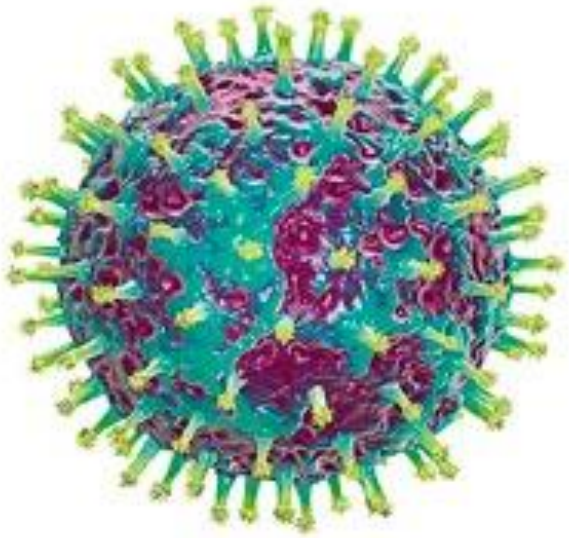
Научно-исследовательский медицинский стоматологический институт (НИМСИ)

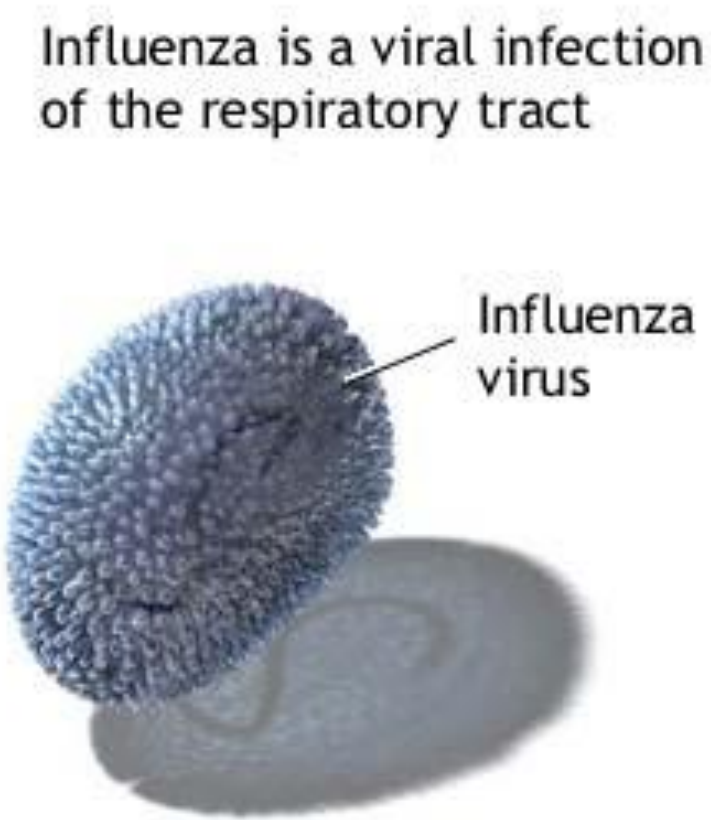
Профессор В.Н. Царёв
Старш.научн.сотрудник
Е.В. Ипполитов



ПАНДЕМИЧЕСКИЙ ГРИПП H1N1: что дальше?

Москва-2009

Грипп - острое инфекционное заболевание дыхательных путей, вызываемое вирусом семейства Ortomixoviridae



Периодически распространяется в виде эпидемий и пандемий.

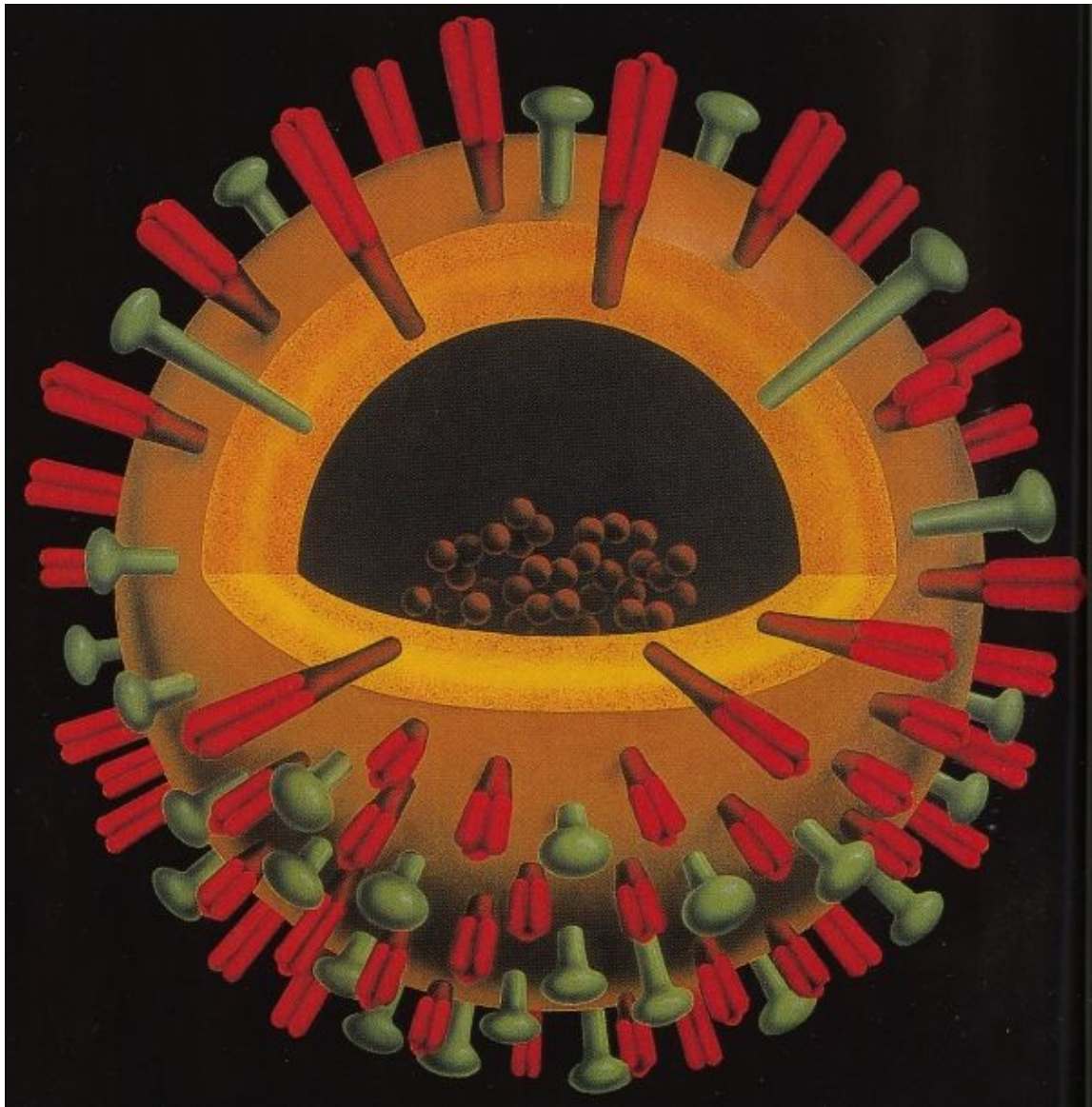
Грипп известен с конца XVI века.

A.D.A.M.

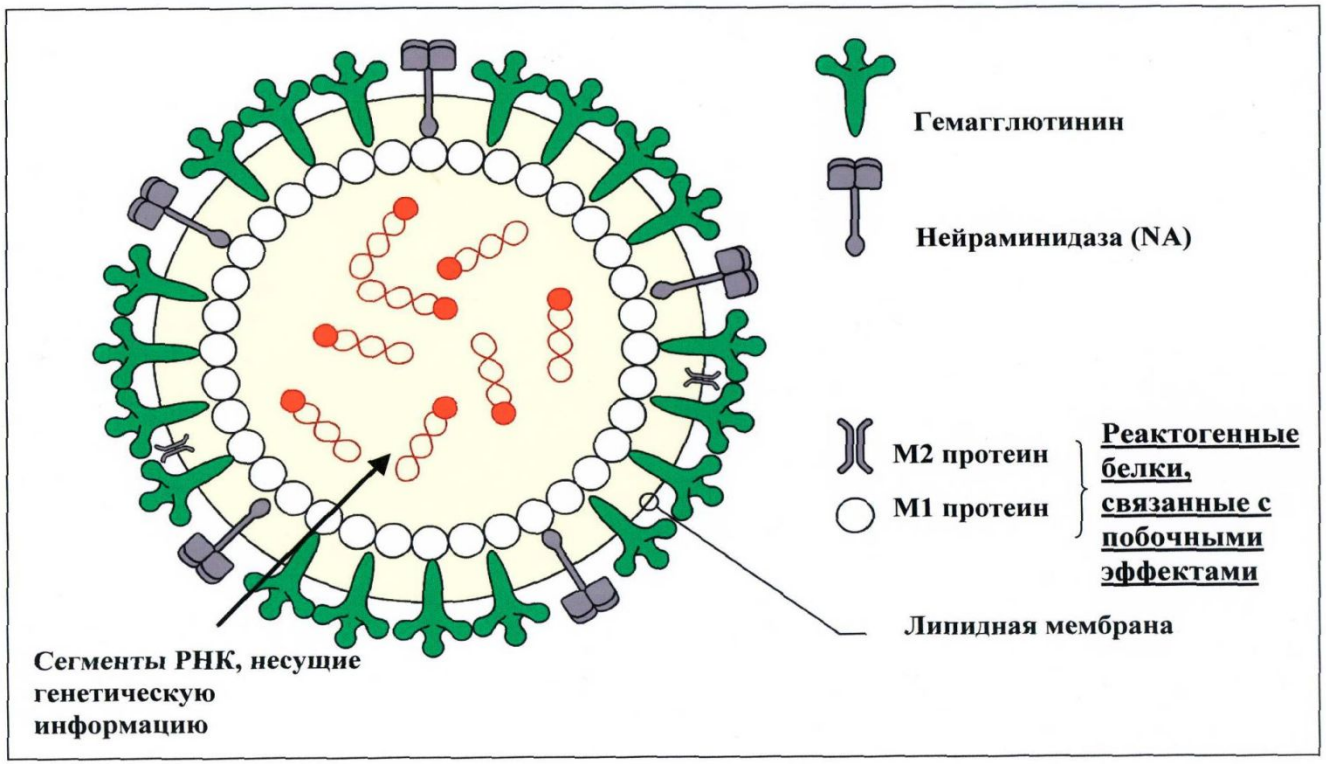
Семейство *Orthomyxoviridae*

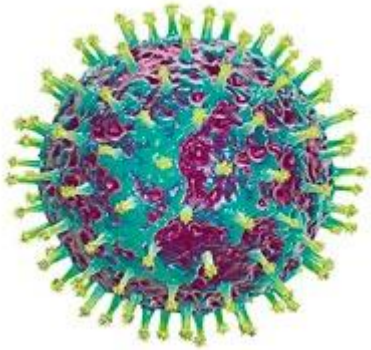
Размер вируса около 100 нанометров.

