяців.**
- Під час "періоду вікна" і безсимптомного періоду людина заразна для своїх статевих і наркотичних партнерів.

**ВІЛ-антитіла з'являються через 2-4 тижні після інфікування і визначаються на всіх стадіях ВІЛ**

# Стадії СНІДу

1. **Інкубаційний період** - декілька тижнів - 10 і > років (в середньому 3 – 5 р.)

Через 2-4 тижні в крові виявляються антитіла до ВІЛ!

2. **Рання** (субфебрильна температура, ангіна, збільшення лімфовузлів, печінки, селезінки, стомлюваність, головний біль, артралгія, міалгія, плямистий висип (у 40-50%)

3. **Проміжна** (генералізована лімфаденопатія, пітливість, діарея, лихоманка, «безпричинне схуднення» та ін.

4. **Пізня** (власне СНІД)

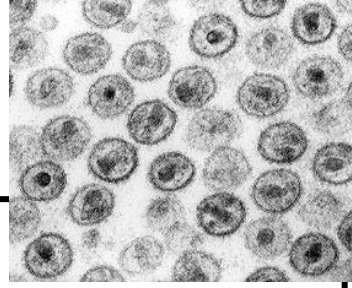
**А.** розвиток множинних інфекційних захворювань:

- вірусні (герпесвірус, папіломавірус),
- грибкові - (кандидоз, криптококоз),
- бактеріальні (прогресує туберкульоз),
- паразитарні (токсоплазмоз, амебіаз, пневмоцистна пневмонія).

**Б.** розвиток новоутворень - саркома Капоші.

# Хворий в термінальній стадії

# Лабораторна діагностика



| Напрямок | Метод | |
|---|---|---|
| **Індикація ВІЛ і його компонентів** | Вірусо-скопічний (обмежений) | Вірус можна виявити тількив електронному мікроскопі при кількості > 100 тис в 1 мл матеріалу |
| | Молекулярно-біологічний | Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – виявлення РНК вірусу, ДНК провірусу ВІЛ |
| **Виявлення антитіл до ВІЛ та антигенів ВІЛ** | **Серологічний** | •імуноферментний аналіз (ІФА)<br>•Швидкі тести<br>• імунний блот (підтверджуючий) |
| **Визначення змін в імунній системі** | на ранніх стадіях | Зниження числа Т-лімфоцитів, в тому числі клітин Т-хелперів, різко підвищене число Т-супресорів |
| | на пізніших стадіях | Загальна лімфопенія, нейтропенія, тромбоцитопенія, анемія. |

# Основний метод діагностики – серологічний (наказ МОЗУ № 178)

**СЕРОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ВІЛ-інфекції є основною при виявленні ВІЛ-інфікованих осіб. Скринінгова та підтверджуюча. Базується на:**

- **визначенні сумарного спектру АНТИТІЛ АБО/ТА АНТИГЕНУ ВІЛ або**
- **сумарного спектру антитіл**

**За допомогою ІМУНОФЕРМЕНТНОГО (основний), імунохемілюмінесцентного, електрохемілюмінесцентного аналізу або швидких тестів.**

- **Позитивні зразки сироваток потребують подальшого тестування в підтверджувальних (верифікаційних) дослідженнях відповідно до визначених алгоритмів**

**СЕРОЛОГІЧНІ МАРКЕРИ ВІЛ - антиген р24 та антитіла до ВІЛ 1/2**

- **Матеріал для лабораторного дослідження** - сироватка, плазма або цільна кров, залежно від методу, що застосовується для діагностики ВІЛ-інфекції.
- **Для забору крові використовують закриті вакуумні системи** для всіх контингентів обстежуваних осіб.
- **Строк доставки зразків у лабораторію** та проведення дослідження визначається типом пробірки для забору крові.
- **До моменту передачі в лабораторію** вакуумні пробірки з кров'ю зберігають за температури 2-8 град.С та транспортують у спеціальних контейнерах із холодоагентом.

- **У разі якщо немає можливості доставити зразки крові для проведення лабораторних досліджень на наявність серологічних маркерів ВІЛ у відповідну лабораторію протягом визначеного строку, необхідно приготувати сироватку крові**
- **Для тестування використовують лише тест-системи, що зареєстровані в Україні**
- **Робота в лабораторії здійснюється з дотриманням таких правил індивідуального захисту відповідно до ДСП 9.9.5-080-02**

- **Для проведення скринінгових досліджень використовують тест-системи для ІФА, ІХЛА, ЕХЛА для визначення антитіл класів M, G, A та/або швидкі тести.**
- **Для тестування донорської крові, донорів органів, тканин, клітин необхідно використовувати лише тест-системи, що дозволяють одночасно виявляти антитіла до ВІЛ 1/2 та антиген p24 ВІЛ.**
- **Тестування за допомогою швидких тестів на постійній основі проводять для всіх груп населення, окрім донорів крові, органів, клітин, тканин, сперми та інших біологічних матеріалів, а також дітей у віці до 18 місяців, народжених ВІЛ-інфікованими матерями.**
- **Тестування на двох швидких тестах здійснюють на тестах двох різних виробників: перший тест - з найвищим показником чутливості, другий тест - з найвищим показником специфічності**

