

**2-Й НАУЧНЫЙ СЕМИНАР С МОЛОДЕЖНОЙ ШКОЛОЙ
«Биотехнология новых материалов
и окружающая среда»
Красноярск, 12–15 июня 2012**

**Основные понятия вирусологии и ее задачи
на современном этапе**

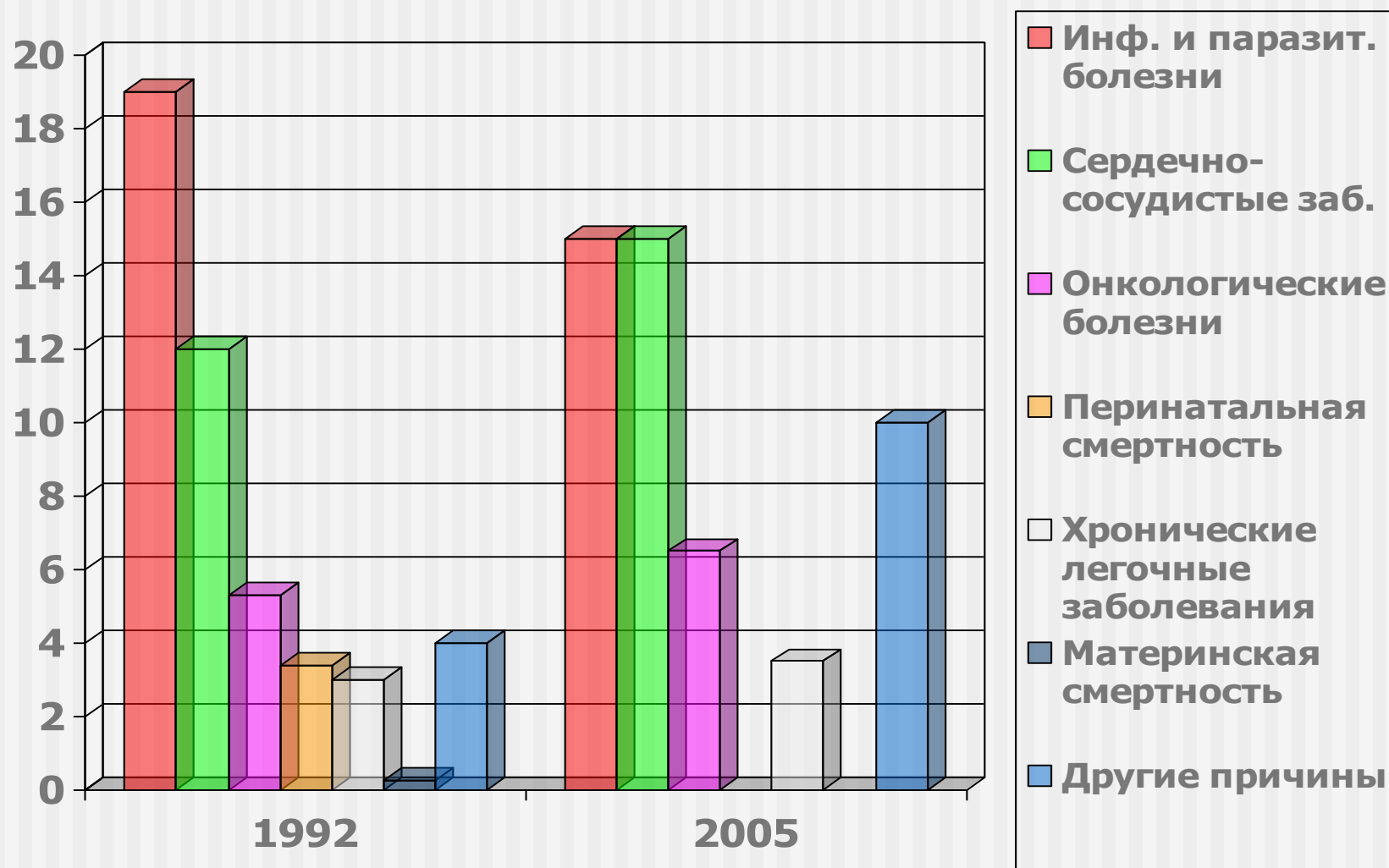
С.В.Нетесов

**ФБГОУ ВПО «Новосибирский национальный
исследовательский университет»**

и

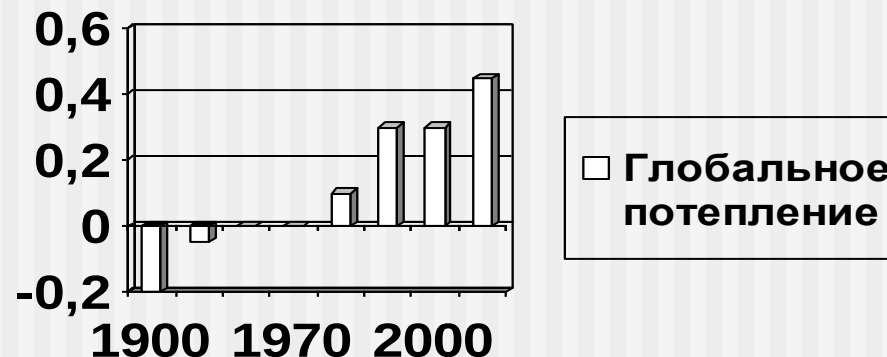
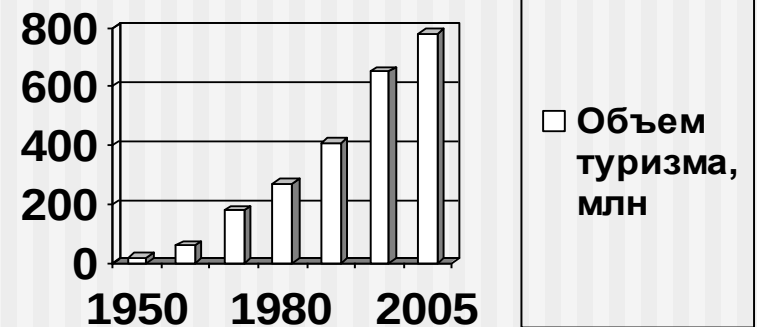
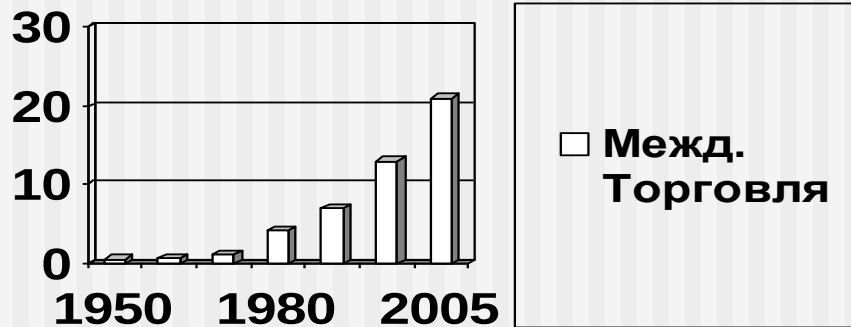
**ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,
п. Кольцово Новосибирской обл.**

Причины смертности в мире в 1992 и 2005 годах (млн.) по данным ВОЗ



Что порождает патогены-инвайдеры?