Вирус состоит из ядра рибонуклеиновой кислоты (РНК), показанной коричневой сферой в центре, которая окружена желтой жировой оболочкой.



Вирус гриппа





Согласно современной систематике вирусы серотипов А и В составляют первый род, а вирусы серотипа С относятся ко второму роду

Серотипы вирусов гриппа

серотип А – идентифицирован в 1933 г.

dr.Smith, Lawdley, Andrews

серотип В – идентифицирован в 1940 г.

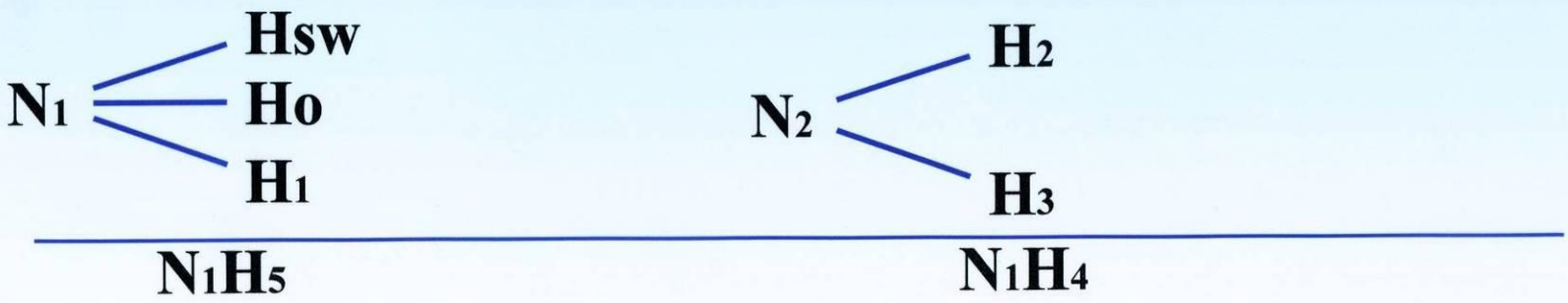
серотип С – идентифицирован в 1947 г.

Подтипы вируса гриппа А

Серотип А – 5 подтипов

Гемагглютинин – Hsw Ho H_1 H_2 H_3

Нейраминидаза – N_1 N_2



А (Hong – Kong) 1 (68) H_3N_2

Подтипы вируса гриппа В и С

- **В – 4 подтипа 1940-1951**
  1952-1966
  1967-1972
  1973 - 2001
  с 2002 новый штамм!
- **С – нет N**
- **Семейство – Orthomyxoviridae; пневмотропный вирус;**
- **РНК-содержащий с фрагментированным геномом**

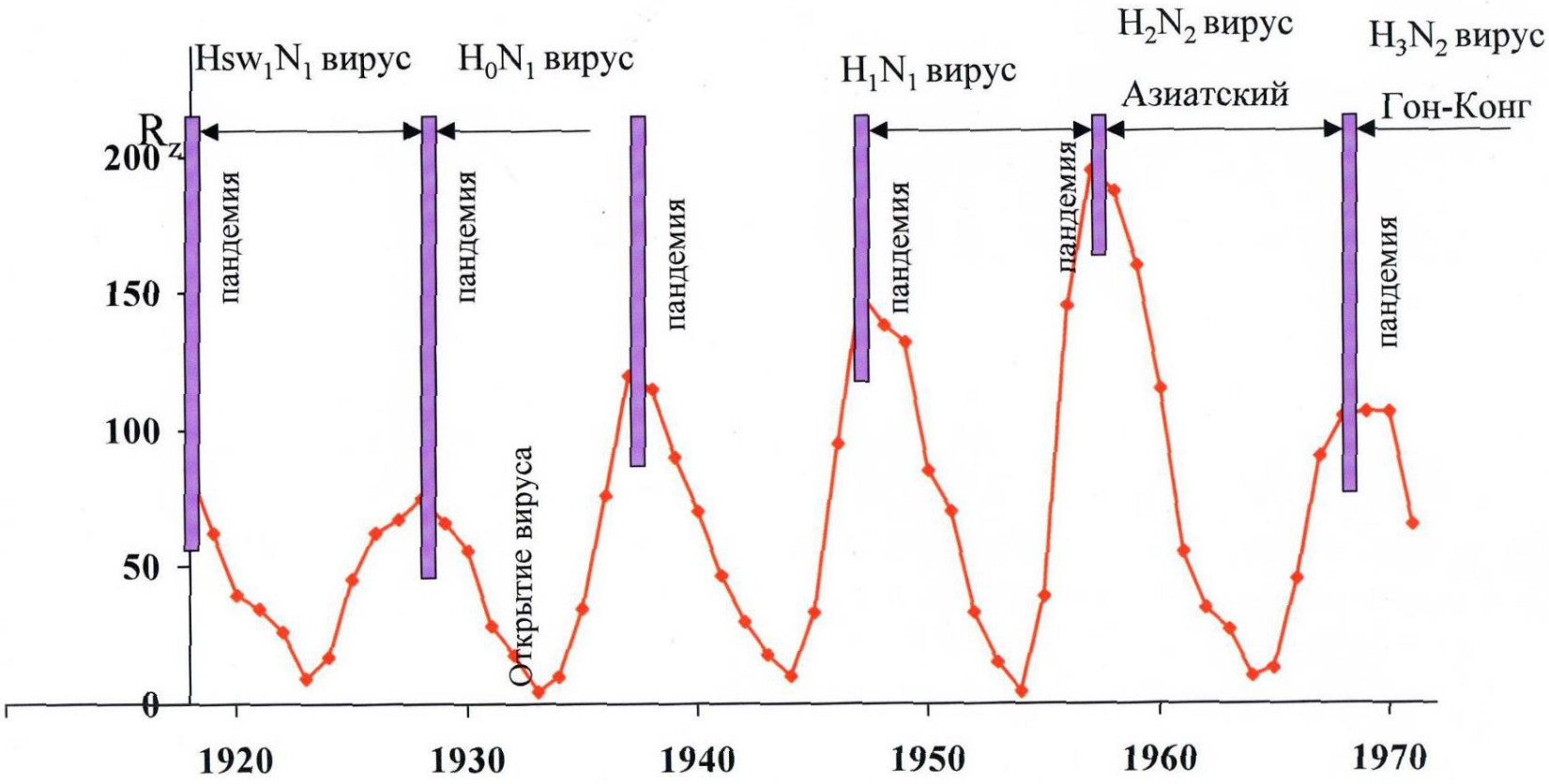
Расшифрованные пандемии гриппа

(Dowdle W.R. 1999)

Год	Время циркуляции	Тип вируса	Название	Летальность в США	Комментарии
1889	28 лет	H3N?	-	высокая	В Европе летальность около 360 млн.
1914	39 лет	H1N1	Spanish, swine	548000	Источник –птицы. В Европе летальность около 24 млн.
1957	11 лет	H2N2	Asian	86000	Источник –птицы.
1968	До настоящего времени	H3N2	Hong-Kong	34000	Источник –птицы.
1976	1 год	H1N1	swine	незначительно	
1977	До настоящего времени	H1N1	Russia	незначительно	Соответствует ранее циркулировавшему вирусу
1997	До настоящего времени	H5N1	Chicken and bird	6 смертей в Гон-Конге	Первая доказанная передача от птиц к человеку

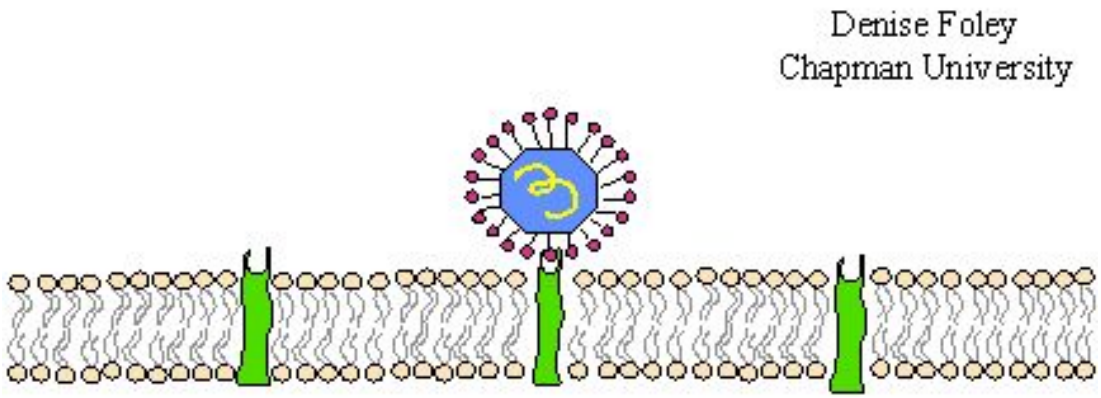
На картине «Семья» умирающий художник Эгон Шиле (1890–1918 гг.) изобразил трёх жертв «испанки» — себя, свою беременную жену и её нерождённого ребёнка. *(Масло, холст.)*

Антигенные субтипы вируса гриппа А, послужившие причиной пандемий



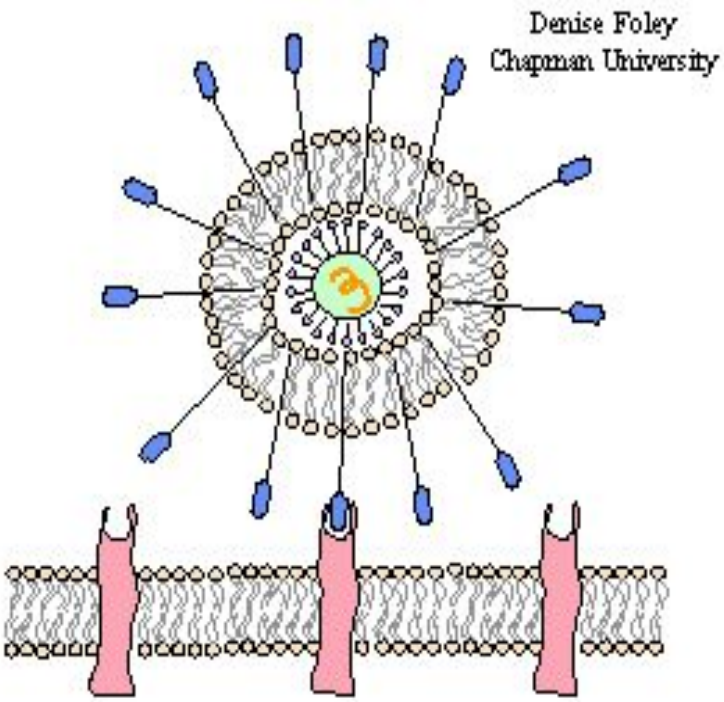
Изменения основных вариантов происходили внезапно при исчезновении предшествующего варианта.