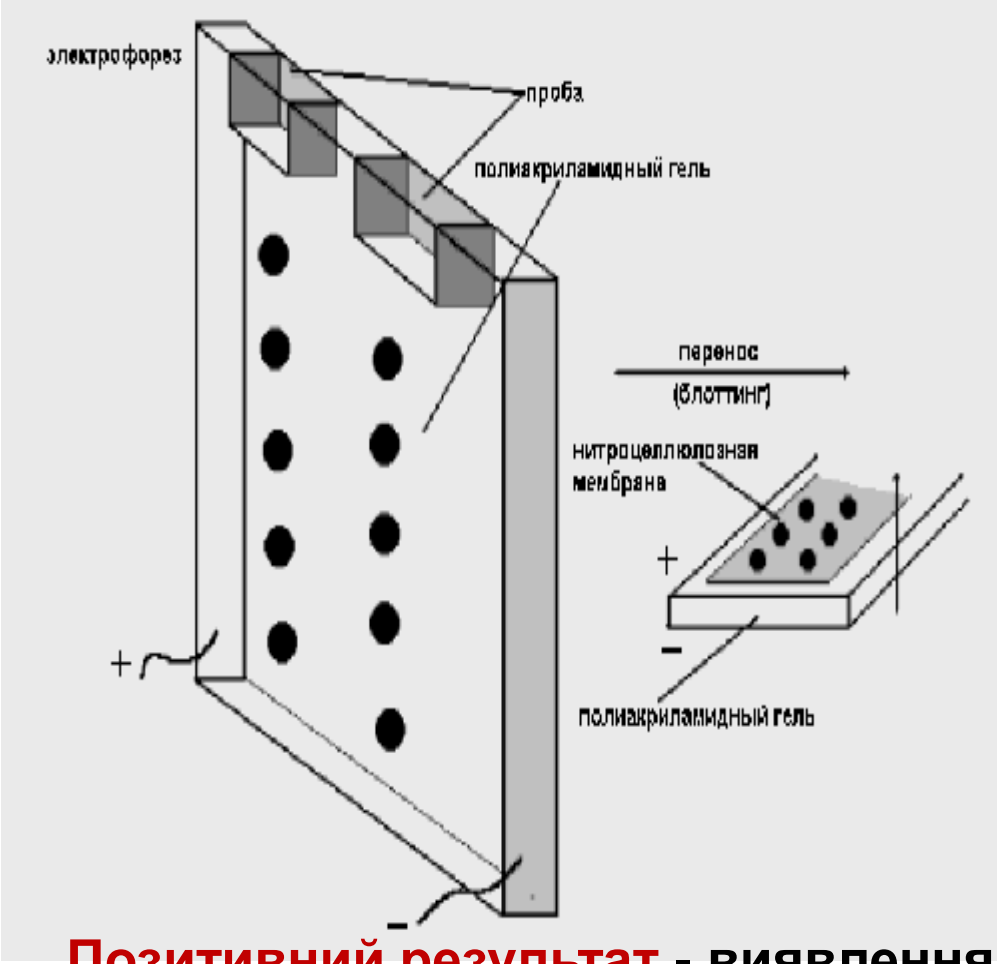
- **Тести для виявлення антигену р24 ВІЛ надають можливість визначати вільний антиген у сироватці або плазмі крові. Цей тест можна використовувати:**
- **для тестування пацієнтів на ранній стадії ВІЛ-інфекції або ВІЛ-інфікованих на стадії прогресування захворювання,**
- **додатково при проведенні підтверджувальних досліджень**

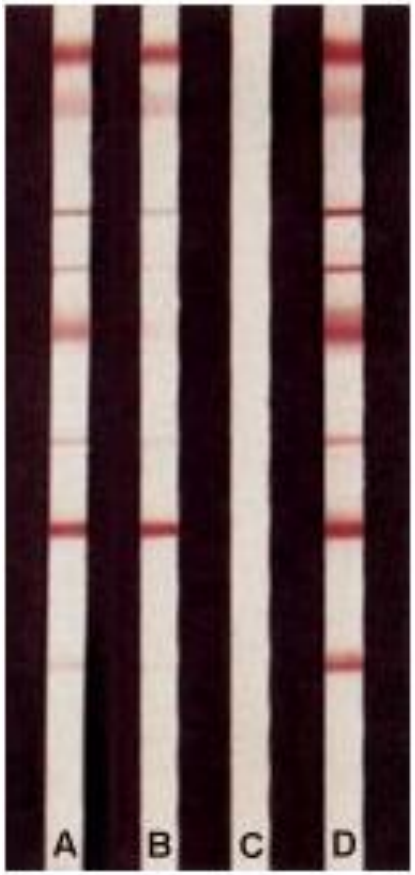
**Імунний блот (**Western Blot) **широко використовується в лабораторіях та вважається експертним (уточнюючим) при проведенні ПІДТВЕРДЖУВАЛЬНИХ досліджень.**

**Імуноблотинг - виділення антитіл (АТ) до окремих білків - p17, p24, gp41, gp120 ВІЛ-1 та gp36, gpl05, gpl40 ВІЛ-2.**

**Імуноблотинг - поділ суміші білків сироватки крові методом електрофорезу в поліакриламідному гелі, нанесеному на нітроцелюлозну платівку.**

# ІМУНОБЛОТ

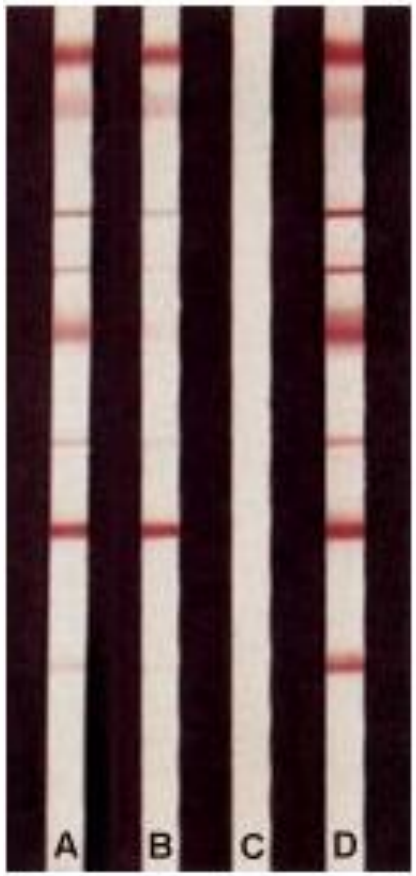



**Позитивний результат - виявлення в сироватці антитіл до двох вірусних білків з групи env з наявністю або відсутністю білків - продуктів інших структурних генів (gag, pol);**