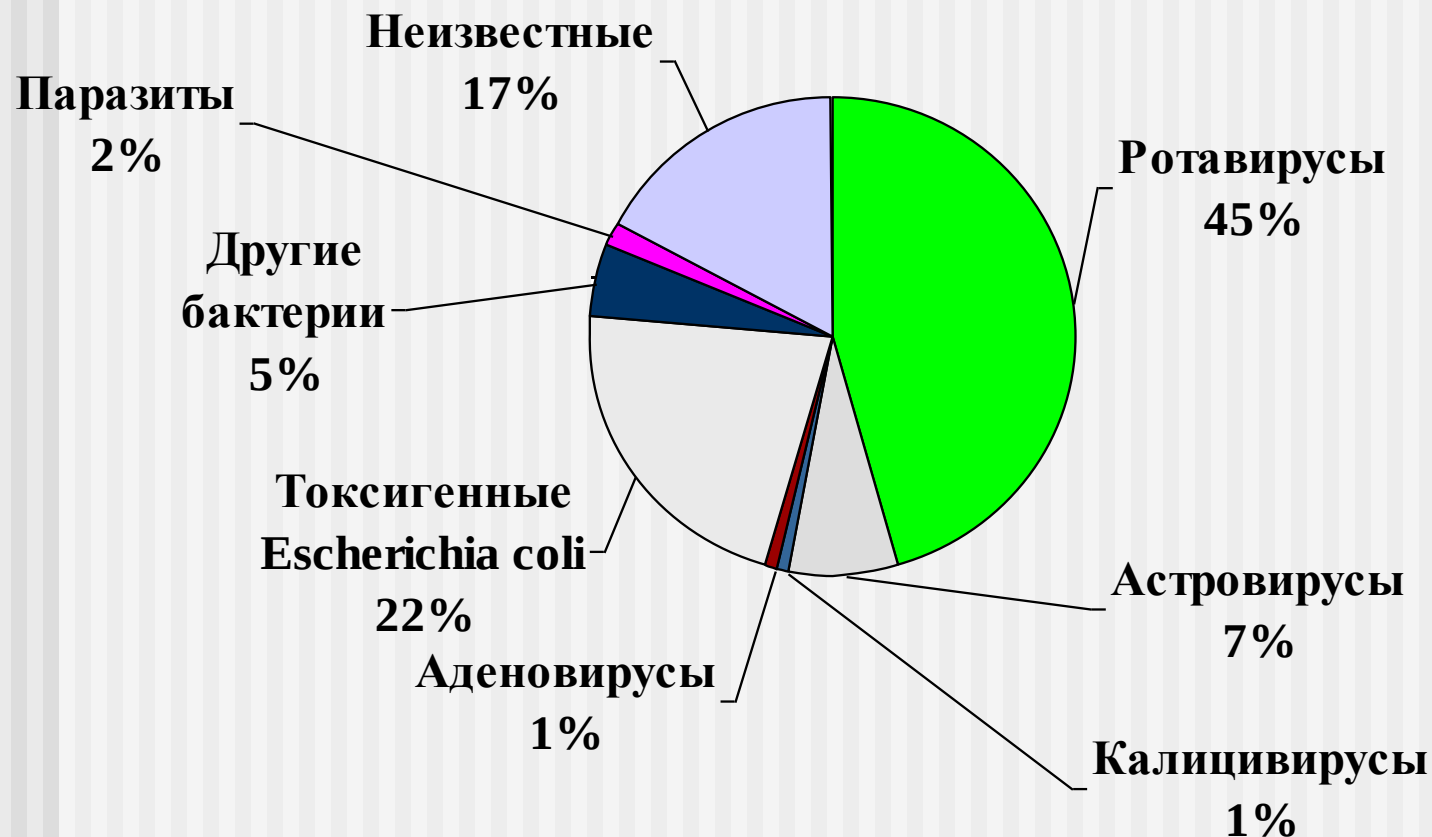
(Newsweek, 15.01.2007)



Что такое вирус?

- Вирус (virus) по латыни – яд
- Вирус – микроскопическая частица, состоящая из белков и нуклеиновых кислот и способная инфицировать клетки живых организмов.
- Вирус – это внеклеточная форма жизни, обладающая собственным генетическим материалом (геномом) и способная к воспроизведению в живых организмах
- Вирусы – облигатные внутриклеточные организмы, они лишены собственной энергосынабатывающей системы, белок-синтезирующей системы и имеют, в зависимости от семейства, различный набор элементов систем репликации и транскрипции

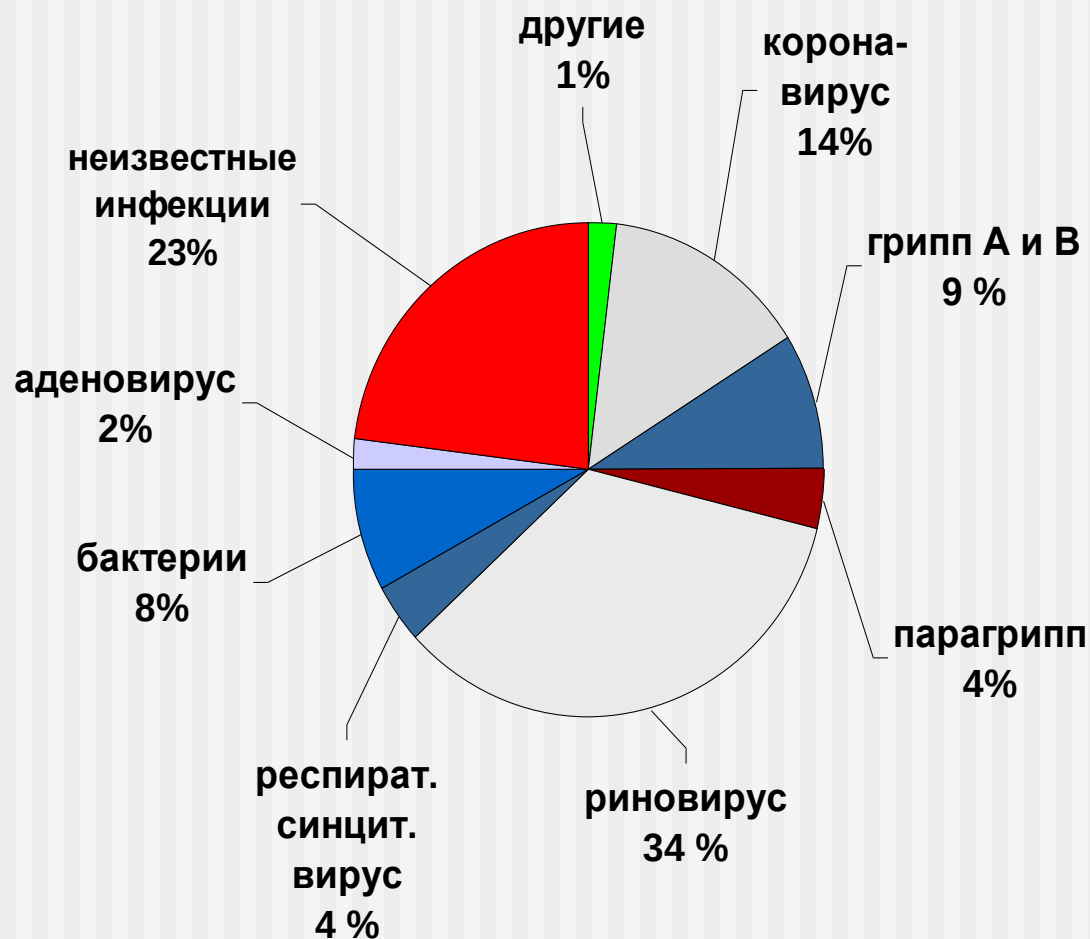
Роль различных патогенов в этиологии желудочно-кишечных заболеваний детей в развивающихся странах



Капикян А.З. Viral gastroenteritis // JAMA 1993; 269:627- 630

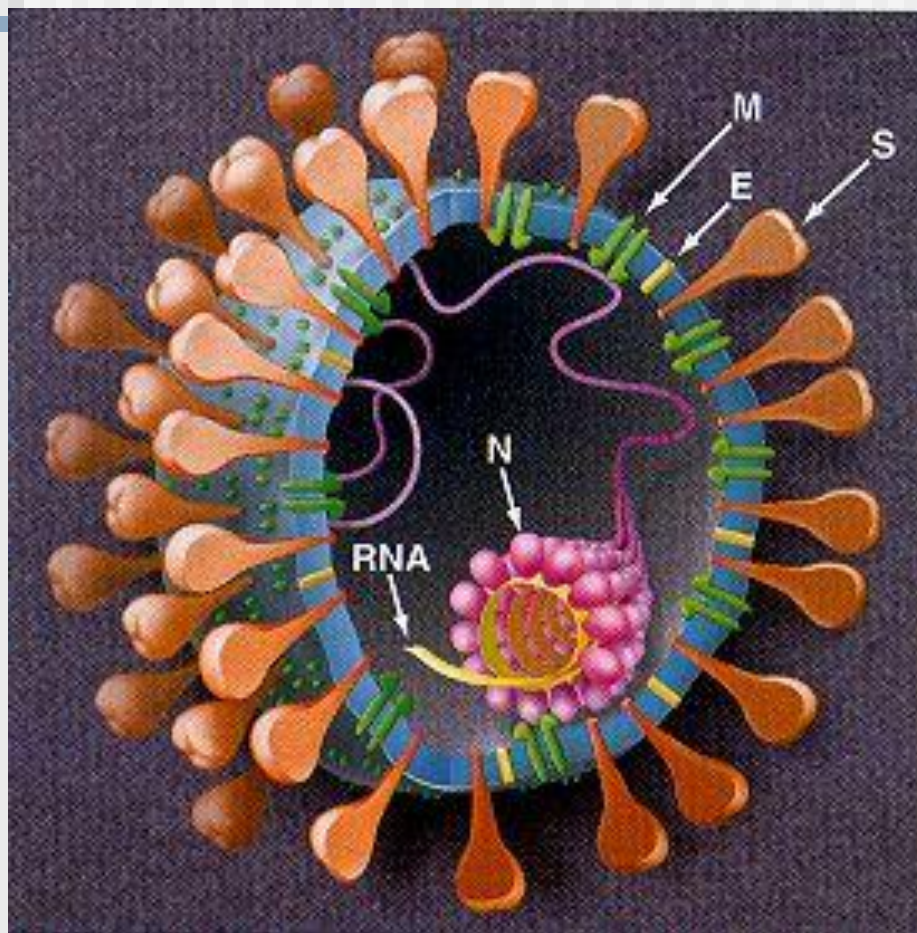
Этиология респираторных заболеваний в штате Мичиган, США

[A.S. Monto/Am.J.Med.-2002.-V.112.-4S-12S.]