1. Рецепторно-опосредованный эндоцитоз



Naked Virus: entry

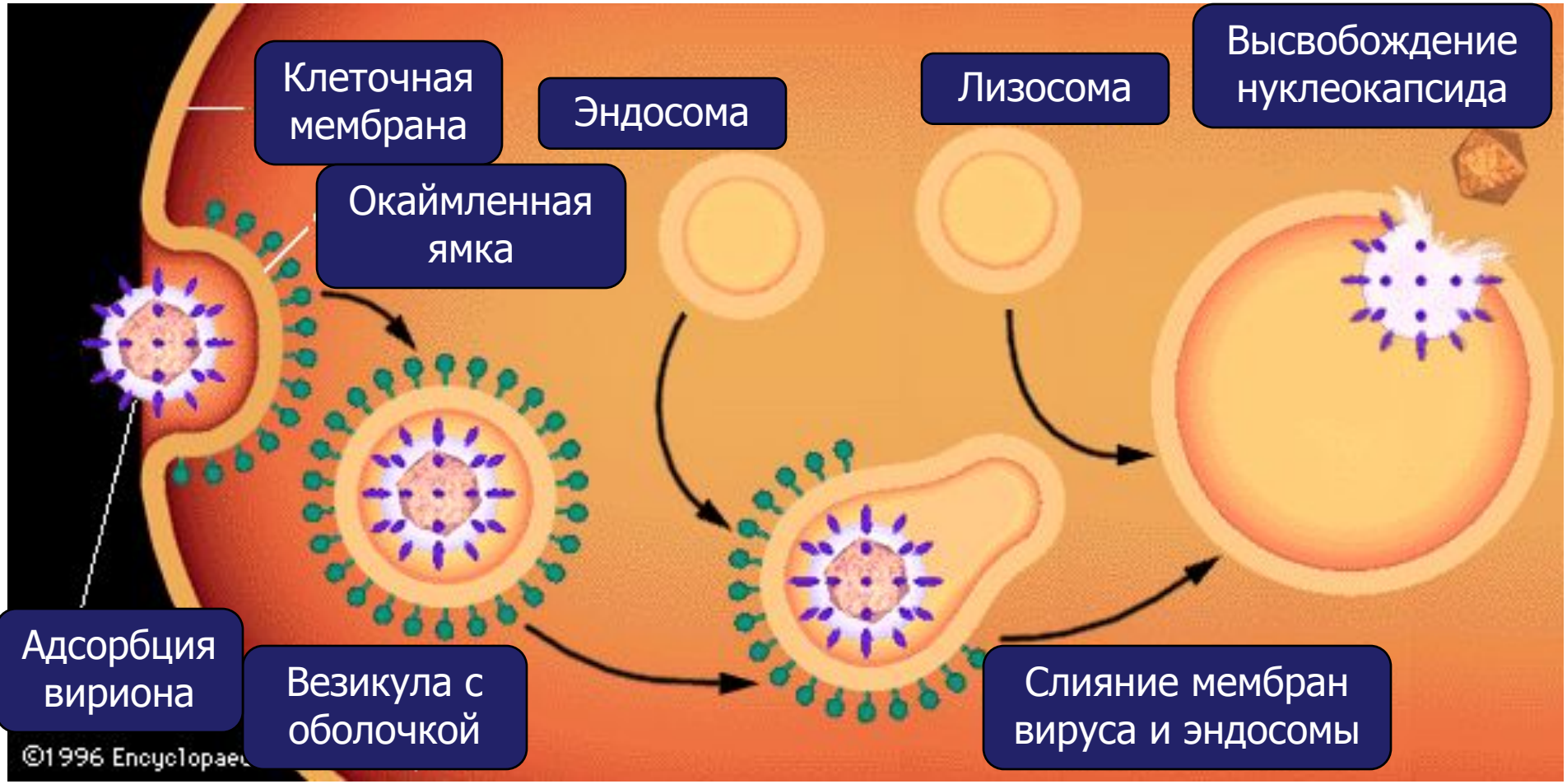
2. Слияние мембран



Enveloped Virus: ENTRY

- Один из поверхностных белков (белок слияния) взаимодействует с липидным бислоем клетки, в результате липидные бислои вируса и клетки сливаются в общую мембрану.
- Содержимое вириона переходит внутрь клетки, а оболочка вириона остается на поверхности клетки.

3. Репродукция в клетке



Роль гемагглютинина НА в патогенезе ГРИППА

(Schutz-Cherry S., Hinshaw V.S. 1996)

НА осуществляет прикрепление и проникновение вируса и активирует клеточный транскрипционный фактор NF-kB, который запускает

- Синтез цитокинов
- Активация молекул адгезии
- Синтез белков острой фазы

Роль нейраминидазы NA в патогенезе ГРИППА

(Schutz-Cherry S., Hinshaw V.S. 1996)

NA осуществляет

- выход вируса из клетки
- Быстрое распростра-нение по респиратор-ному тракту
- Стимулирует продукцию моноцитами IFN-α и IL-1 острой фазы

Роль РНК , протеина М2 в патогенезе гриппа

(Majde J. 2000)

- **Вирусная РНК играет роль в инициации острой фазы заболевания путём индукции синтеза цитокинов.**
- **М2- присутствует только у вируса типа А , ассоциируется с ионными каналами ,т.е. играет роль при высвобождении вирусов из эндосом и в регуляции сборки вируса. Мишень для ремантадина и амантадина.**

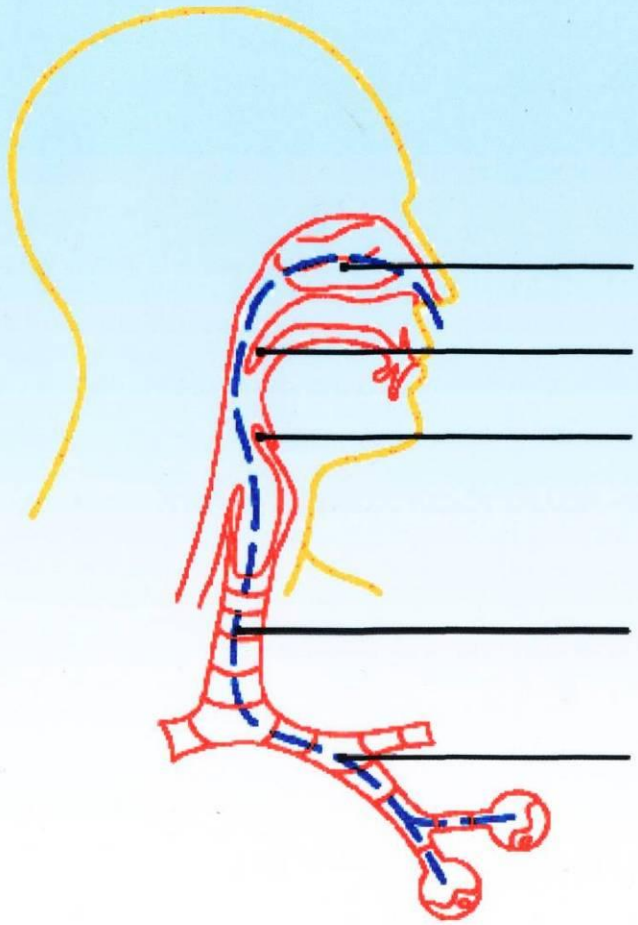
Патогенез

Инкубационный период
(в среднем 48 часов)

Стадия репродукции вируса
Вирус размножается в эпителиальных клетках верхних дыхательных путей (носоглотка, трахея, бронхи)

Стадия распространения вируса
Вирус распространяется через верхние дыхательные пути. Возможно проникновение вируса в другие органы и системы гематогенным путем (ЦНС, сердце, мышечная система)

Поражение дыхательной системы при гриппе

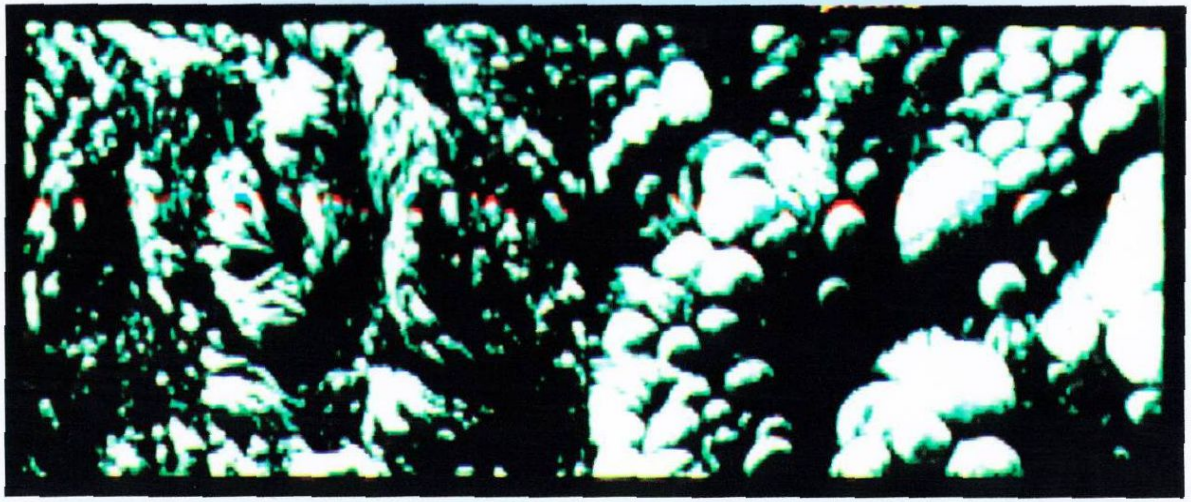


Локализация	Клинические проявления
Полость носа	Ринит
Глотка	Фарингит
Гортань	Ларингит
Трахея	Трахеит
Бронхи	Бронхит Пневмония

Микрофотографии, сделанные с помощью сканирующего электронного микроскопа

Слизистая оболочка до инфицирования вирусом гриппа

Слизистая оболочка после инфицирования вирусом гриппа



Хорошо заметны ворсинки покрывающие клетки эпителия

Ворсинки исчезли, эпителиоциты обнажены и увеличены

Клиническая классификация инфекционного процесса при гриппе

Формы инфекционного процесса

Острый процесс

Неосложненный

1. Легкое течение
2. Средней тяжести
3. Тяжелое течение

Осложненный

Патогенетически обусловленные осложнения

1. Геморрагический отек легких
2. Минингиты, менингоэнцефалиты (серозные)
3. Токсико-инфекциооный шок

Присоединение вторичной бактериальной флоры

1. Пневмонии
2. Отиты, фронтиты, гаймориты
3. Гломерулонефриты
4. Менингиты, менигоэнцефалиты (гнойные)
5. Септические состояния

Персистенция

1. Хроническое течение
2. Медленная инфекция
3. Латентная инфекция

Клиническая классификация инфекционного процесса при гриппе

Не осложненный грипп.