# ІМУНОБЛОТ

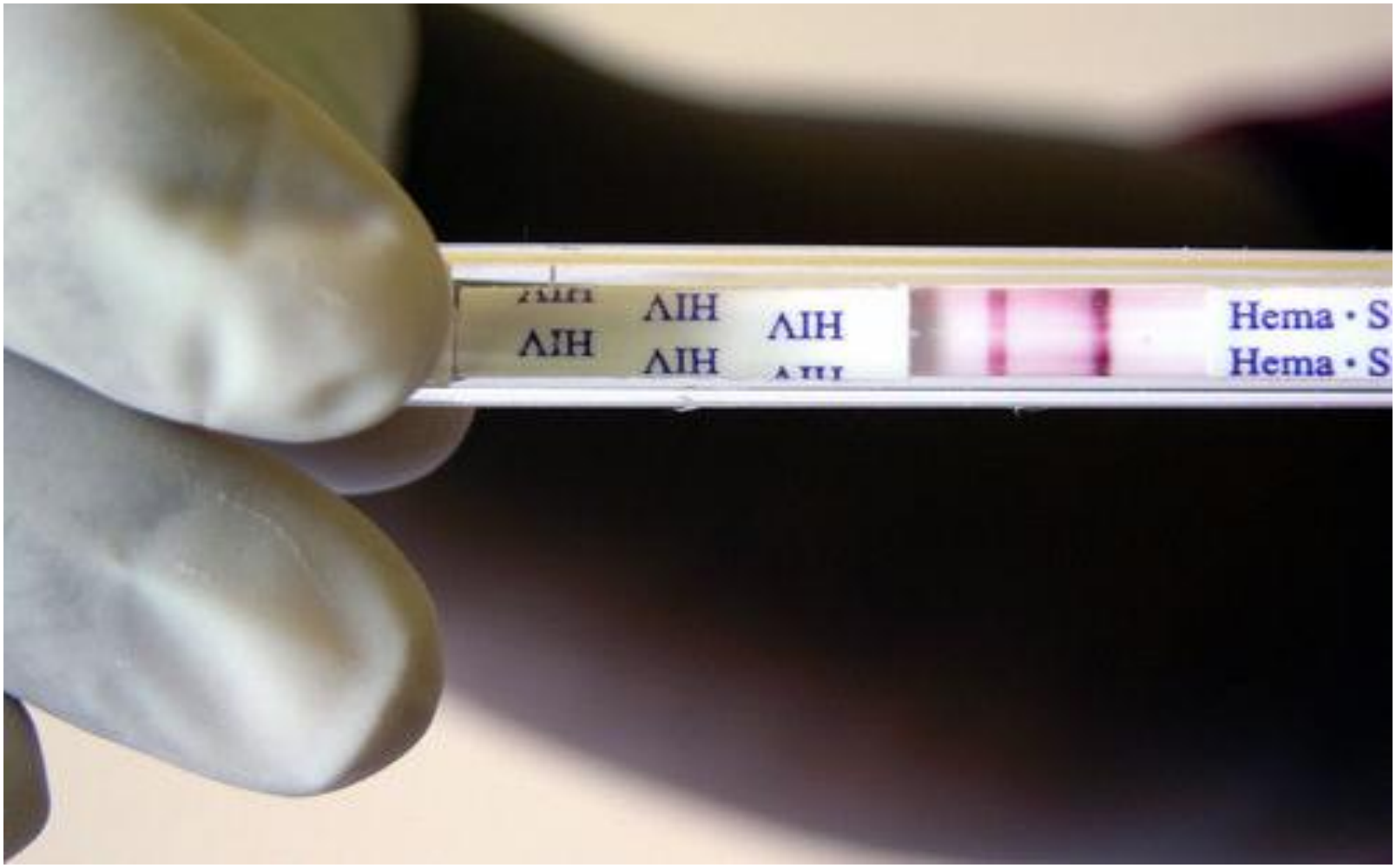
**A - Позитивний контроль**
**B - Слабкопозитивний контроль**
**C – Негативний контроль**
**D – Позитивна проба (наявність антитіл до ВІЛ)**




**У позитивному контролі і досліджуваній пробі наявні смуги:**

| | |
|---|---|
| gag | p17, p24, p55 (оболонка) |
| pol | p31 (ендонуклеаза), p51, p65 (зворотна транскриптаза) |
| env | gp 41 (трансмембранний білок)<br>gp120, gp 160 (поверхневі структури) |

# Експрес-тести - імунохроматографічні



# Експрес-тести – імунохроматографічні

**результат отримують через 15 хв.**

# Визначення АТ до ВІЛ у слині

**Беруть  один мазок із зовнішнього боку верхньої і нижньої ясен**

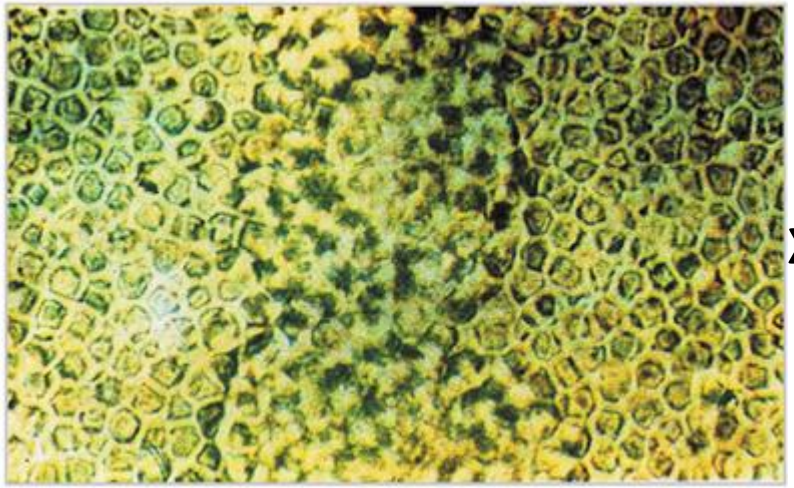
- **Поміщають тестер у флакон зі спеціальним розчином для виявлення**