Недавно идентифицированы ТОРС-коронавирус и метапневмовирус человека. Последний обнаружен у 12% больных респираторными заболеваниями нижних дыхательных путей [Williams J.V. et al. // N. Engl. J. Med.- 2004.- V. 350, N 5.- P. 443-450]

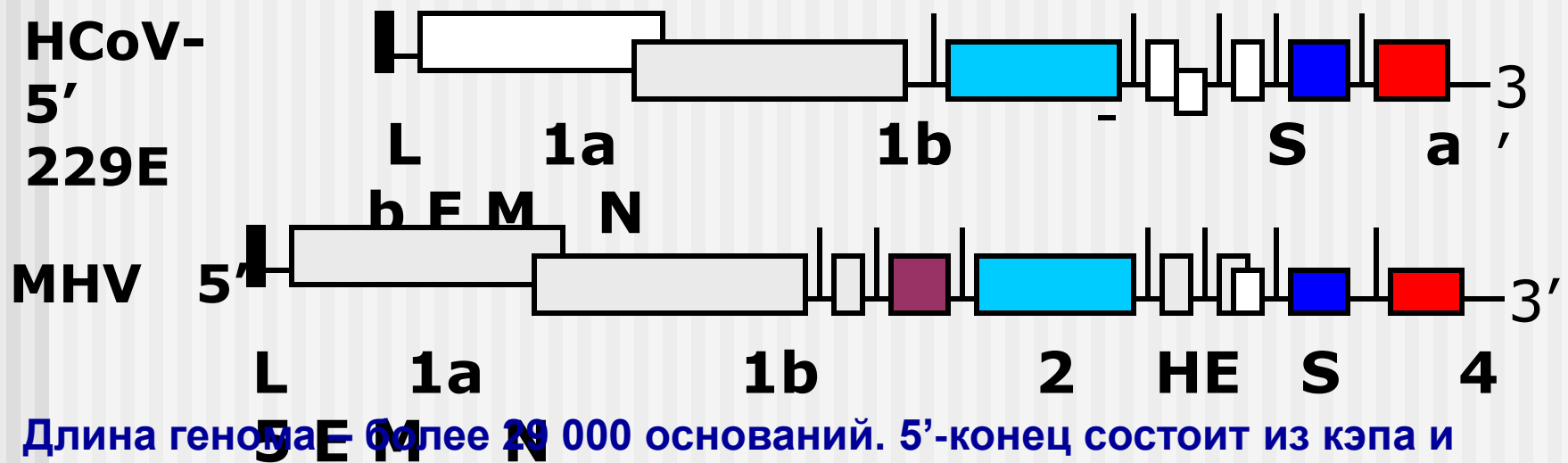
Модель коронавируса – как морская мина



- **Модель структуры коронавируса, показывающая расположение шипов (S), гликопротеинов мембраны (M) и оболочки (E). РНК защищена спиральным капсидом из мономеров белка (N)**

■ [K.V. Holmes, L. Enjuanes. Science, 2003. V. 300. P. 1377-1378]

Организация геномов коронавируса человека 229E и вируса гепатита мышей



Длина генома – более 29 000 оснований. 5'-конец состоит из кэпа и лидерной последовательности (L) длиной от 65 до 98 основания. Цветные прямоугольники представляют открытые рамки считывания (ORFs), кодирующие структурные белки; белые прямоугольники – гены, кодирующие неструктурные белки. Вертикальные линии представляют межгенные последовательности. Геномы полиаденилированы на 3'-конце

Классификация вирусов

- Сначала ее пытались построить на основе симптомов заболеваний (пример - гепатиты)
- Потом – на основе сходства в нахождении в организме (миксовирусы)
- Наконец – на основе строения вириона

И все неудачно !

Характеристики вирусов, вызывающих гепатит у людей

Вирус	Семейство	Путь заражения	Тип генома и его размер	Хроническое носительство	Отдаленные последствия
Гепатит А	Пикорнавирус	Фекально-оральный	Плюс-РНК, 7500 нукл.	Иногда, до 6 месяцев	Не замечено
Гепатит В	Гепаднавирус	Парентеральный	Кольцевая ДНК, 3200	В более чем 50% у детей	Цирроз, карцинома
Гепатит С	Флавивирус	Парентеральный	Плюс-РНК, 9400 нукл.	В более чем 70%	Цирроз, карцинома
Гепатит D	Неклассифицированный	Парентеральный	ДНК, 1700	Встречается вместе с ВГВ	Цирроз
Гепатит Е	Хепевирус	Фекально-оральный	Плюс-минус РНК, 7500 нукл.	Не замечено, опасен для беременных	Не замечено
Гепатит F	Калицивирус	Фекально-оральный	Плюс-минус РНК, 7500 нукл.	Не замечено	Не замечено
Гепатит G	Флавивирус	Парентеральный	Плюс-РНК, 7500 нукл.	Встречается, % не выявлен	Не замечено
Желтая лихорадка	Флавивирус	Парентеральный и комары	Плюс-РНК, 7500 нукл.	Не замечено	Не замечено

Нынешняя классификация вирусов

На основе :