1. Синдром интоксикации (до 5 дней)

а) Лихорадка (от субфебрильной до пиретической)

б) Головная боль

в) Боль в мышцах и суставах

г) Изменения С.С.С. (обратимая миокардиодистрофия)

2. Катаральный синдром (до 7 – 10 дней)

а) «Сухой катар» - в носоглотке застойная гиперемия и отек; набухание раковин

б) Трахеит (ларинготрахеит)

в) Бронхит

3. Геморрагический синдром (5-10 % больных)

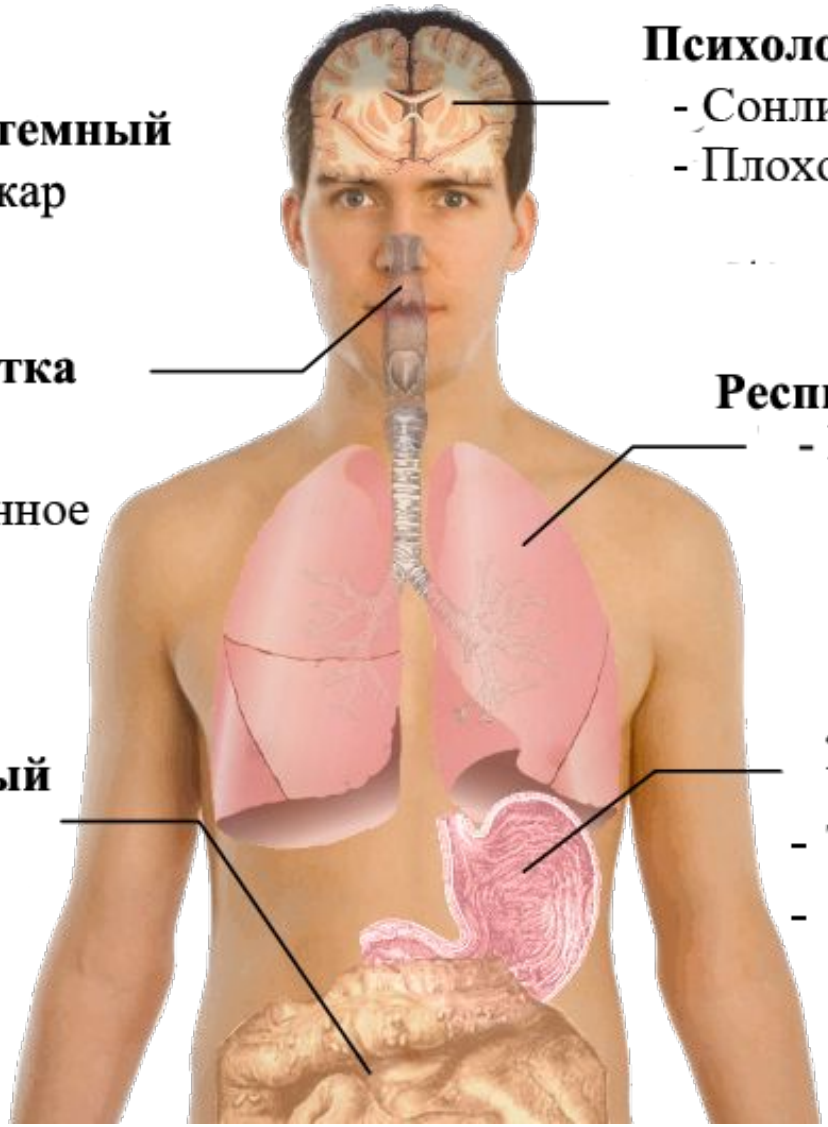
Кожные покровы – гиперемия лица, склерит

Органы брюшной полости – нет поражений (рефлекторный характер)

Изменения периферической крови – лейкопения, нейтропения, относительный лимфомоноцитоз

При первых симптомах "свинного гриппа", больному необходимо обеспечить постельный
режим, окружить его заботой и вниманием...

Симптомы Свиного гриппа



Системный
- жар

Психологический
- Сонливость
- Плохой аппетит

Носоглотка
- Насморк
- Воспаленное горло

Респираторный
- Кашель

Кишечный тракт
- Диарея

Желудок
- Тошнота
- Рвота

- **Особенности А (H1N1):**
- **Инкубационный период 1 - 7 дней.**
- **Наибольшая контагиозность первые 5 дней заболевания, но дети и иммуносупрессивные лица контагиозны от 10 дней до 1-3 месяцев**
- *http://www.hhs.gov - http://www.who,int. - http://www.cdc.gov*

Смертность и госпитализация при гриппозных эпидемиях

- Дети 6 месяцев - 1 год высокий уровень госпитализации (в 12 раз выше, чем у 5-летних) и высокий уровень смертности (как у лиц старше 60 лет)

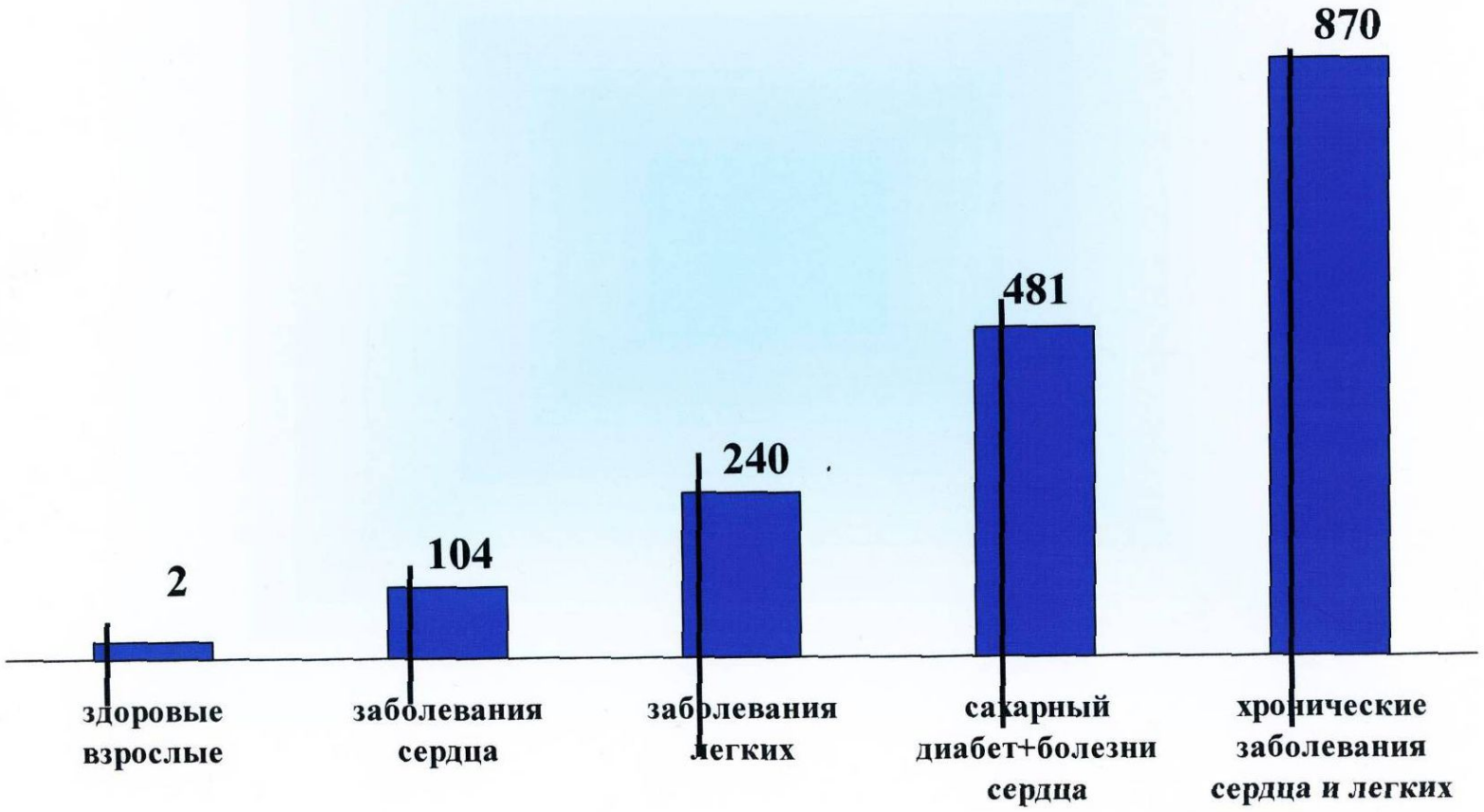
  1 год - 15 лет высокий уровень госпитализации, но смертность низкая

- Здоровые 16 - 50 лет высокая заболеваемость, низкая летальность

- У лиц 50-59 лет высокая госпитализация и смертность

- Лица 60 лет и старше от 80 до 90% смертности от гриппа и очень высокая госпитализация