# результат отримують через 20 хвилин!

- **Негативний**

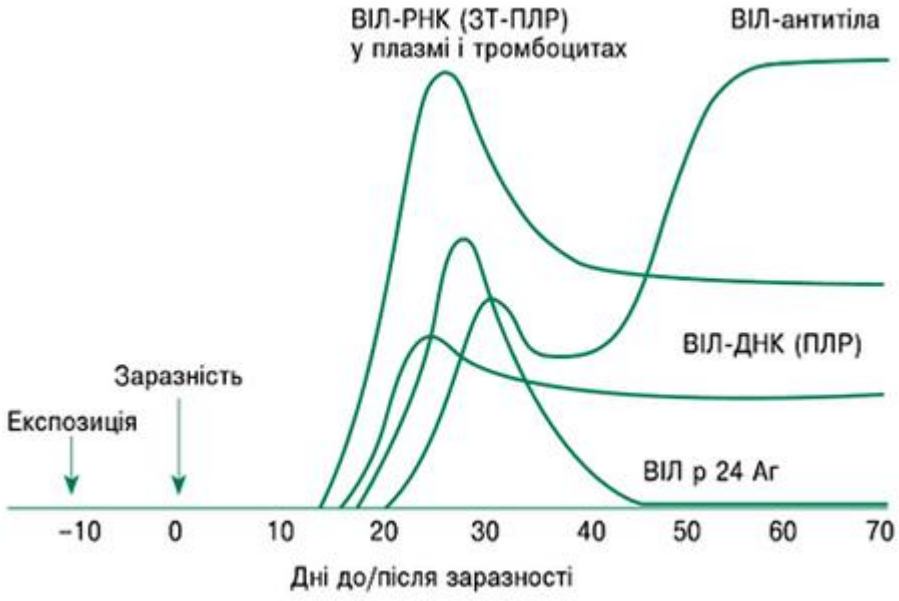
- **Позитивний**

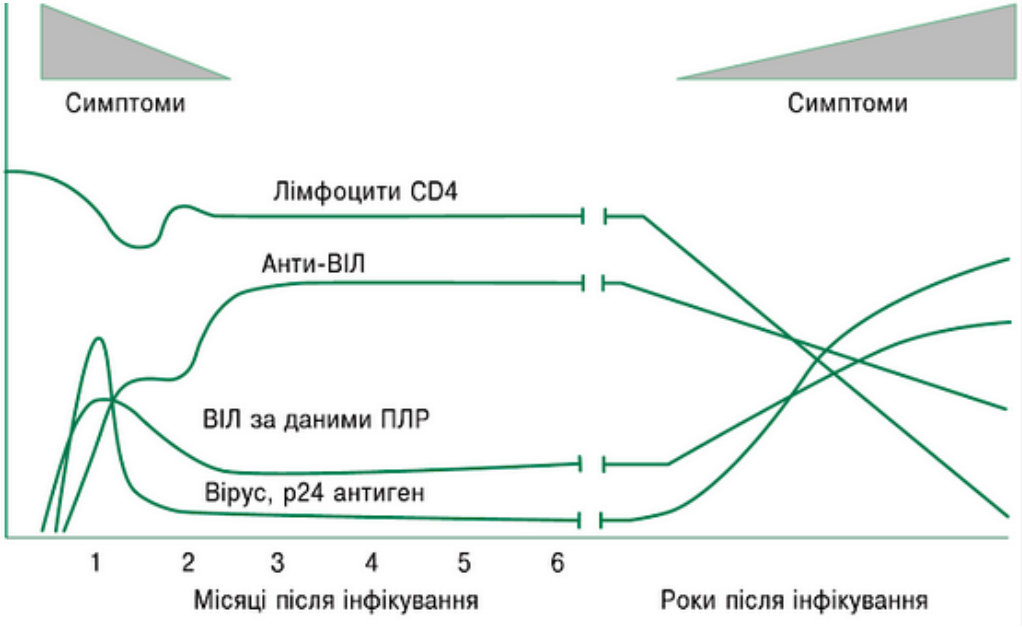
- **2. Метод ПЛР**
- **Виявлення ДНК провірусу ВІЛ в мононуклеарних клітинах периферичної крові;**
- **виявлення РНК ВІЛ в біологічних рідинах організму (наприклад, в плазмі або сироватці крові).**



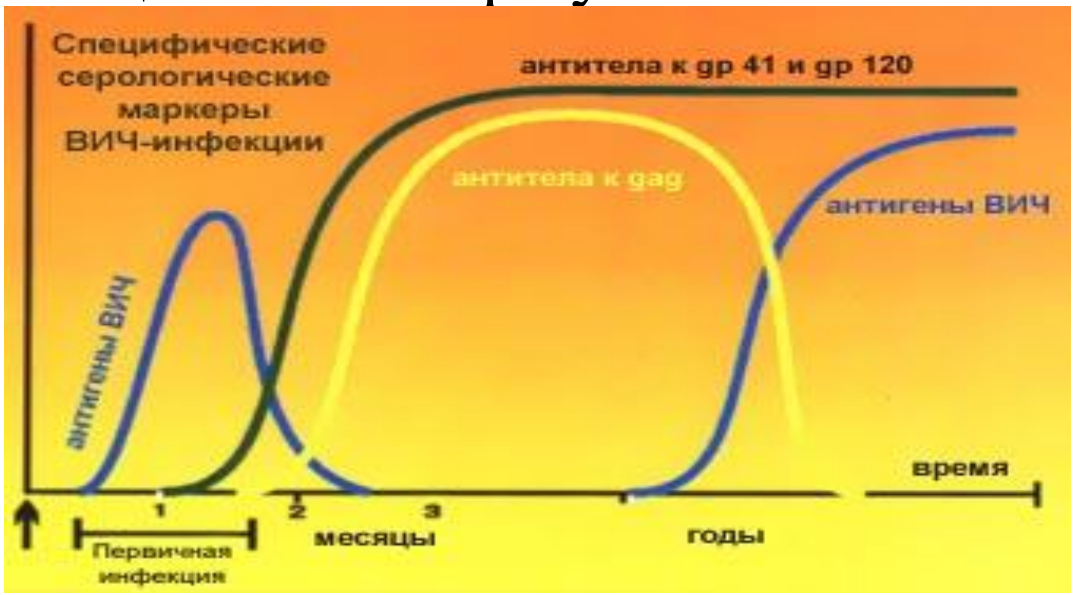
- **3. Виділення ВІЛ в пер**
  **мононуклеарних лімф х**
  **лініях Т4- і В-лімфоцити**
  *симпластів/синцитію*.
  **лімфи, пунктата лімфатичних вузлів, сперми, материнського молока, слини, мокротиння, сечі, цервікального секрету, калу (виконується тільки в спеціалізованих лабораторіях)**

# Маркери ВІЛ-інфекції на різних стадіях захворювання



Встановлено, що ДНК ВІЛ може знаходитися в геномі людини як мінімум 3 роки без ознак активності і антитіла до ВІЛ (за якими його і виявляють) не з'являються. Це один із прикладів складності проблеми СНІДу - адже при переливанні крові, клітини якої несуть такий "сплячий" вірус, цілком можливе зараження. Але типовою є ситуація, коли організм починає виробляти антитіла через 6 - 12 тижнів, рідше - через 8 місяців після інфікування.

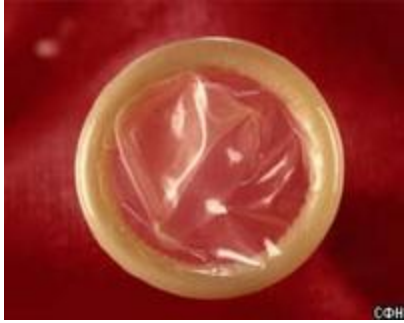


# Імунологічні тести

**<u>Для ВІЛ-інфекції характерно</u>:**

- **1. Лейкопенія**
- **2. Лімфопенія**
- **3. Зниження кількості Т-хелперів**
- **4. Підвищення вмісту Ig сироватки**

# Профілактика



**Профілактика статевого шляху передачі:**

- культура статевого життя
- безпечний секс - використання презерватива.

**Профілактика зараження через кров:**

- використання тільки одноразового медичного інструментарію,
- використання тільки особистих приладів для гігієни,
- перевірка донорської крові, трансплантаційних органів

**Профілактика передачі дитини від ВІЛ - інфікованої мами :**

- спостереження за майбутньою мамою,
- прийом противірусних препаратів під час вагітності, пологів,
- відмова від грудного вигодовування.