типа генома,

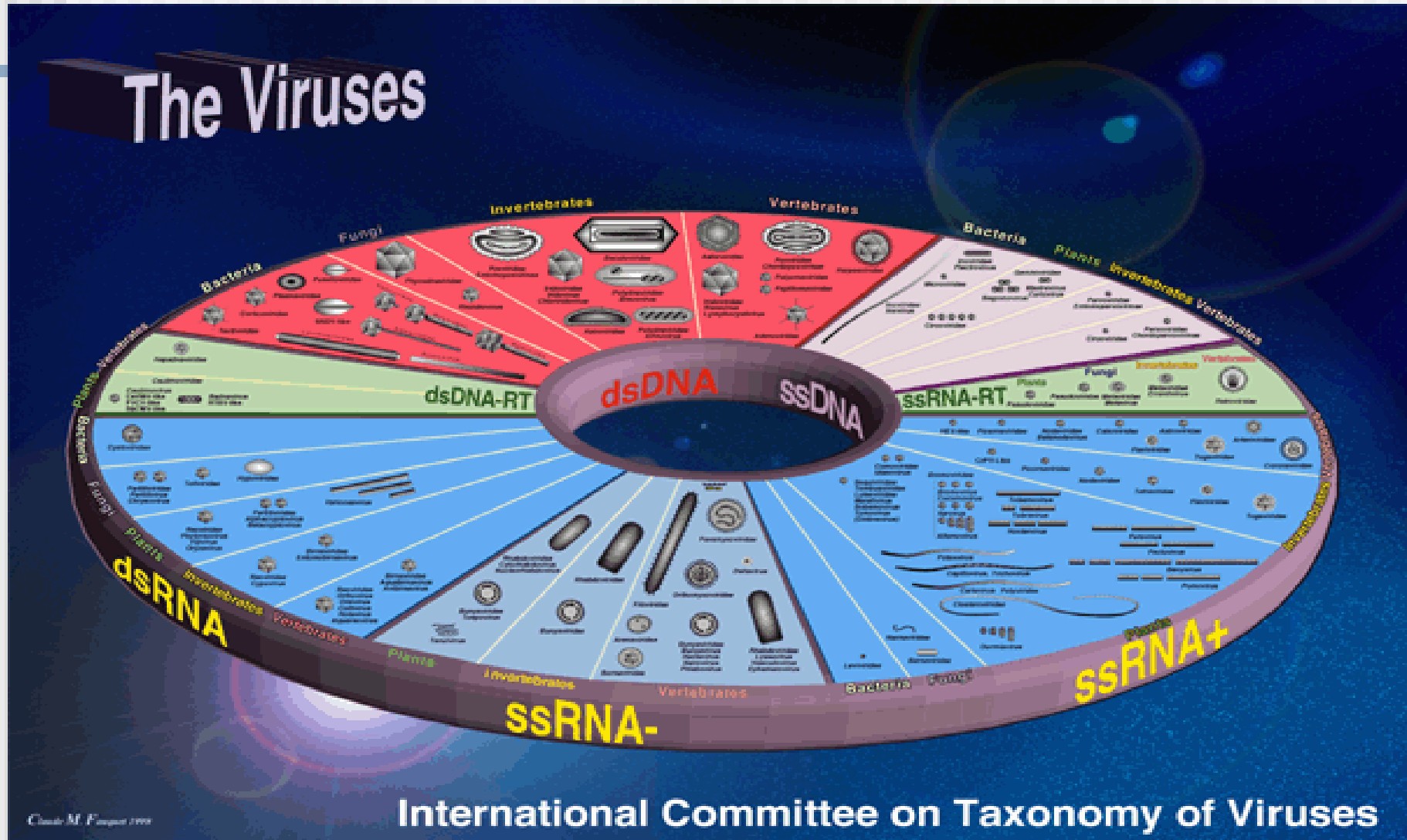
его строения,

сходстве основных генов

и

антигенных свойств основных
поверхностных белков

Виросфера (IX ICTV Report, 2011)



Способы передачи инфекций:

- **Аэрогенный (грипп, респираторные вирусы, корь, оспа)**
- **Фекально-оральный (гепатиты А и Е, энтеровирусы, полиомиелит) – он же алиментарный**
- **Парентеральный – через уколы и зараженные прокалывающие предметы (гепатиты В и С, ВИЧ)**
- **Половой (гепатит В, ВИЧ, папилломавирус)**
- **Векторный (комары или клещи)**

Некоторые характеристики инфекции гриппа у людей

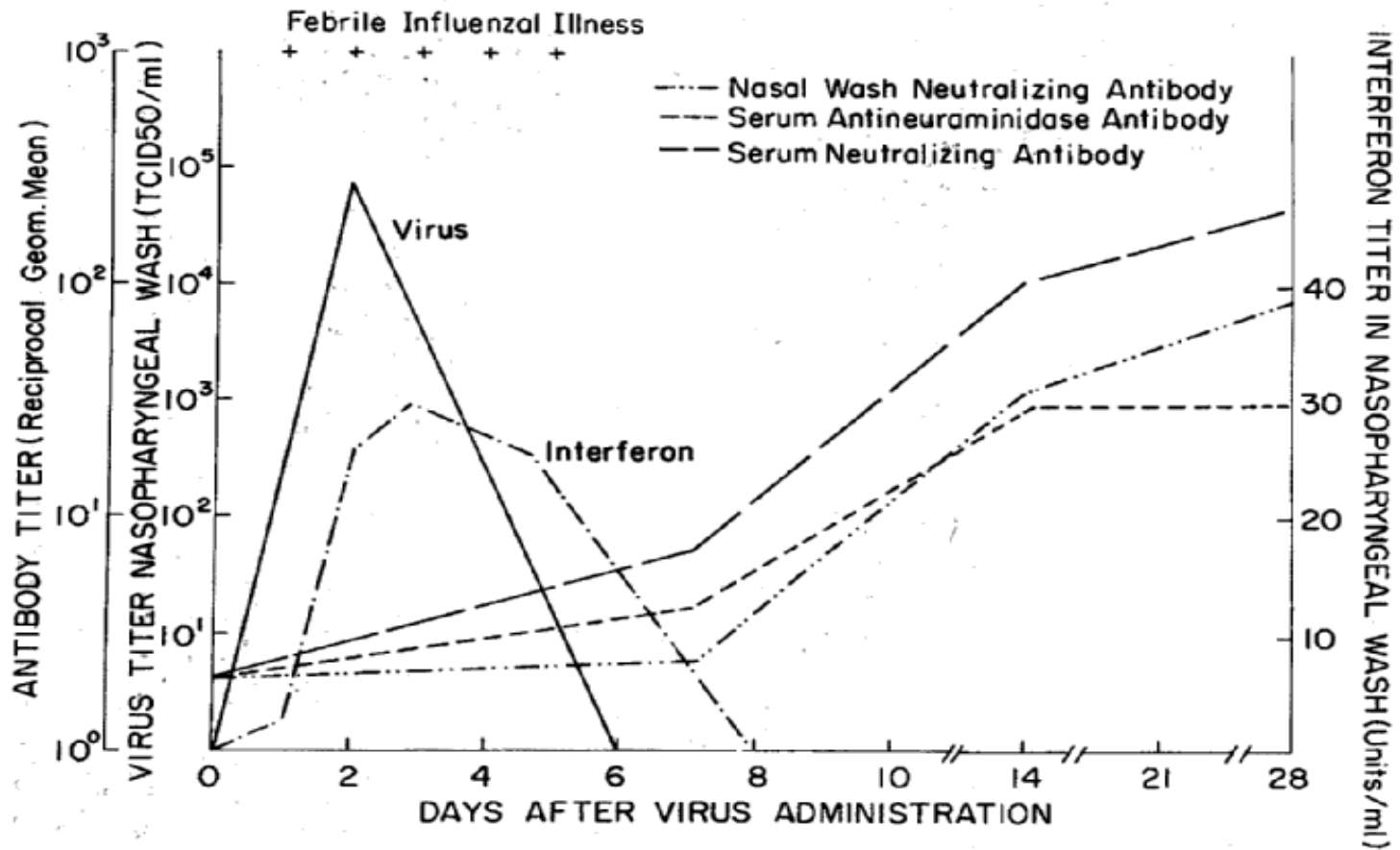


FIG. 3. Six seronegative volunteers received $10^{4.0}$ TCID₅₀ of wild-type A/Hong Kong/68-like virus intranasally on day 0.

Хронология вирусологии (2)