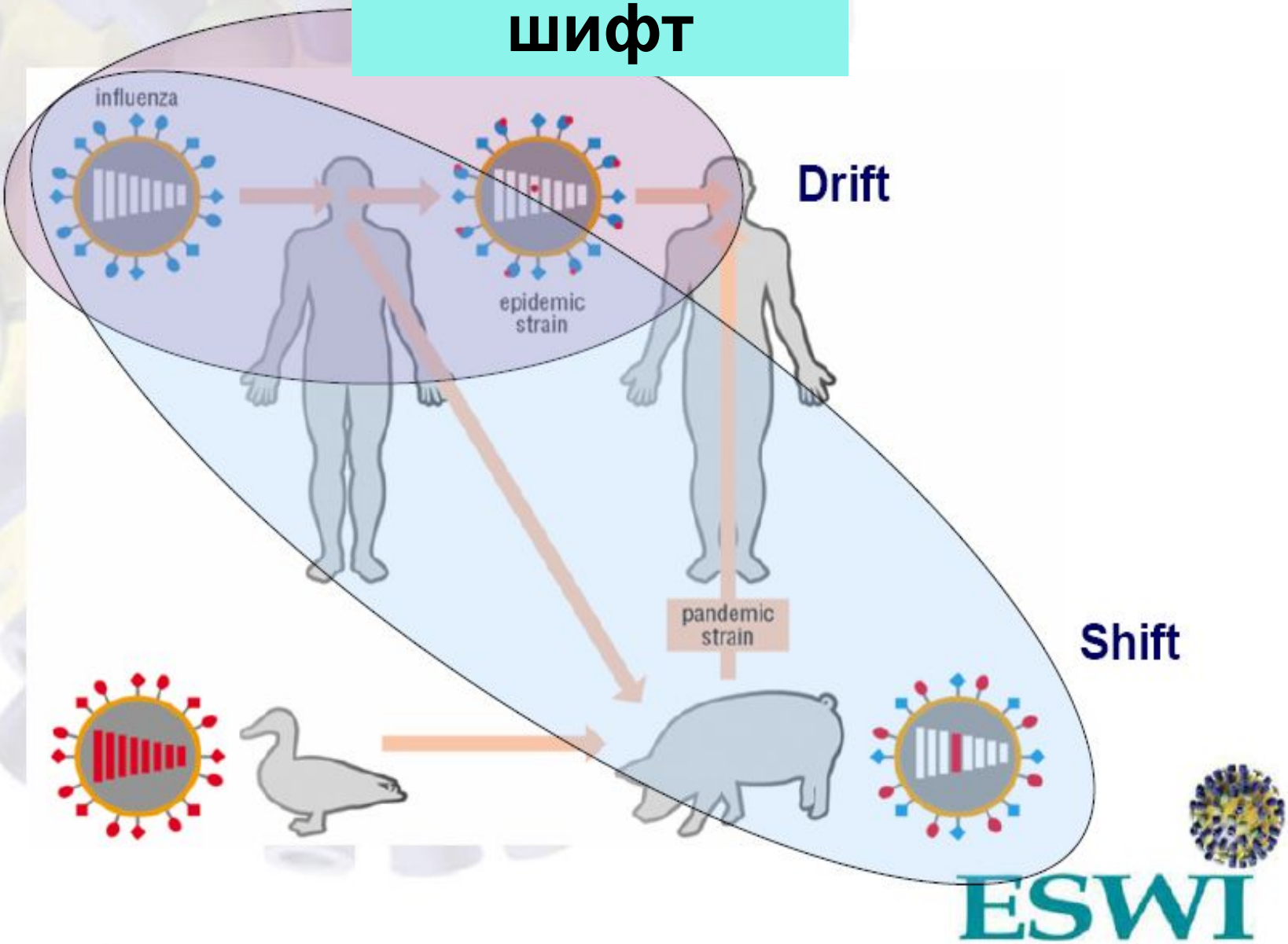
Избыточная смертность от гриппа в группах риска (на 100 тыс.)



- **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ДРЕЙФ – изменение антигенной структуры, связанное с точечной мутацией.**
- **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ШИФТ – большие изменения в геноме вирусов. Например, в результате попадания НК одного вируса в капсид другого вируса.**

Объяснение механизма антигенного шифта (гипотеза)

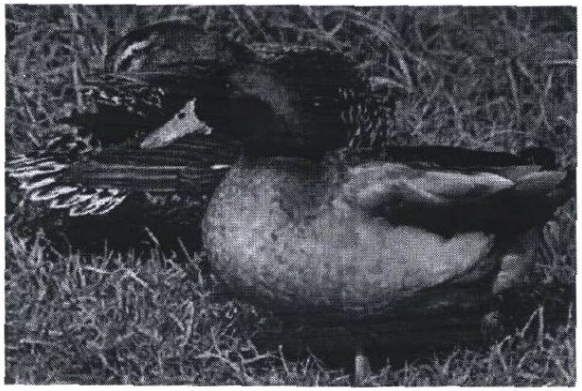
Дрейф и шифт



De Jong JC, et al. Influenza virus: a master of metamorphosis. J Infect 2000; 40 (3): 218–28

«Вспышки» вызванные вирусами птичьего гриппа

1997	H5N1	Гонг Конг, эпидемия (18/6)*
1999	H9N2	Гонг Конг (2/0)
2003	H5N1	Гонг Конг (2/0)
2003	H7N7	Голландия, эпидемия (85/1)
2004-05	H5N1	эпизоотия и заболевания людей, Азия, США, Канада (74/48)



* - заболевшие/умершие

В.В.Малеев

Вирус гриппа А

Прямая передача вируса от птиц к людям

Subtype	Country	Year	# Cases	# Deaths
H7N7	UK	1996	1	0
H5N1	Hongkong	1997	18	6
H9N2	SE-Asia	1999	>2	0
H5N1	Hongkong	2003	2?	1
H7N7	Netherlands	2003	89	1
H7N2	USA	2003	1	0
H7N3	Canada	2004	2	0
H5N1	SE-Asia/M-East/ Europe/W-Africa	2003-9	>400	>250*

*CFR >60%

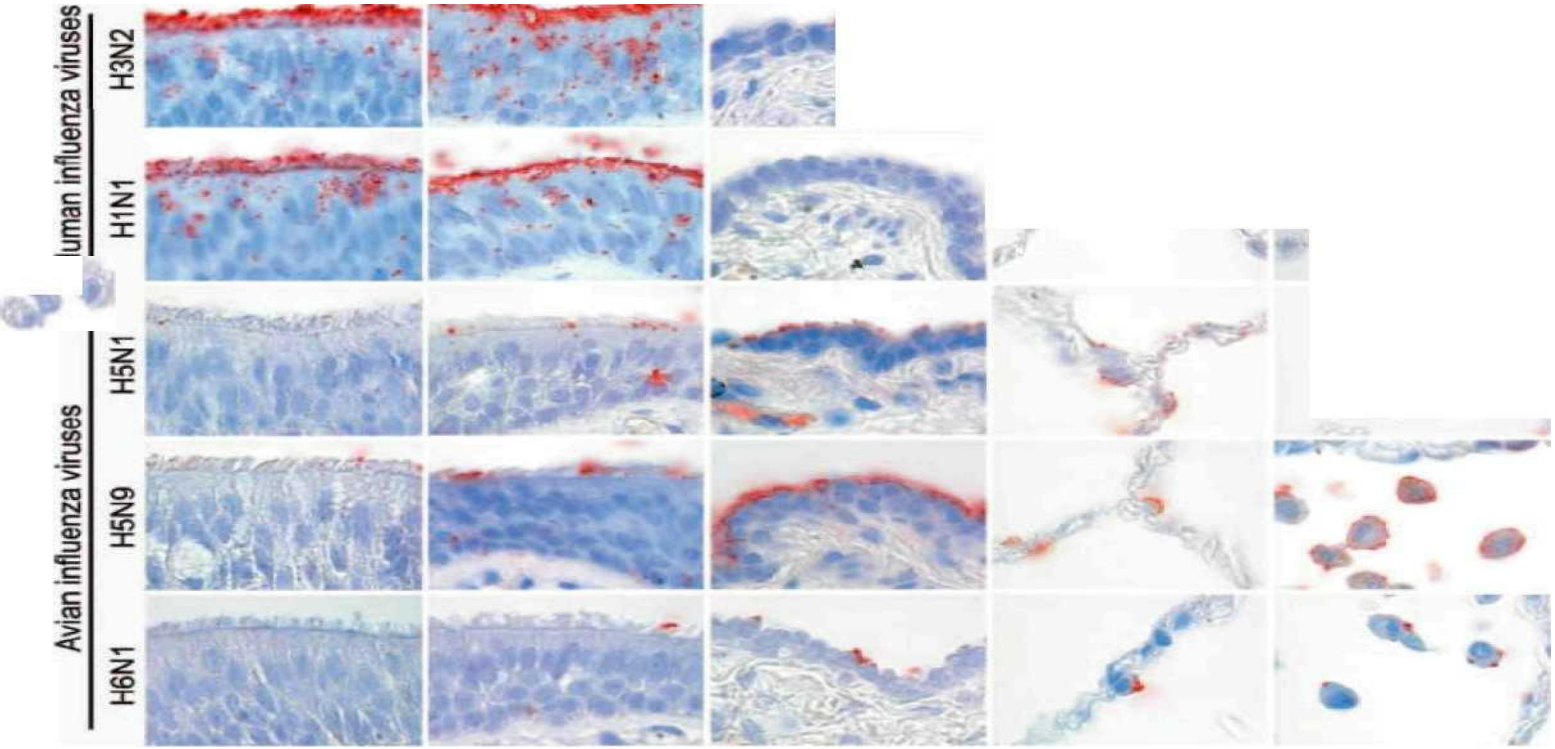
H5N1: **высокая патогенность, низкая степень контагиозности**

ESWI

• Птичий грипп H5N1

- (комплементарность НА к рецепторам дыхательного эпителия)

- Трахея Бронхи Бронхиолы Альвеолы Макрофаги



Что нас ждёт далее?

<u>Сезонный грипп</u> (A: H3N2, H1N1; B)

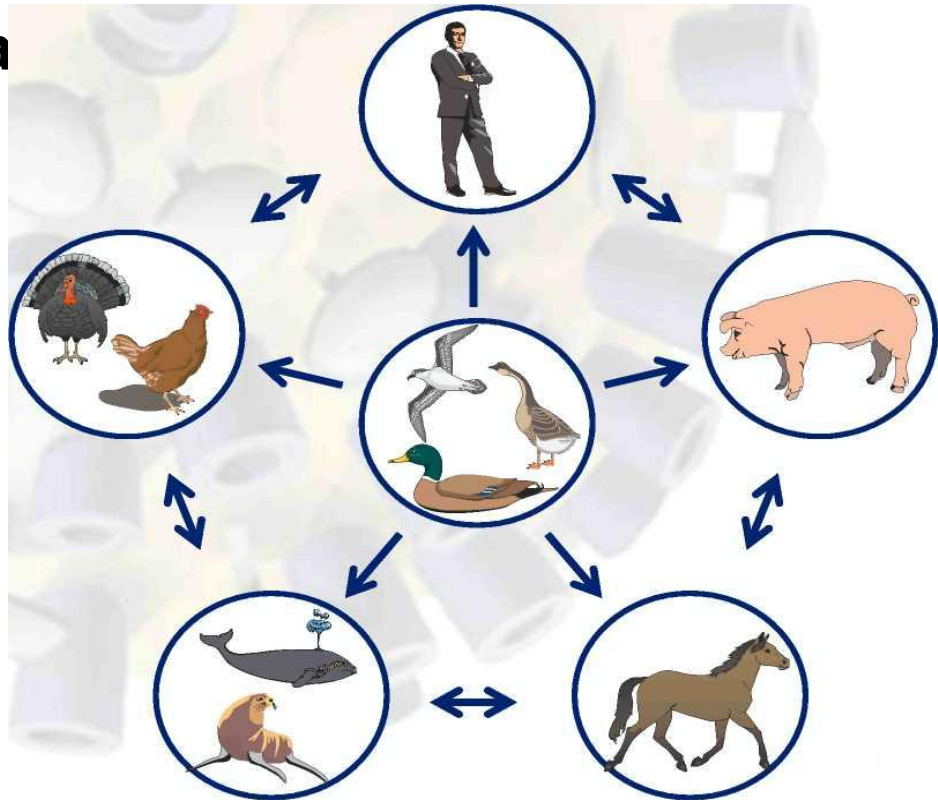
<u>Пандемический грипп (</u>A: H1N1, H2N2, H3N2…?)