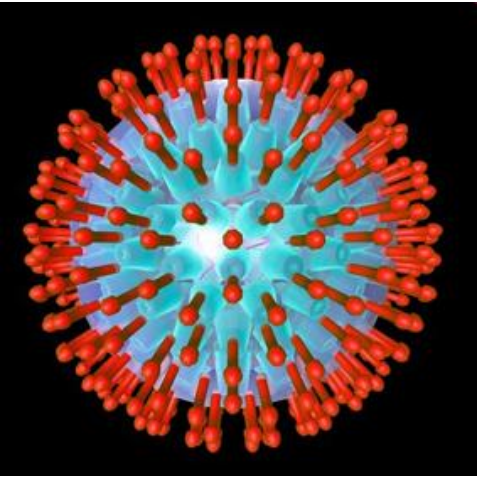
- **СПЕЦИФІЧНА ПРОФІЛАКТИКА НЕ РОЗРОБЛЕНА**

# Куди звернутися?

**Харківський обласний центр профілактики і боротьби зі СНІДом**
м. Харків
вул. Борьби, 6
Тел.: (0572) 92-22-08, 90-19-83
http://www.aids.kharkov.ua/index.html

Эл. почта: mailto:aidsic@vl.kharkov.ua

**МАПА ПУНКТІВ ТЕСТУВАННЯ НА ВІЛ**
**http://www.antiaids.org/maps/testing.html**



# Віруси ГЕРПЕСА

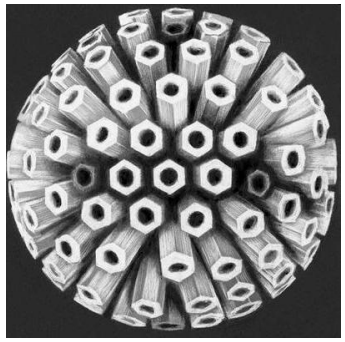
## Родина Herpesviridae

**ДНК-вмісні віруси складної будови, здатні розмножуватися в дуже широкому колі хазяїв та викликати різноманітні захворювання.**

**Більше 100 представників. Для людини патогенні 8**

**Герпесвіруси сгруповані в 3 підродини і 10 родів :**

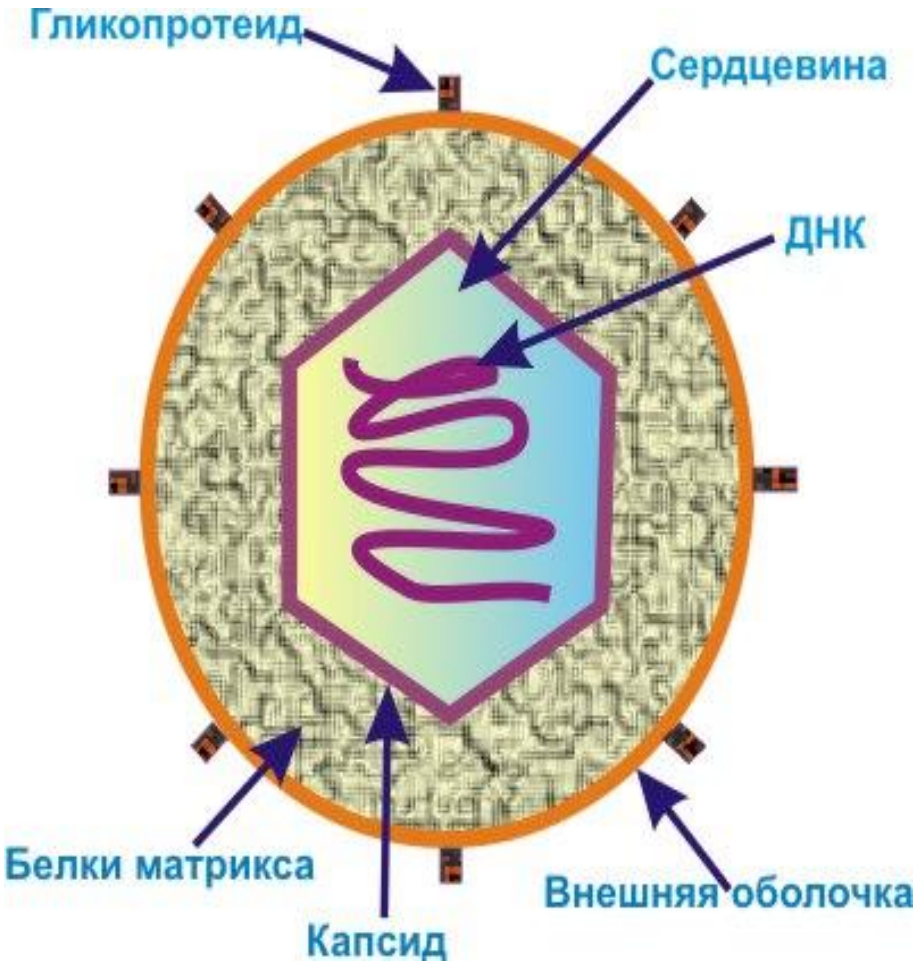
1. **За особливістю послідовності нуклеотидів ДНК-генома та амінокислот –продуктів консервативних генів,**
1. **За наявністю унікальних генів.**



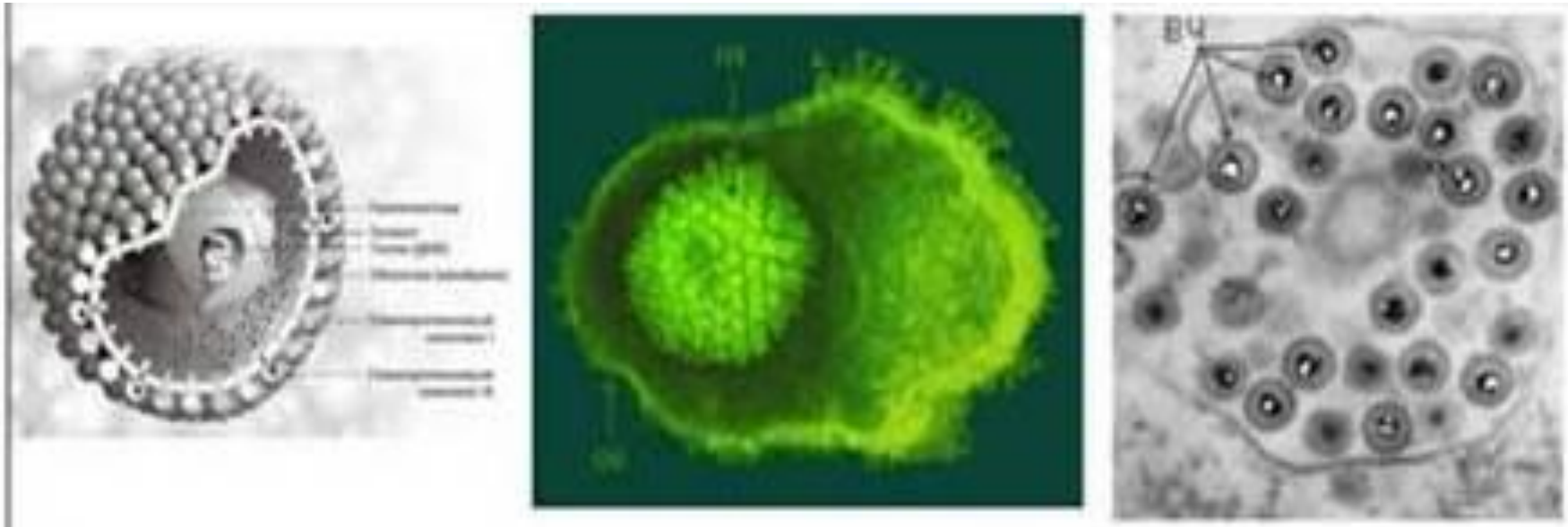
1. **Вірус простого герпесу — ВПГ типу 1** (Herpes simplex virus 1 — HSV-1)= вірус герпесу людини типу 1 - ВГЛ-1
2. **Вірус простого герпесу — ВПГ типу 2** (Herpes simplex virus 2 — HSV-2) = вірус герпесу людини типу 2 - ВГЛ-2
3. **Вірус вітрянки — оперізуючого лишаю – герпес-зостер** (Varicella-zoster virus — VZV) = вірус герпесу людини типу 3 - ВГЛ-3.
4. **Вірус Епштейна—Барр — ВЕБ** (Epstein— Barr virus, EBV) = вірус герпесу лютини типу 4 -ВГЛ-4.
5. **Цитомегаловірус — ЦМВ** = вірус герпесу людини типу 5 – ВГЛ-5.
6. **Вірус герпесу людини типу 6** — ВГЛ-6 (Human herpesvirus — HHV6)
7. **Вірус герпесу людини типу 7** — ВГЛ-7 (Human herpesvirus — HHV7).
8. **Вірус герпесу людини типу** 8 — ВГЛ-8 (Human herpesvirus — HHV8), або ВГ, асоційований з саркомою Капоші.