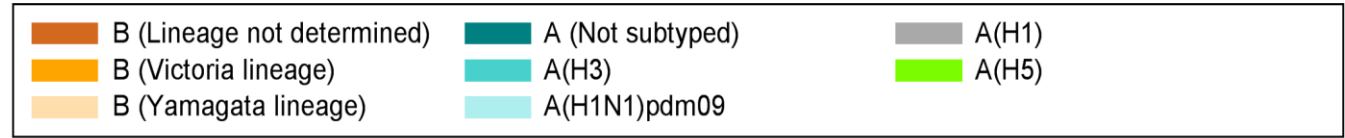
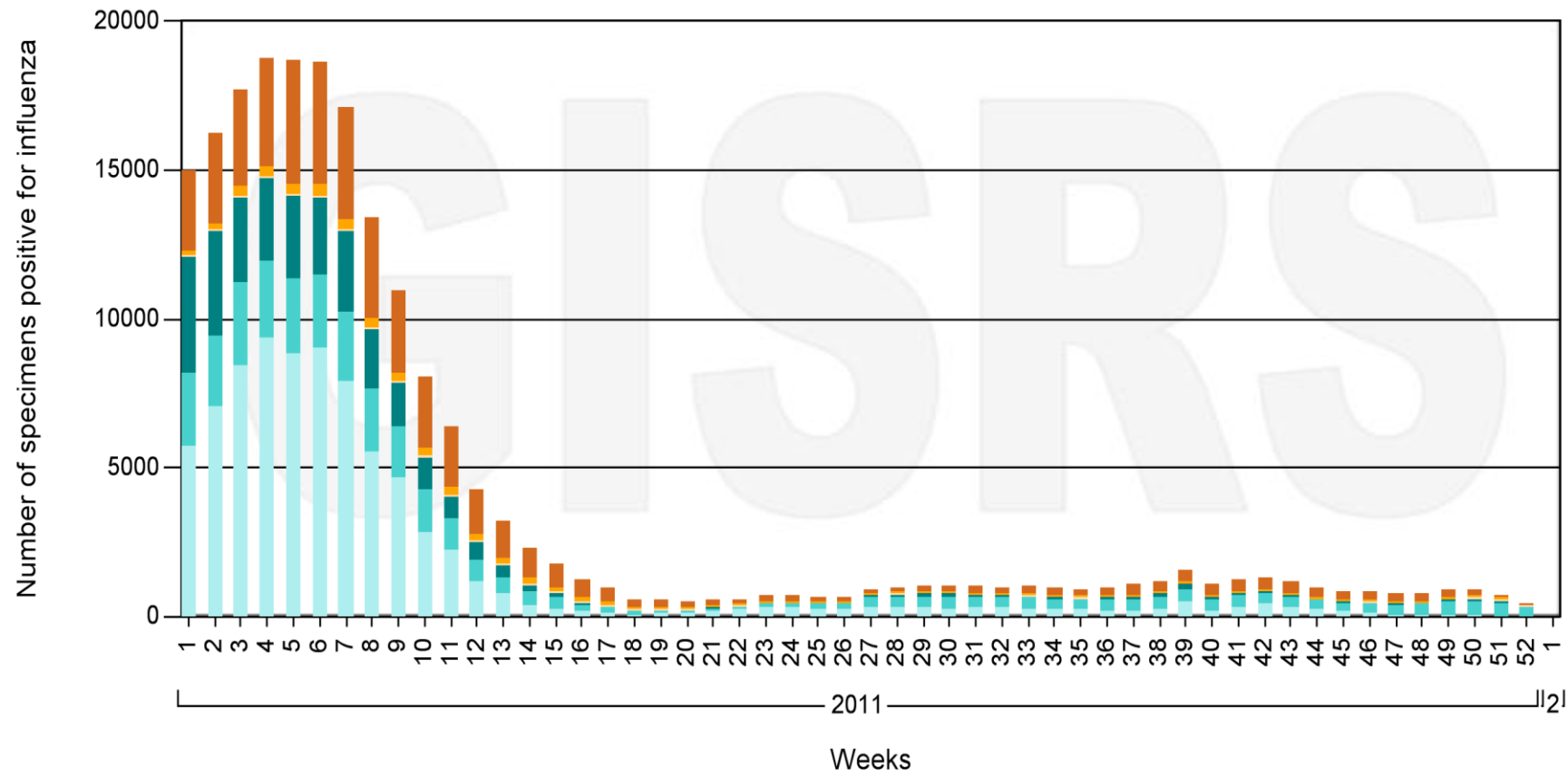
- 1796 год – английский врач Эдвард Дженнер впервые вакцинировал человека вирусом оспы коров и показал, что это защищает от оспы
- 1885 год – Луи Пастер создал вакцину против бешенства и успешно ее применил
- 1890 год – первое доказательство существования вируса животного – вирус ящура (Г.Лефлер)
- 1901 г. - капитан медицинских войск США У.Рид открыл первый вирусный возбудитель болезни человека - вирус желтой лихорадки – и показал, что он переносится комарами
- 1901 г – Лоуд и Грубер – открыли вирус чумы птиц – нынешний вирус гриппа птиц
- 1909 – д-р К.Ландшнейдер выявил вирус полиомиелита и доказал, что он – не бактерия

Вирусные угрозы в 21 веке

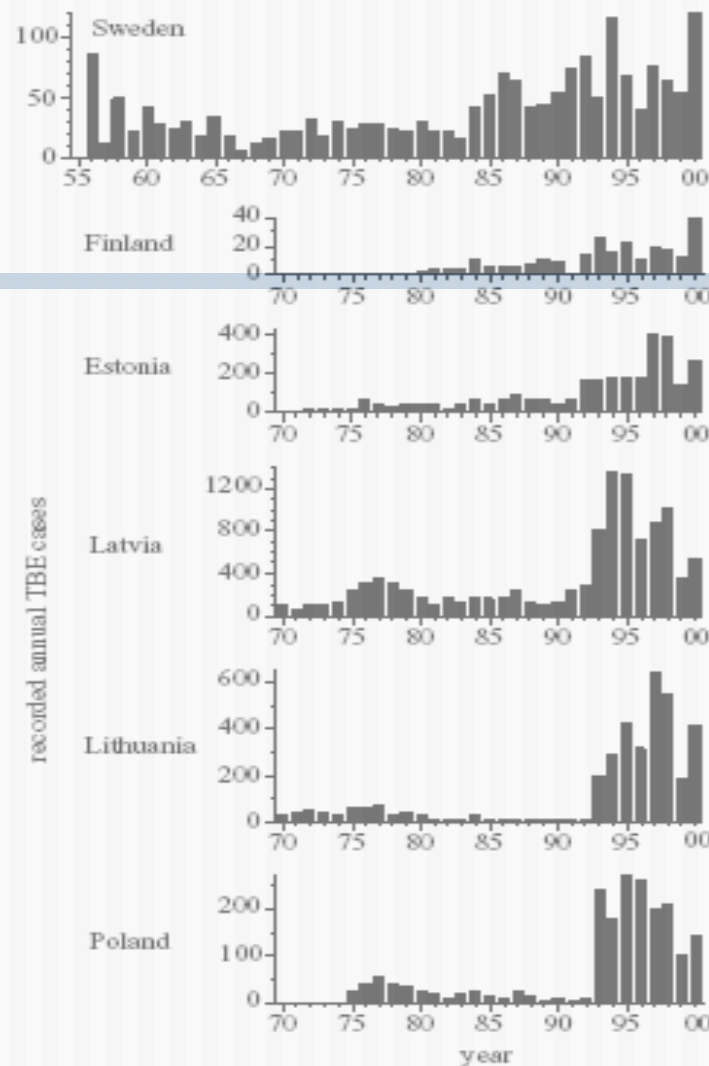
- Возникающие и вновь возникающие инфекции : вирус гриппа H5N1 (1997-2005), вирус Западного Нила (1999-2005), вирус ящура (Англия, 2001 г.), ТОРС-коронавирус, ортопоксвирус в США в 2003 г. и др.
- Искорененные и искореняемые инфекции (натуральная оспа, полиомиелит, корь, гепатит В, паротит)
- Инфекции, связанные с наркоманией и секс-индустрией
- Биотерроризм

Серотипы вируса гриппа в сезон 2011 года

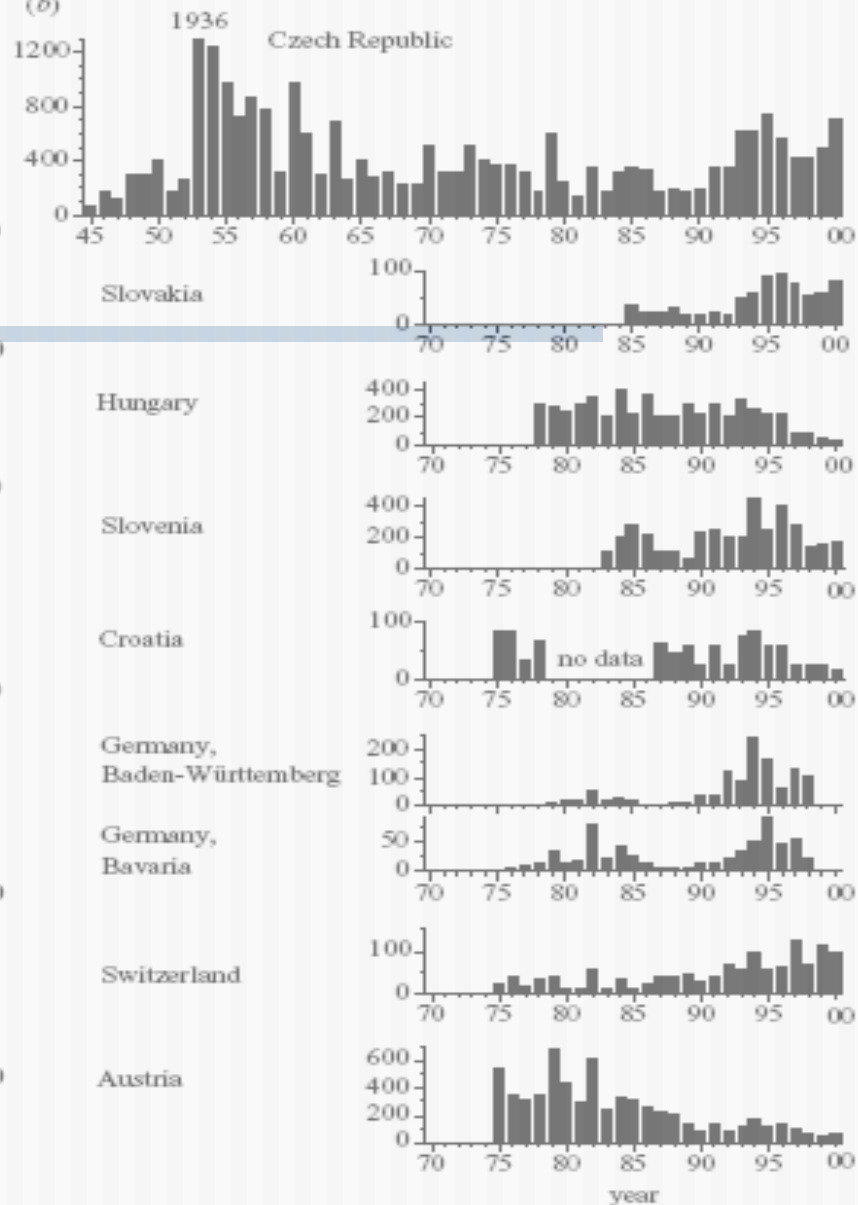
Number of specimens positive for influenza by subtype