<u>Птичий грипп</u> (A: H5N1, H7N7, …)

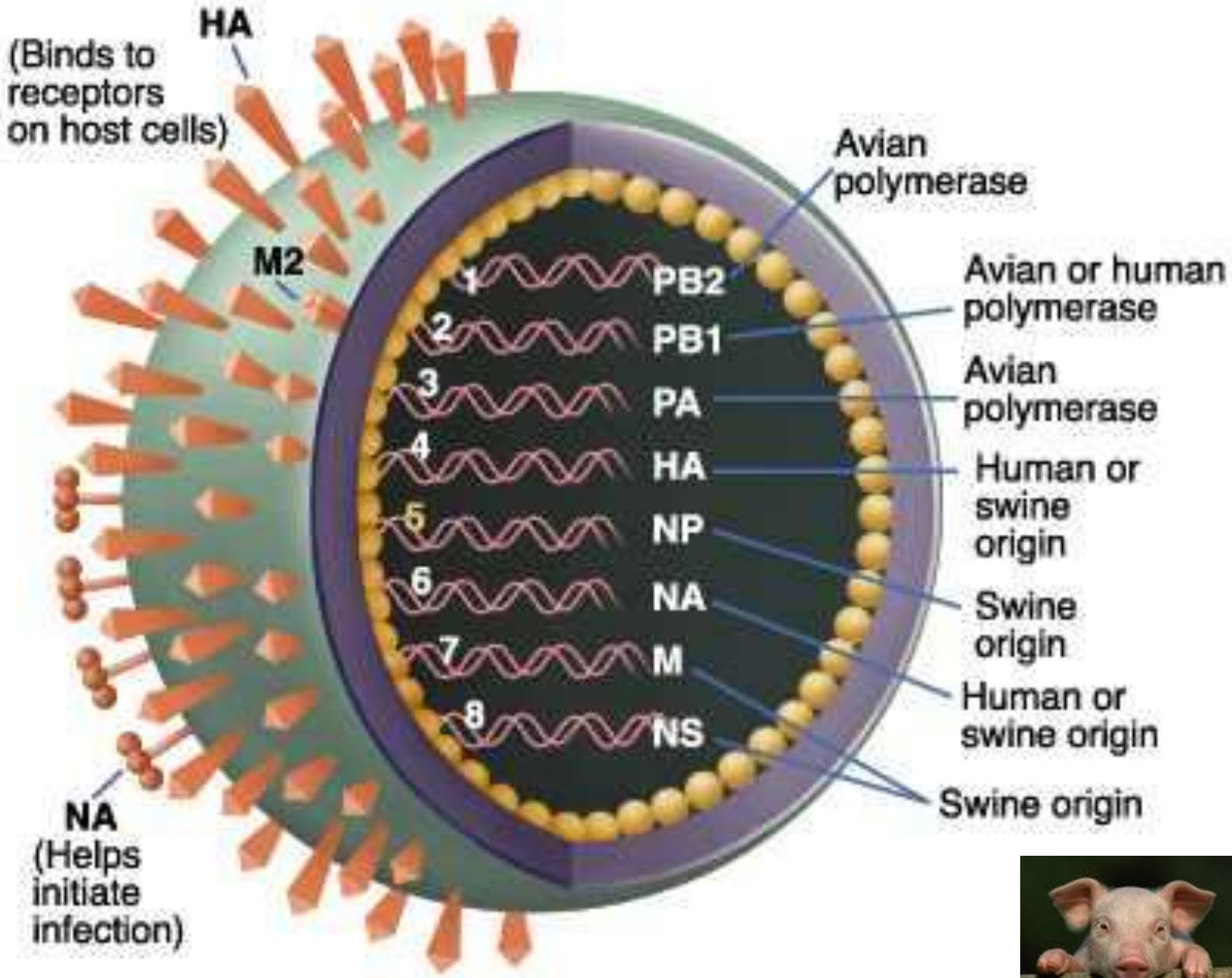
«Новый» вирус гриппа А (H1N1)

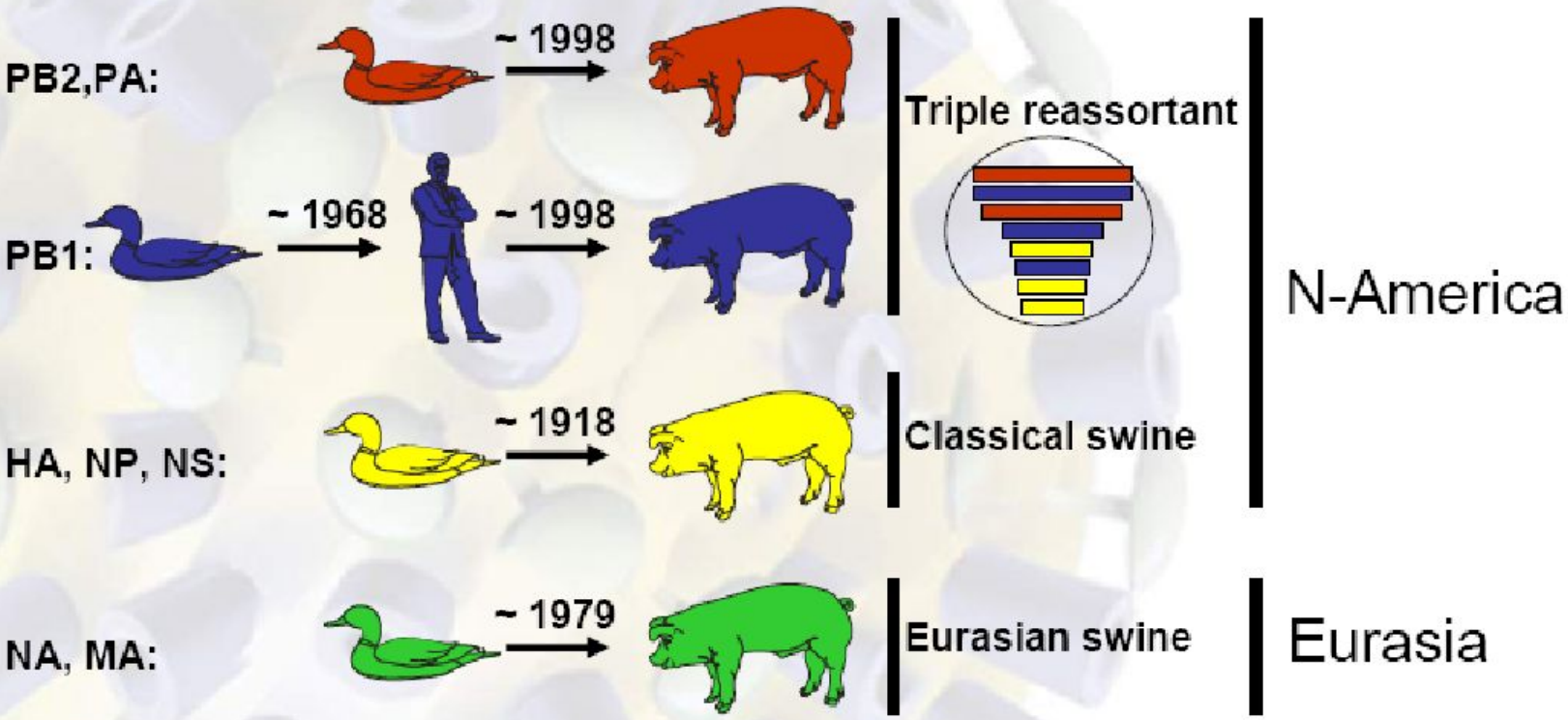
«Мексиканский грипп»...

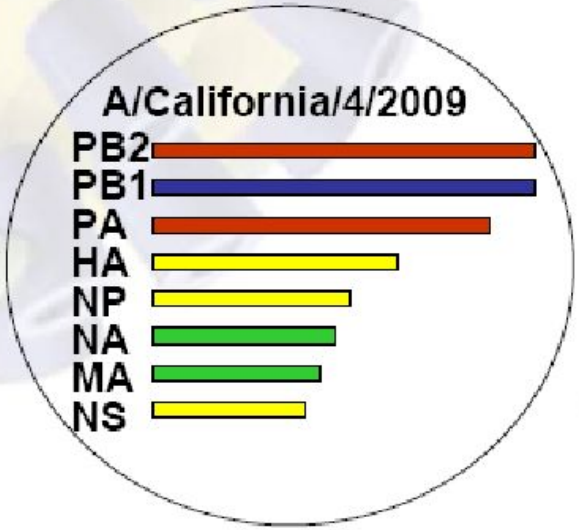
какая пандемия следующа



ECCMID Late Braking News Helsinki, 17th May 2009


HA
(Binds to receptors on host cells)
M2
NA
(Helps initiate infection)
1
2
3
4
5
6
7
8
PB2
PB1
PA
HA
NP
NA
M
NS
Avian polymerase
Avian or human polymerase
Avian polymerase
Human or swine origin
Swine origin
Human or swine origin
Swine origin





The "Mexican flu" virus

ESWI

- **Особенности вируса «свинова» гриппа**
- **Штаммы вируса гриппа А (H1N1, H1N2, H3N1 и H3N2) широко распространены среди свиней во всём мире (наиболее распространённый тип H1N1)**
- **Большинство это рессортантные штаммы включающие в себя свиной и / или и /или человеческие и/или птичьи гены.**
- **Высоко контагиозное заболевание дыхательного тракта у свиней. Заболеваемость высока, но летальность низкая (1-4%)**
- **В Европе состав генома вируса отличается от североамериканского.**

«Свиной» грипп A(H1N1) : США 1976

- **Впервые вспышка «свиного» гриппа (H1N1) зарегистрирована в Fort Dix, New Jersey, USA,**
- **>200 случаев тяжёлого течения заболевания и 1 смерть**
- **>40 млн было вакцинировано. Вакцинация запрещена после выявления >500 случаев синдрома Guillain-Barre (30 летальных исходов)**
- **<u>Декабрь 2005:</u>**
- **12 случаев «свиного» гриппа в 10 штатах US**
- **Выявлены случаи тяжёлого «свиного» гриппа рессортантными штаммами в Нидерландах.**

- *Sencer DJ, et al. Emerg Infect Dis 2006; 12 (1): 29-33.*

Если ты проснулся и выглядишь так - не ходи на работу!