людину також може вражати мавпячий вірус герпесу типу В (Herpesvirus simiae)

# Будова герпесвірусу




Віріон має **ікосаедричний тип симетрії** й середній розмір — 250–300 нм.
**ДНК** представлена двохнитковою лінійною молекулою, що містить у своєму складі короткий (~18 %) і довгий (~82 %) компоненти.
Зовні є двошаровий мембраноподібний **суперкапсид=пеплос**, що складається з поліамінів, ліпідів і **глікопротеїнових шипів**.
Останні виконують роль рецепторного апарата вірусу.
Між суперкапсидом і нуклеокапсидом міститься а волокниста оболонка білкової природи (**матрикс=тегумент**)




Вирус простого герпеса - ***Herpes simplex***. Содержит ДНК.

Слева - зрелая частица (0.12-0.15 мкм). Справа - вирусные частицы, покидающие ядро инфицированной клетки (электронная микроскопия, х 40.000).

**В родині Herpesviridae сформовано 3 підродини**

1. **Alphaherpesvirinae (альфа-герпесвіруси);**
2. **Bethaherpesvirinae (бета-герпесвіруси);**
3. **Gammaherpesvirinae (гамма-герпесвіруси)**

**1 підродина Alphaherpesvirinae**

**Віруси мають найкоротший цикл репродукції (в середньому 3-4 години) з цитопатичним ефектом в клітинах інфікованих культур. Проявляють тропність передовсім до структур ектодермального походження (шкіра і нервова система). До них відносяться:**

**ВПГ-1,**

**ВПГ-2,**

**ВПГ-3 (Вірус вітрянки — оперізуючого лишаю – герпес-зостер )**

## 2 підродина Bethaherpesvirinae

**Віруси мають триваліший період репродукції (в середньому 6-8 годин), проявляють тропність до структур мезенхімального походження, включаючи імунокомпетентні клітини, персистують в слинних залозах, використовують гематогенний шлях міграції в організмі і проявляють менш виражений цитопатичний ефект, який найчастіше проявляється не у формі висипу або некрозу. Через відсутність специфічних шкірних проявів такі інфекції складніші для клінічної діагностики. До складу входять:**