(a)



(b)

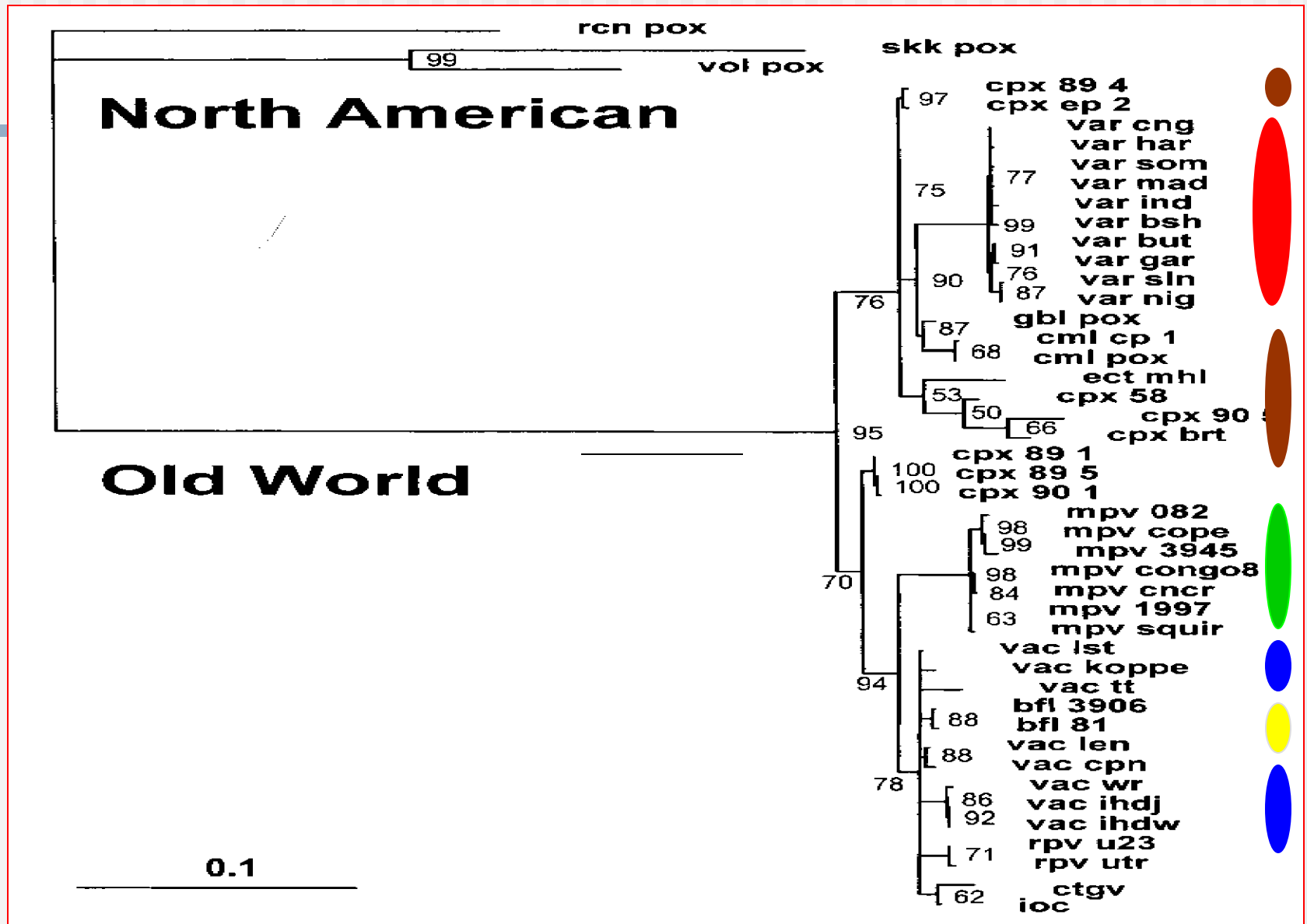


Заболееаемость клещевым энцефалитом в
Европе по годам и странам

Вирусные угрозы

- *Возникающие и вновь возникающие инфекции: вирус Западного Нила, ТОРС-коронавирус, ортопоксвирус (США, 2003 г.), вирус гриппа H5N1, вирус ящура (Англия) и др.*
- *Искорененные и искореняемые инфекции (натуральная оспа, полиомиелит, корь, гепатит В, паротит)*
- *Инфекции, связанные с наркоманией и секс-индустрией*
- *Биотерроризм*

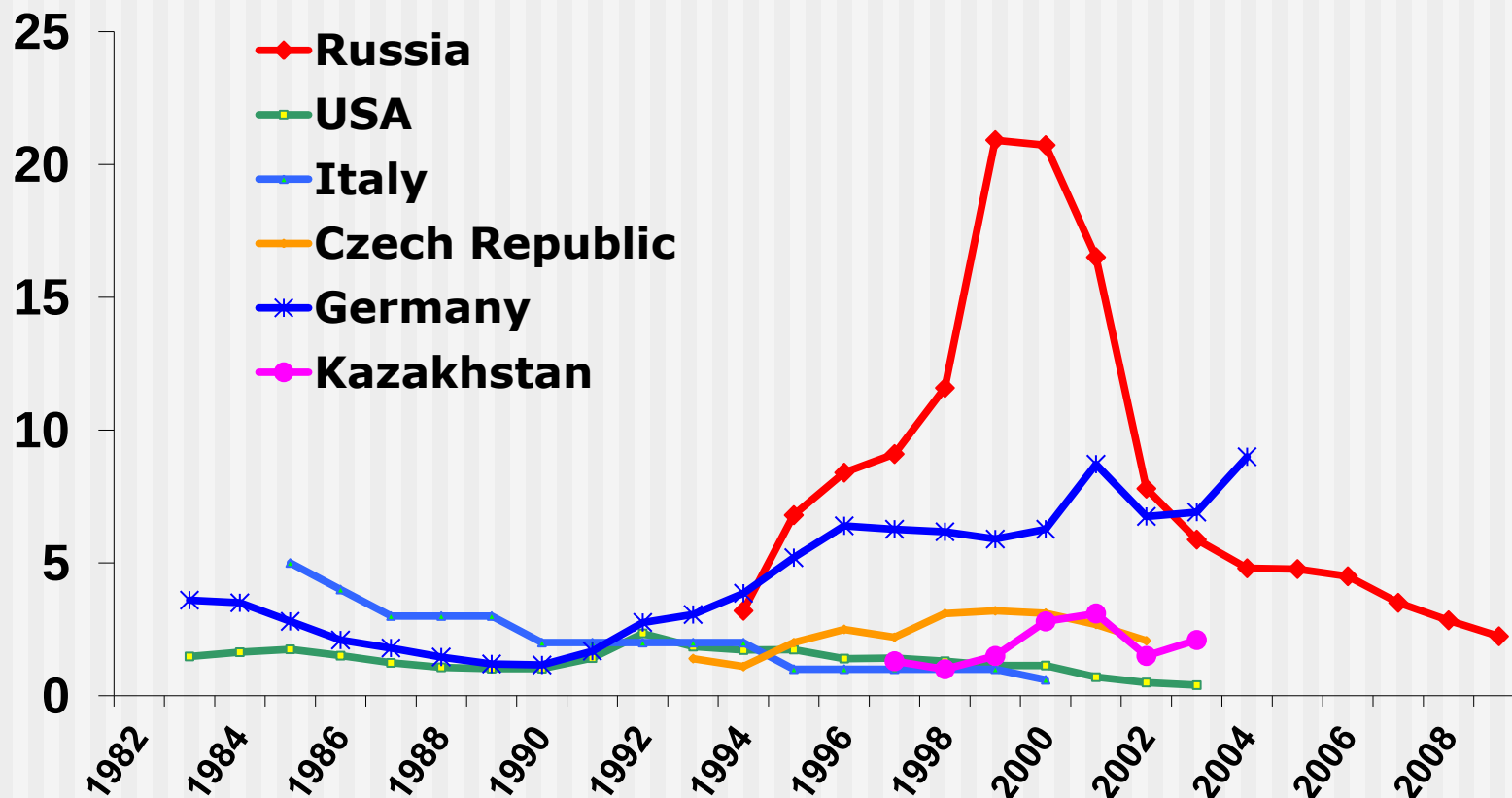
Филогенетическое древо рода Ортопоксвирусов