Диагностика

1.<u>Экстренная</u> выявление АГ:

- НФ (непрямая флюоресценция)
- РНГ (реакция непрямой гемадсорбции)

результат через 1-3 часа

2. <u>Ретроспективная</u> а) вирусологические методы

б) серологические методы

(РТГА, РСК, РНГА, ИФА)

<u>Основные тесты для точного подтверждения диагноза:</u>

1. **Real-time RT-PCR**
2. **Выделение вируса**
3. **Не менее, чем четырёхкратное нарастание титра антител к A(H1N1)**

Система мониторинга

Врачи-наблюдатели во всех странах мира (сбор материала)

▼

Национальные центры по изучению гриппа – 110 лабораторий более чем в 80 странах мира (выделение и первичная идентификация вируса)

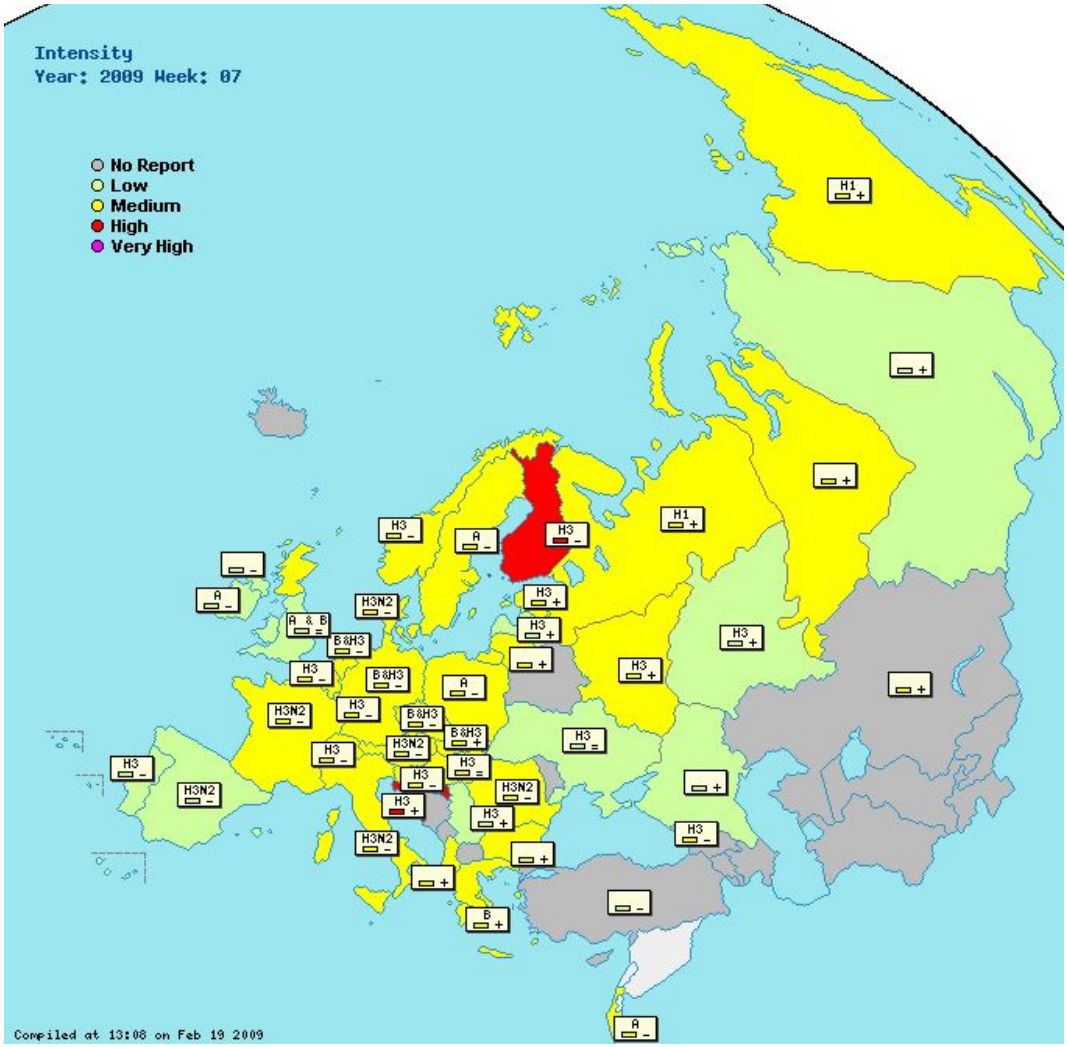
▼

Международные центры (4): США (Атланта), Великобритания (Лондон), Япония (Токио), Австралия (характеристика новых антигенных вариантов, культивирование новых штаммов для производства вакцин, приготовление эталонных реагентов)

▼

ВОЗ (Женева)

EISS - Еженедельный электронный бюллетень *Неделя 7 : 09/02/2009-15/02/2009*



Система мониторинга

ВОЗ (Женева)

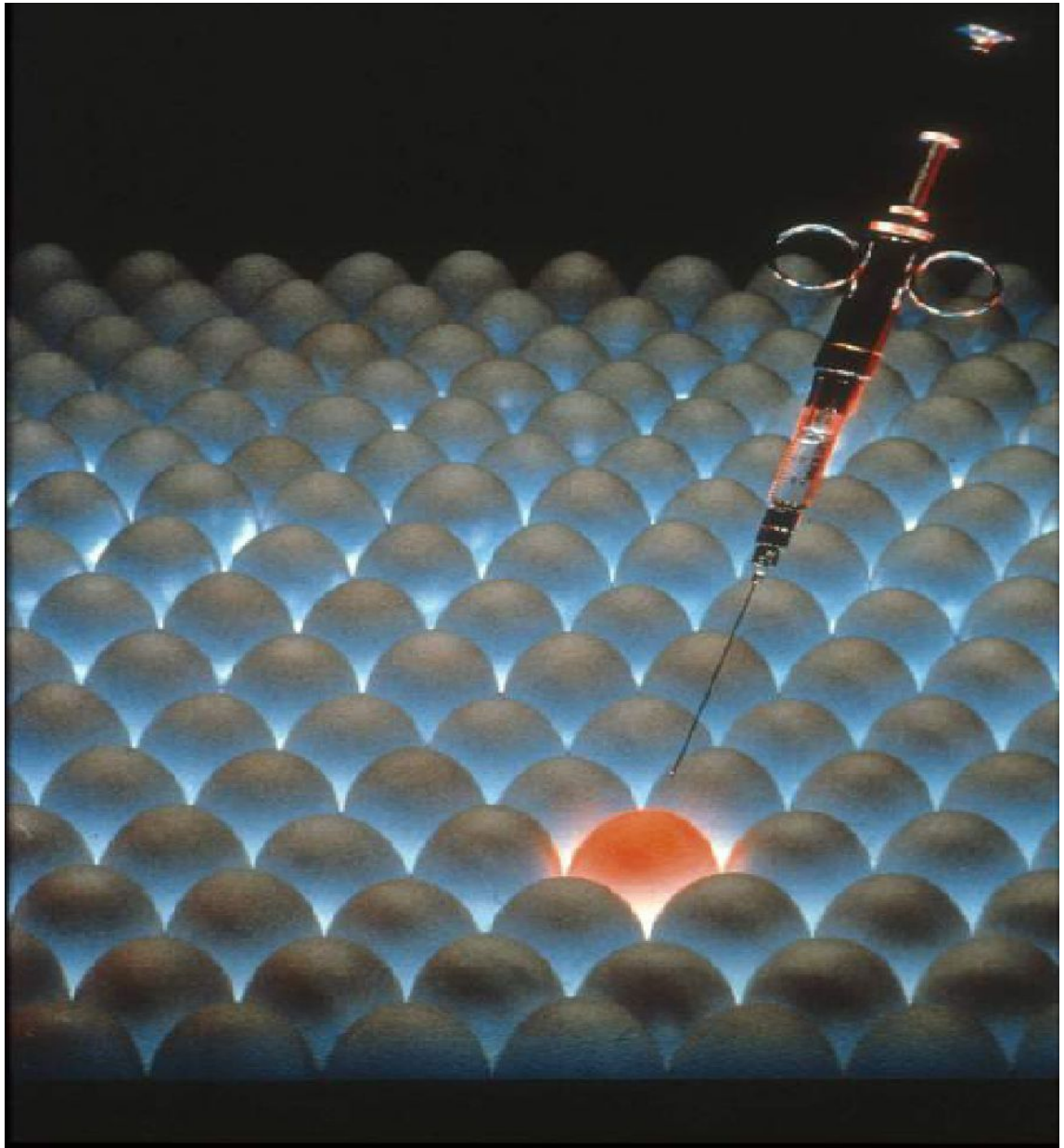
(оценка эпидемиологической ситуации, рекомендации по составу вакцин на предстоящий сезон)

▼

Компании-производители (производство вакцин)

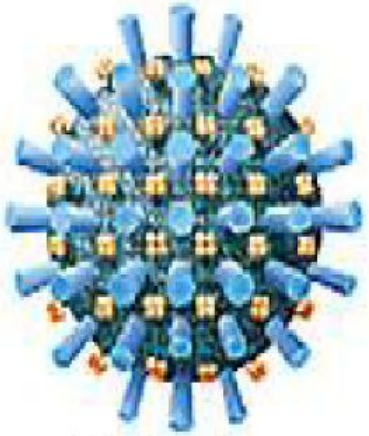
Система профилактики: неспецифическая и специфическая

Профилактика и лечение гриппа и его осложнений



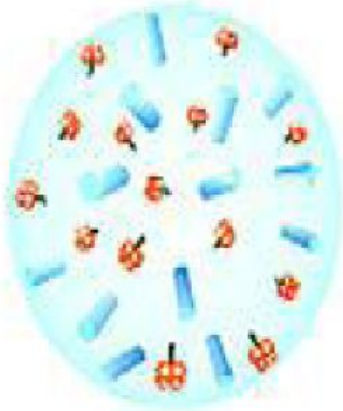
Одна доза вакцины – одно яйцо!

Виды вакцин

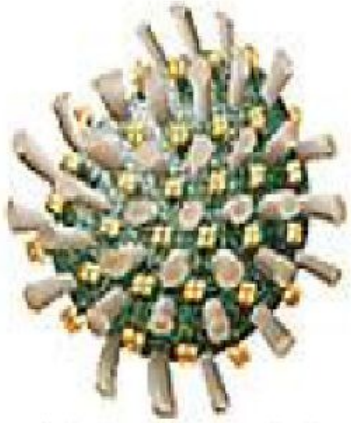


Цельновирионная вакцина

Расщепленная (сплит) вакцина



Субъединичная вакцина



Живая аттенуированная

Source: IFPMA website

ESWI

Организация вакцинации

- Рекомендации комитета экспертов:
  - лица старше 65 лет
    - 9 хронических болезней(ALD): респираторные, сердечно-сосудистые, обмена веществ, почечные, печеночные, иммунодефициты, дети, получающие долгое время терапию салицилатамиди
  - туристы и путешественники

Вакцинация бесплатна для целевых групп;

Основные оргвопросы в России:

- Изготовить 30-40 млн доз
- ЖИВАЯ ИНАКТИВИРОВАННАЯ или убитая ВАКЦИНА?
- Одна доза или две?
- Группы риска?
- Сроки?