**ВГЛ-5 - цитомегаловірус людини (ЦМВ),**

**ВГЛ-6,**

**ВГЛ-7**

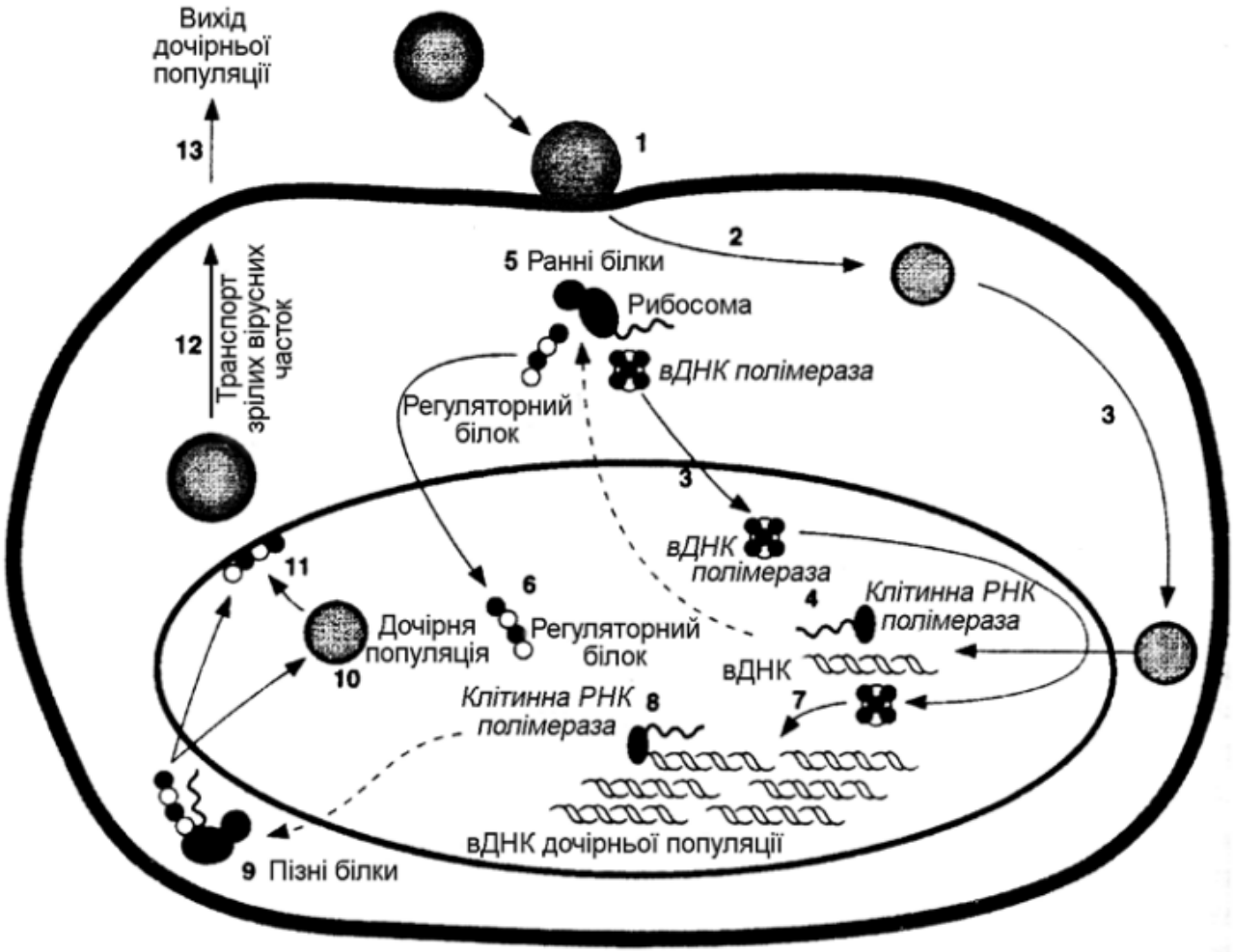
## 3 підродина Gammaherpesvirinae

**Віруси характеризуються тривалим циклом репродукції (в середньому 12-24 годин), проявляють тропність до структур мезенхімального походження, особливо – до В-лімфоцитів, персистують в слинних залозах та імунних органах, використовують гематогенний шлях міграції в організмі, характеризуються максимальною лімфотропністю і майже не чинять цитопатичної дії. Ці віруси втручаються у генетичні механізми регуляції клітинної репродукції, їм притаманний найвиразніший канцерогенний ефект у порівнянні з іншими представниками родини Herpesviridae. До них відносяться:**

**ВГЛ-4 - вірус Епштейна-Барр (ВЕБ);**

**ВГЛ-8 - ВГ, асоційований з саркомою Капоші**

# Цикл репродукції герпесвірусів




1 — адсорбція; 2 — транспорт нуклеокапсиду до ядра; 3 — проникнення вірусної ДНК до ядра; 4 — транскрипція вірусної ДНК; 5, 6, 7, 8 — запуск синтезу вірусних часток (експресія ранніх генів); 9 — експресія пізніх генів вірусу; 10 — збирання дочірніх популяцій; 11 — вихід дочірніх популяцій вірусних часток з ядра; 12, 13 — вихід дочірніх популяцій із клітини.

# Резистентність

- Невисока, **чутливі до** нагрівання, легко інактивуються дез.розчинами (0,5% формалін,

1% фенол, перманганат калію та ін.)

- Особливість! **Тривало зберігається** у висушеному стані, при низьких температурах, в 50% розчині гліцерину !!!
- При кімнатній температурі може зберігатися до 4 годин (тому важливо дезінфікувати унітаз після відвідування туалету при герпесі статевих органів)

# Епідеміологія

- ***Джерела*** ***- хворі і вірусоносії***
- ***Механізми передачі:***
- ***повітряно-крапельний,***
- ***контактний побутової***
- ***контактний статевої,***
- ***вертикальний (ризик захворювань у новонароджених від матері-носія 40-60%),***
- ***Як госпітальна інфекція (ризик при переливанні крові 10-12%)***

# Клінічна класифікація герпесвірусів

| Вид герпесвірусу | Гостра інфекція (основні прояви) | Хронічна інфекція (основні прояви) |
|---|---|---|
| Вірус простого герпесу 1 типу, рід Simplexvirus | Орофаціальний герпес, кератокон'юнктивіт, скроневий енцефаліт | Герпес слизових оболонок і шкіри, кератокон'юнктивіт, гепатит, скроневий енцефаліт, неврит лицьового нерву, інші неврологічні ураження |
| Вірус простого герпесу 2 типу, рід *Simplexvirus* | Генітальний герпес, герпес новонароджених, дисемінований герпес | Такі, як і в HSV-1, з переважанням генітального герпесу, уражень периферичної і центральної нервової системи на попереково-крижовому рівні |
| Вірус *Varicella zoster, Varicellovirus* | Вітряна віспа, дисемінована вітряна віспа | Оперізуючий герпес, синдром Рамсая Ханта, серозний менінгіт, васкуліти церебральних судин, мієліт, гігантоклітинна пневмонія та інші органні ураження |

| Вид герпесвірусу | Гостра інфекція (основні прояви) | Хронічна інфекція (основні прояви) |
|---|---|---|
| Вірус Епштейна-Барр, рід роду *Lymphocryptovirus* | Гострий інфекційний мононуклеоз | Хронічний мононуклеоз, або хронічна активна інфекція, лімфома Беркітта, назофарингеальна карцинома, В-клітинні лімфоми, лімфопроліферативні захворювання, органні ураження |
| Цитомегаловірус, рід *Cytomegalovirus* | Природжені аномалії плода, цитомегалія при імунодефіцитах, гостре мононуклеозоподібне захворювання | Хронічне мононуклеозоподібне захворювання, хронічна цитомегалія (гепатит, пневмонія, енцефаліт, цитомегалічн клітини) після трансплантації органів і тканин, а також – хоріоретиніт, езофагіт, ентероколіт і нейроінфекція при СНІДі |
| Вірус герпесу 6А типу, рід *Roseolovirus* | Безсимптомно або гостра гарячкова хвороба | Системні хвороби при СНІДі, демієлінізуючий лейкоенцефаліт, ромбенцефаліт, розсіяний склероз (тригер), лімфопроліферативні злоякісні новоутворення |
| Вірус герпесу 6В типу, рід *Roseolovirus* | Раптова екзантема дітей раннього віку, гостра гарячкова хвороба, фебрильні і нефебрильні судоми | Рецидивні фебрильні судоми, мононуклеозоподібний синдром, скронева медіанна епілепсія (тригер), інтерстиційний пневмоніт, міокардит, лімбічний енцефаліт, гігантоклітинний синцитіальний гепатит, а також – системні захворювання після трансплантації органів і тканин |
| Вірус герпесу 7 типу, рід *Roseolovirus* | Раптова екзантема дітей раннього віку | Синдром хронічної втоми та імунної дисфункції, неврологічні ураження |
| Вірус герпесу 8 типу, рід *Rhadinovirus* | Безсимптомно або макулопапульозна екзантема | Саркома Капоші, хвороба Кастлемана, лімфоми серозних оболонок |

# Загальні закономірності

- **Герпетичні інфекції (ВПГ-1 та ВПГ-2) - найпоширеніші і мало контрольовані**
- **Клінічні форми –поліморфні.**
- **Перебіг гострий, переходять в латентну стадію, не проявляють себе до певного часу.**
- **Вірус може періодично рецидивувати з характерними клінічними проявами, але захворювання може протікати безсимптомно або мати генералізований характер з можливим летальним результатом.**
- **Але, в будь-якому випадку герпесвіруси залишаються в інфікованому організмі довічно !!!**
- **При погіршенні стану організму (застуда, стрес, втома і т. п.) вірус дає про себе знати хворобою. *Приклад - герпетичні висипання на губах при «застуді».***

# Імунітет

- При герпетичному захворюванні відзначається парадокс - **у людини постійно спостерігається високий титр антитіл і виражені клітинні імунологічні реакції !!!**
- Але ці захисні фактори неефективні і при спалаху захворювання, не дивлячись на наявність антитіл, вірус проникає в клітини і розмножується.