Вирусные угрозы

- *Возникающие и вновь возникающие инфекции : вирус Западного Нила, ТОРС-коронавирус, ортопоксвирус в США в 2003 г., вирус гриппа H5N1, вирус ящура в Англии и др.*
- *Искорененные и искореняемые инфекции (натуральная оспа, полиомиелит, корь, гепатит В, паротит)*
- *Инфекции, связанные с наркоманией и секс-индустрией*
- *Биотерроризм*

Сравнение динамик заболеваемости острым гепатитом С в России, США, Германии, Италии, Чехии, Казахстане на 100 000 населения



Три прикладных направления развития вирусологии:

Диагностика вирусных инфекций

Лечебные препараты

Вакцинные технологии

**Сравнение методов количественного выявления маркеров патогенов
(Fields Virology, ed., Lippincott, 2001; А.М.Егоров с соавт. Теория и практика
иммуноферментного анализа.Москва, Высшая школа, 1991- с.126**

Метод выявления	Предел чувств.	Недостатки
Прямой подсчет в поле электронного (вирусы) или светового (бактерии) микроскопа	10^7 частиц в мл как минимум	Нужна высокая концентрация <u>чистого</u> патогена
Инфекционность по образованию бляшек	100-1000 частиц на мл	Время анализа – 1 - 3 дня
Выявление антител класса IgM методом ELISA	-	Возможно не ранее 7-8 дня после инфицирования
Выявление антигенов методом ELISA или РПГА	10^6 частиц антигена в мл или 50 пкг	Возможно только во время максимума инфекции
Выявление генома методом ПЦР	100-1000 частиц на мл	Слишком высокая чувствительность –ложнопозитивы!

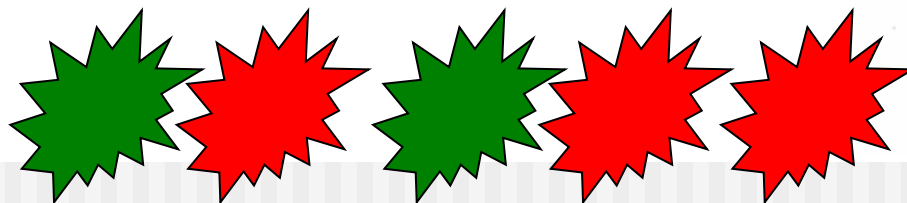
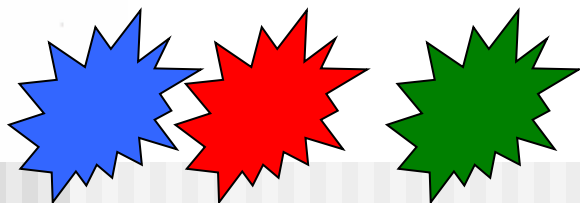
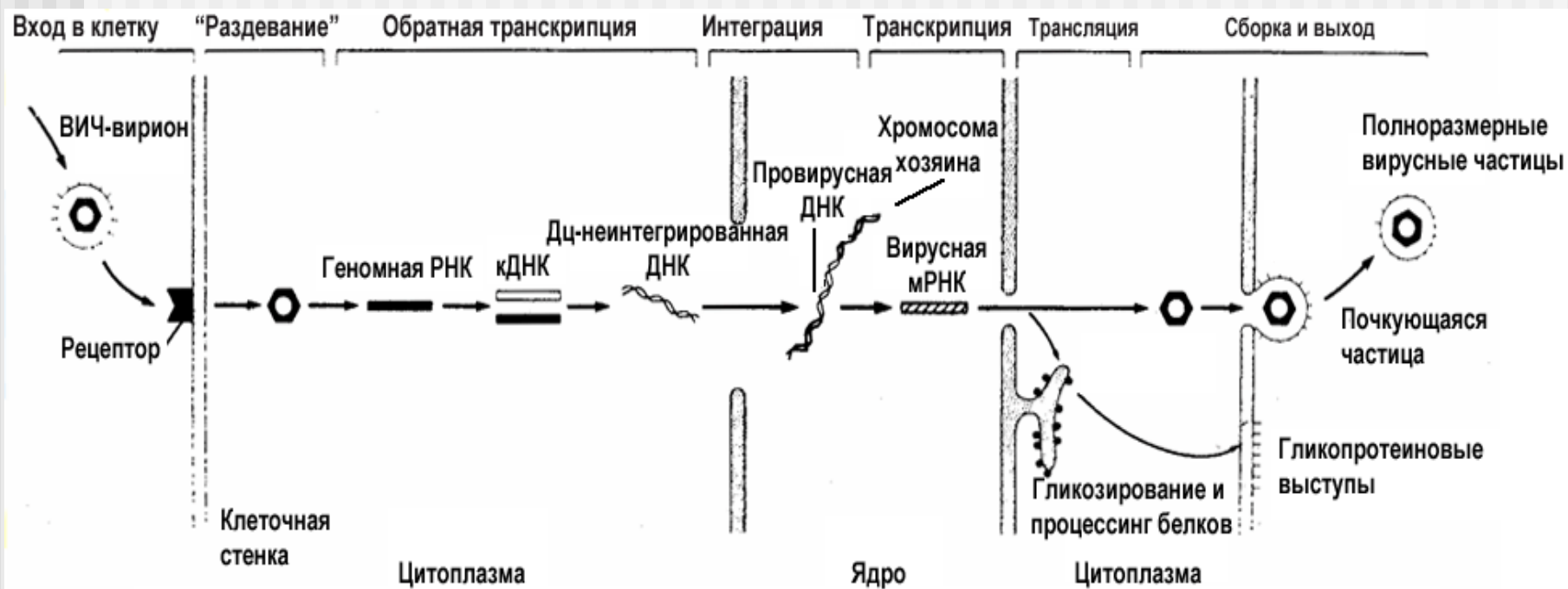
Ситуация с диагностикой инфекций в России (данные из бюллетеня «ЗНиСО»)

<i>Инфекции/ Годы</i>	<i>Респираторные инфекции</i>		<i>Желудочно- кишечные инфекции</i>	
	<i>Идент.</i>	<i>Не идент.</i>	<i>Идент.</i>	<i>Не идент.</i>
<i>1996</i>	<i>7.444.291</i>	<i>25.524.652</i>	<i>95.419</i>	<i>415.217</i>
<i>2000</i>	<i>1.400.530</i>	<i>16.806.996</i>	<i>76.559</i>	<i>252.611</i>
<i>2003</i>	<i>3.529.794</i>	<i>28.845.134</i>	<i>128.887</i>	<i>429.281</i>

Основные инфекции - респираторные

- Coughs and sneezes spread diseases
- Кашель и чихание распространяют заболевания

Различные этапы развития вирусной инфекции, на которые можно повлиять



Успехи вакцинации

Инфекция	Заболеваемость на 100 тыс.чел. по годам в России				
	1980	1990	2005	2007	2009
Корь	133,9	16,2	0.29	0,11	0,07
Паротит	386,9	81,0	2,12	1,31	0,65 (101 случай)
Полиомиелит (о.в.п.)	0,06	0,03	0,0 (0,23)	0,0	0,0
Гепатит В	22,2	43,2	8,56	5,26	2,7
Краснуха	124,1	140,3	100,12	21,61	1,14

Реальные перспективы вакцинации в России

Инфекция	Заболеваемость в России в 2005 году на 100 тыс.	Вакцины в мире	Вакцины в России
Ветряная оспа	Нет в офиц. учетной форме	Есть	http://www.vse-privivki.ru/varilriks.htm "Окавакс" – Япония «Варилрикс» - Бельгия
Краснуха	100,12	Есть	Российской вакцины нет, но вакцинация - в программе «Нац. приоритеты» - с 2007 года, вакцину покупаем, но скоро будем производить.
Папиллома вирус	Нет в офиц. учетной форме	Есть	Вакцина уже применяется для финансируемой регионами иммунизации девочек в Московской области, в Ханты-Мансийском округе и в г. Челябинске. Пр-во – Бельгия, США.
Ротавирус	Около 130	Есть	Нет, начинают применять вакцины США
Гепатит А	30,05	Есть	Есть, но нет в приоритетах, вакцинация по эпидемическим показаниям

Антивакцинаторство (1)

Антивакцинаторство существует в нескольких видах, по степени радикальности, от крайне радикальных до умеренных. В частности, можно выделить такие его типы:

- Категорические противники вакцинаций, отстаивающие необходимость полного упразднения применения вакцинации.
- Активисты, выступающие против **массовости** вакцинаций.
- Противники конкретных видов и форм вакцинации, например, иммунопрофилактики сезонного гриппа или использования живых вакцин для массовой прививки маленьких детей.