# Профілактика

***специфічна - інактивовані вакцини зі штамів ВПГ-1/2***

# Лабораторна діагностика ГІ

**Матеріал для досліджень** - вміст пухирців, слина, зіскрібки рогівки, кров, спіномозовая рідина, фекалії, шматочки мозгу, паренхіматозних органів.

Взятий матеріал найкраще зберігати в 10 % сироватці при температурі мінус 70 С

| Метод | Матеріал | Термін взяття матеріалу на дослідження |
|---|---|---|
| Вірусологічний метод | Вміст везикул, кірочки, слина, СМР, згусток крові, матеріал аутопсії, виділення з виразок слизової оболонки порожнини рота, статевих органів, зіскреби з ураженої рогівки, сльозова рідина, сеча | Перші 2–7 діб |
| ІФА для виявлення специфічних противірусних антитіл класів IgM та IgG | Сироватка крові, яку відбирають з вени у стерильну пробірку | Перші 2 доби |
| ПЛР | Будь-який біологічний матеріал; як правило, кров із вени у стерильній пробірці з 0,1 мл гепарину | До 4 діб |

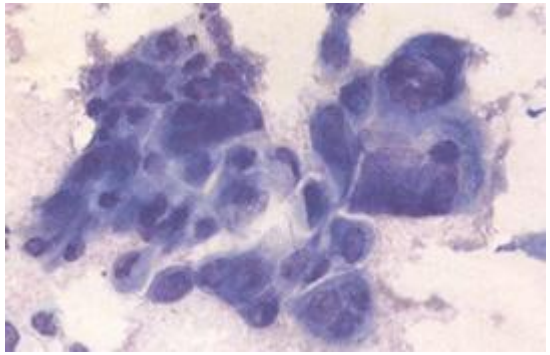
# Лабораторна діагностика

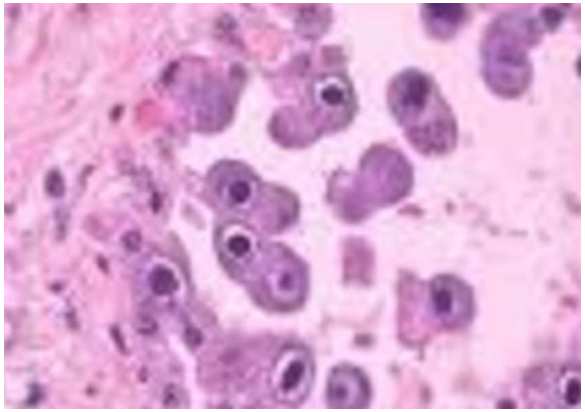
**Методи дослідження:**

- ***Мікроскопія*** – мікроскопія мазків, забарвлених за Романовським-Гімзе.

Позитивний тест - багатоядерні гігантські клітини (тест Тцанка) з тільцями включень (тільця Коудрі).

**Найхарактерніша ознака цитомегалії** – поява гігантських клітин з ядерними включеннями розміром від 8 до 20 мкм





# Лабораторна діагностика

***експрес-діагностика -*** *використовують*

***електронну мікроскопію -*** виявлення **2-3 віріонів** з типовою морфологією цілком достатньо для встановлення діагнозу.

***Реакцію імунофлуоресценції, імуноферментний аналіз*** - виявлення герпетичного антигену.

***генетичну діагностику - кількісна real-time ПЛР.***

***Біологічна проба*** **- зараження чутливих лабораторних тварин (білих мишей або кроликів) біоматеріалом, отриманим від хворого на герпесвірусну інфекцією. Може застосовуватися у сумнівних випадках герпесвірусної інфекції**

- ***Вірусологічний метод –***
- зараження культур ембріональних клітин людини, нирок мавп, кролів та ін.

Позитивний результат – ЦПД, внутришньоядерні включення

Зараження 12-денного курячого ембріону в хоріоналантоїсну оболонку.

***Віруси вітряної віспи і оперізуючого герпесу*** **не вражають клітин курячого ембріону , нервових клітин мишей, рогівки кролів. У культурах клітин вони**

розвиваються значно повільніше (3-5 днів) у порівнянні з ВПГ (18-24 год).

- ***Серологічний –***

**виявлення антитіл** в **РЗК, РН, гемаглютинації з парними сироватками**, **РІФ з моноклональними антитілами**

дозволяють оцінити характер і напруженість специфічного

гуморального імунітету й часто не надають прямої інформації для підтвердження діагнозу

реактивованої герпесвірусної інфекції.

**Western blot** вважають золотим стандартом з-поміж

інших серологічних методів діагностики HSV-1-інфекції

# Висновки

- **Масштаби поширення (ВІЛ) набули глобального характеру і постають реальною загрозою соціально-економічному розвитку більшості країн світу.**

- **Первинна профілактика ВІЛ, обізнаність щодо проблеми ВІЛ/СНІДу , ефективна діагностика відіграють важливу роль у комплексній протидії епідемії.**

# Висновки

- **Герпесвірусні інфекції — група поширених в людській популяції хронічних інфекційних захворювань, викликаних ДНК-вмісними опортуністичними вірусами із родини Herpesviridae, які характеризуються складним патогенезом, поліморфною і варіабельною клінічною картиною з формуванням загальних симптомів і/або ураженням різних органів і систем людського організму, індукцією лімфопроліферативних, автоімунних алергічних, імунозапальних й онкологічних ускладнень.**
- **Інфікованими хоча б одним герпесвірусом є принаймні 95-98% представників сучасної людської популяції.**
- **Особливості ГІ обґрунтовують необхідність мультидисциплінарного підходу до діагностики та лікування герпесвірусних інфекцій людини.**

ХАРЬКОВСКИЙ ОБЛАСТНОЙ ЦЕНТР
ПРОФИЛАКТИКИ И БОРЬБЫ СО СПИДОМ

# Дякую за увагу!