Проблемы и задачи

- *Выявление инфекционных агентов, вызывающих вроде бы неинфекционные заболевания: диабет, сердечно-сосудистые заболевания, рак и др.*
- *Дальнейшая автоматизация и совершенствование диагностикумов*
- *Методы лечения и лекарства*
- *Разработка эффективных вакцин*

Актуальные нужды в вакцинах в России и в мире: необходимость в разработках

Инфекция	Заболеваемость в России в 2005 году на 100 тыс.	Вакцины в мире	Вакцины в России
Гепатит С	4-6	НЕТ	Нет
ВИЧ	4-6	НЕТ	Нет
Герпес 1 и 2 типа		НЕТ	Нет

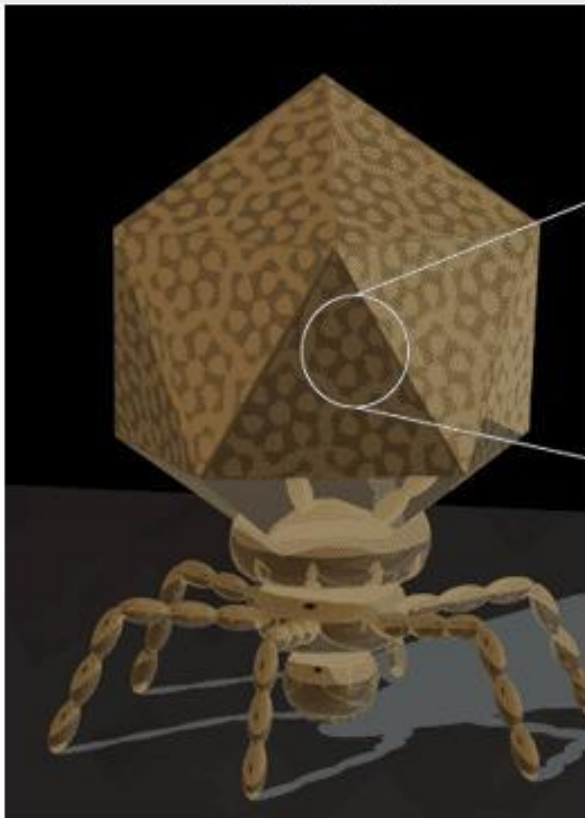
Использование вирусов в практике

1. **С диагностической целью**: есть бактерии (например, разные виды сальмонеллы), которые можно быстро идентифицировать с помощью бактериофагов. Сначала бактерии из проб высевают на питательный агар. Когда вырастают бляшки - их заражают специфическими бактериофагами. Там, где идет лизис, присутствует целевая бактерия.
2. **Для лечения бактериальных заболеваний**: есть высокоспецифичные бактериофаги, которые быстро лизируют свои бактерии-хозяева. Раньше так лечили дифтерию. Применяли только поверхностно, так как были сложности с хранением бактериофагов, и они не были достаточно очищены для применения на человеке. Сейчас эта методология переживает второе рождение – для борьбы с множественно антибиотико-устойчивыми штаммами.
3. **Борьба с насекомыми-вредителями**. Есть высокоспецифичные энтомопатогенные вирусы (денсовирусы – семейство Парвовирусов и Бакуловирусов), которые применяются для борьбы с комарами и сельскохозяйственными насекомыми-вредителями. Пока это дорого, но зато экологически безопасно ввиду крайне высокой специфичности этих вирусов и полной безвредности для млекопитающих.
4. **Борьба с нежелательными животными** - кролики в Австралии.
5. **В качестве живых вакцин** – наиболее эффективные и долговременно действующие вакцины: против оспы, вакцины против кори, паротита, краснухи, полиомиелита.
6. **Для лечения раковых заболеваний** – для специфического лизиса дефектных раковых клеток.
7. **В качестве векторов** для вакцин
8. **Для генной терапии** с целью лечения генетических дефектов (аденовирусы, AAV, ретровирусные векторы и др.)

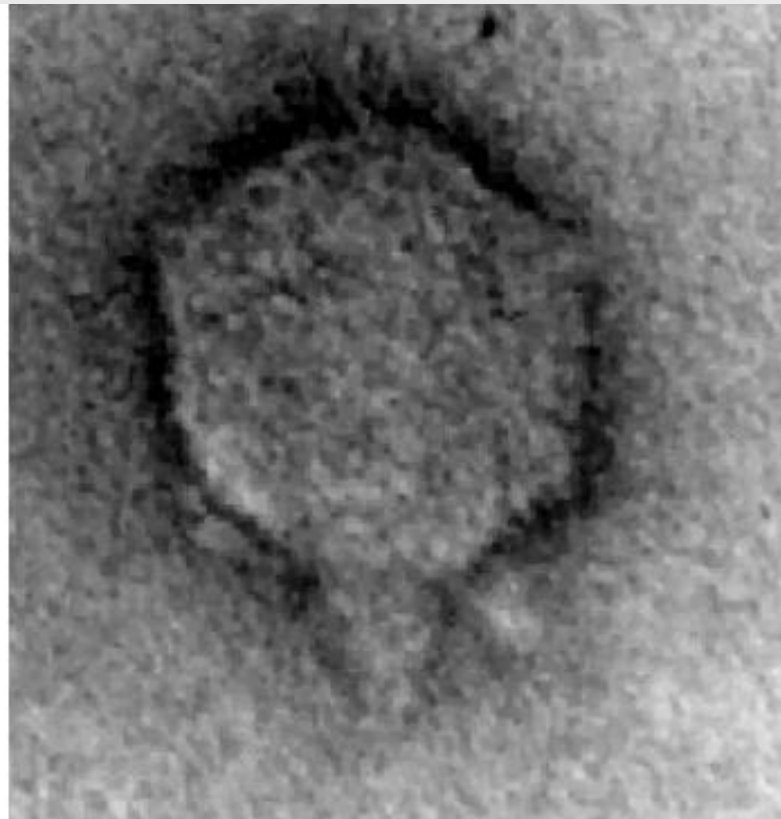
Лечение раковых заболеваний

- Для лечения онкозаболеваний начали использовать специальные вирусы: у некоторых видов вирусов есть свойство размножаться в раковых клетках, дефектных, например, по функции белка-сторожа p53, вызывающего апоптоз (запрограммированную гибель клеток).
- Среди них – энтеровирусы, производные аденовирусов, поксвирусов, парамиксовирусов, герпес-вирусов.
- Из аденовируса сделали мутант: он размножается в нормальных клетках в 1000 раз меньше, чем в раковых, дефектных по функции белка p53 – ONYX 015.
- В 2000-2003 гг. в США прошли клинические испытания ONYX 015 (пока эффективность - 60% при совместном применении с химиотерапией, а это – неплохо). Подобный препарат – H101 - прошел испытания в Китае и разрешен там к применению. В России успешно прошла первая фаза испытаний – на безвредность и начаты испытания на лечебный эффект (препарат – Канцеролизин).
- НГУ получил грант по этой тематике – «Новые подходы к разработке лекарств: поиск, отбор и конструирование непатогенных для человека штаммов вирусов, перспективных для использования в качестве онколитических препаратов». Сейчас идет реконструкция лаборатории. А через 3 года она развернется на полную мощность.

Спасибо за внимание !



Novagen, Inc



Spires & Brown, unpublished