Классические представления о вакцинации

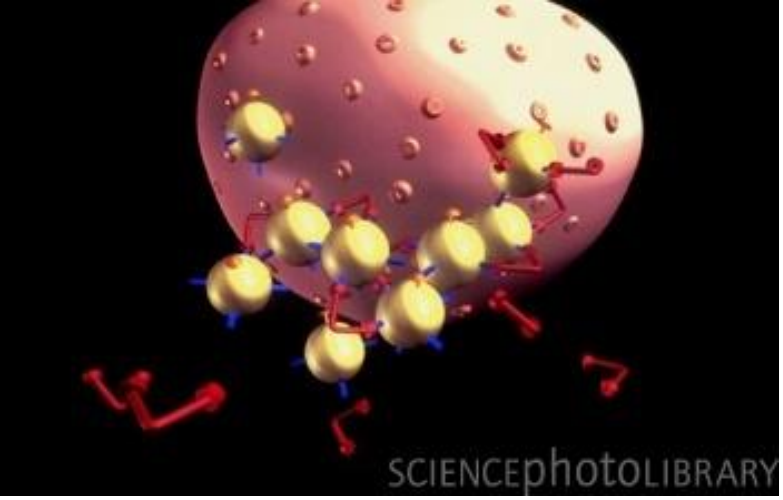
- Эффективность вакцины зависит от того, насколько “правильно” подобрана вакцина
- Применение вакцин имеет свои ограничения:

Они не могут применяться для лечения!

Живые вакцины нельзя применять в период эпидемии!

Скорее всего, при первой волне пандемии живые вакцины еще будут отсутствовать!

- Если пандемия будет вызвана новым штаммом – нужно время для идентификации штамма и производства вакцины.
- Маловероятно, что удастся заранее сделать запас вакцины, так как при пандемии производственные мощности, скорее всего, будут перегружены
- Качество вакцины определяет частоту и характер осложнений вакцинации



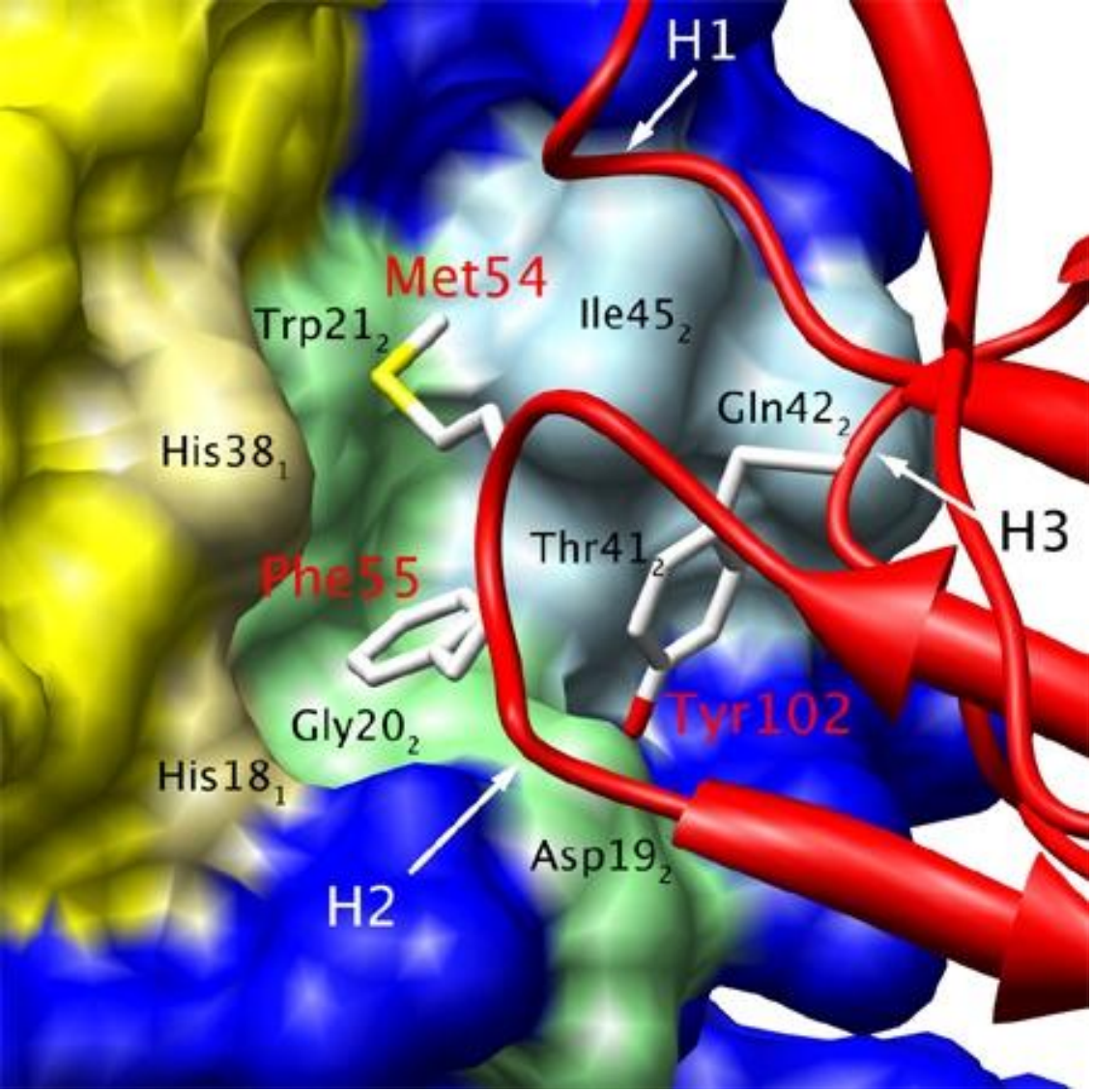
Viruses and antibodies, artwork

Традиционная вакцинация, при которой в организм вводят ослабленные или убитые вирионы, стимулирует образование антител, специфичных к наиболее заметным участкам вирусной поверхности. По счастливой для вируса случайности эти же самые участки обладают наибольшей изменчивостью: эти изменения не сказываются на болезнетворности вируса, но делают прививку абсолютно бесполезной против даже немного отличающегося штамма.

Мараско и соавторы **публикации** в Nature Structural & Molecular Biology нашли способ сделать не только универсальную прививку, но и универсальный препарат, способный спасти уже пораженный вирусами организм.

Их мишенью стала «ножка», на которой держится вирусный белок гемагглютинин, отвечающий за прикрепление к хозяйской клетке.

Выяснилось, что последовательность аминокислот в этой «ножке» абсолютно неизменна во всех штаммах вируса гриппа – в отличие от того же гемагглютинина, для которого известно 6000 комбинаций, или белков оболочки.



Связывание универсального антитела F10 с геммаглютинином H5 // W. Hwang

Основной вывод: нужны эффективные противовирусные препараты для экстренной профилактики и лечения гриппа в период эпидемии

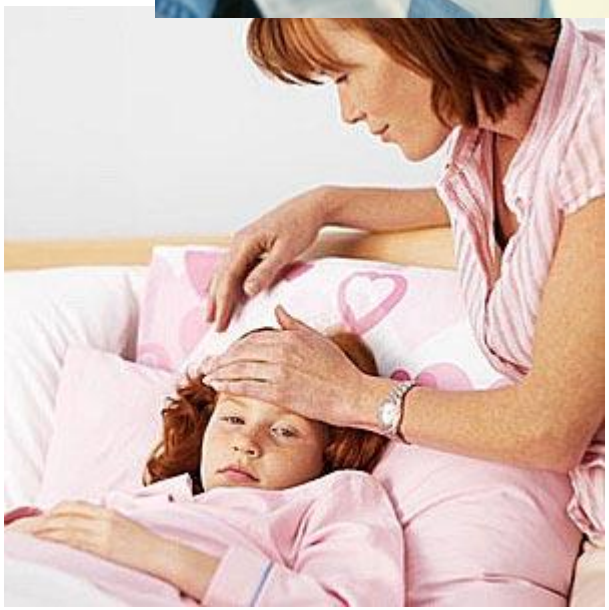
- **Симптоматическая терапия –** дезинтоксикационная и антигистаминная (первого поколения) терапия, НПВС. При гипертермии следует избегать **салицилатов**, рекомендуется п**арацетамол** или **ибупрофен** per os или в свечах.
- **Кислородотерапия** с использованием небулайзера и маски с интенсивной подачей кислорода
- **Антибиотикотерапия** показана при вторичной инфекции

Этиотропная терапия

- **Осельтамивир** – 75 мг per os 2 раза в день 5 дней (взрослая доза) эффективность наивысшая на ранних стадиях болезни; назначается профилактически по 75мг per os однократно в течение 7-и дней после контакта с больным. **Детям -1-12** лет-30мг в д при весе 15 кг; 45 мг при весе 16-23 кг;60 мг при весе 24-40 кг; старше 13 лет доза взрослого.
- **Занамивир – детям старше 5 лет, ингаляции** 10 мг 2 р.в.д**.**
- **Амантадин** и **ремантадин** только тип А, дети 1-9 лет-5 мг/кг 2 р.д., от 10 лет до 64 лет 100мг 2 р.в д., старше 65 лет- 100 мг.1 р. в д. Рекомендован ВОЗ в сочетании с осельтамивиром.
- **Рибавирин** – только при тяжёлых осложнениях (дистресс синдром и т.д) в аэрозоле или в/в, т.к. вызывает побочные реакции в виде анемии и поражения почек.
- **IFN-α2-** в форме аэрозоля ингибирует белки активизирующие НА .

Лечение птичьего гриппа

- **Осельтамивир (тамифлю)** – 75 мг per os 2 раза в день 5 дней (взрослая доза) эффективность наивысшая на ранних стадиях болезни; назначается профилактически по 75мг per os однократно в течение 7-и дней после контакта с больным
- **Амантадин** и **ремантадин** неэффективны, т.к. вирус птичьего гриппа А (H5N1) резистентен к ним. **Рибавирин** – не эффективен и вызывает побочные реакции в виде анемии и поражения почек
- **Кислородотерапия** с использованием небулайзеров и маски с интенсивной подачей кислорода
- **Антибиотикотерапия** показана при вторичной инфекции
- При гипертермии следует избегать **салицилатов**, рекомендуется **парацетамол** или **ибупрофен** per os или в свечах

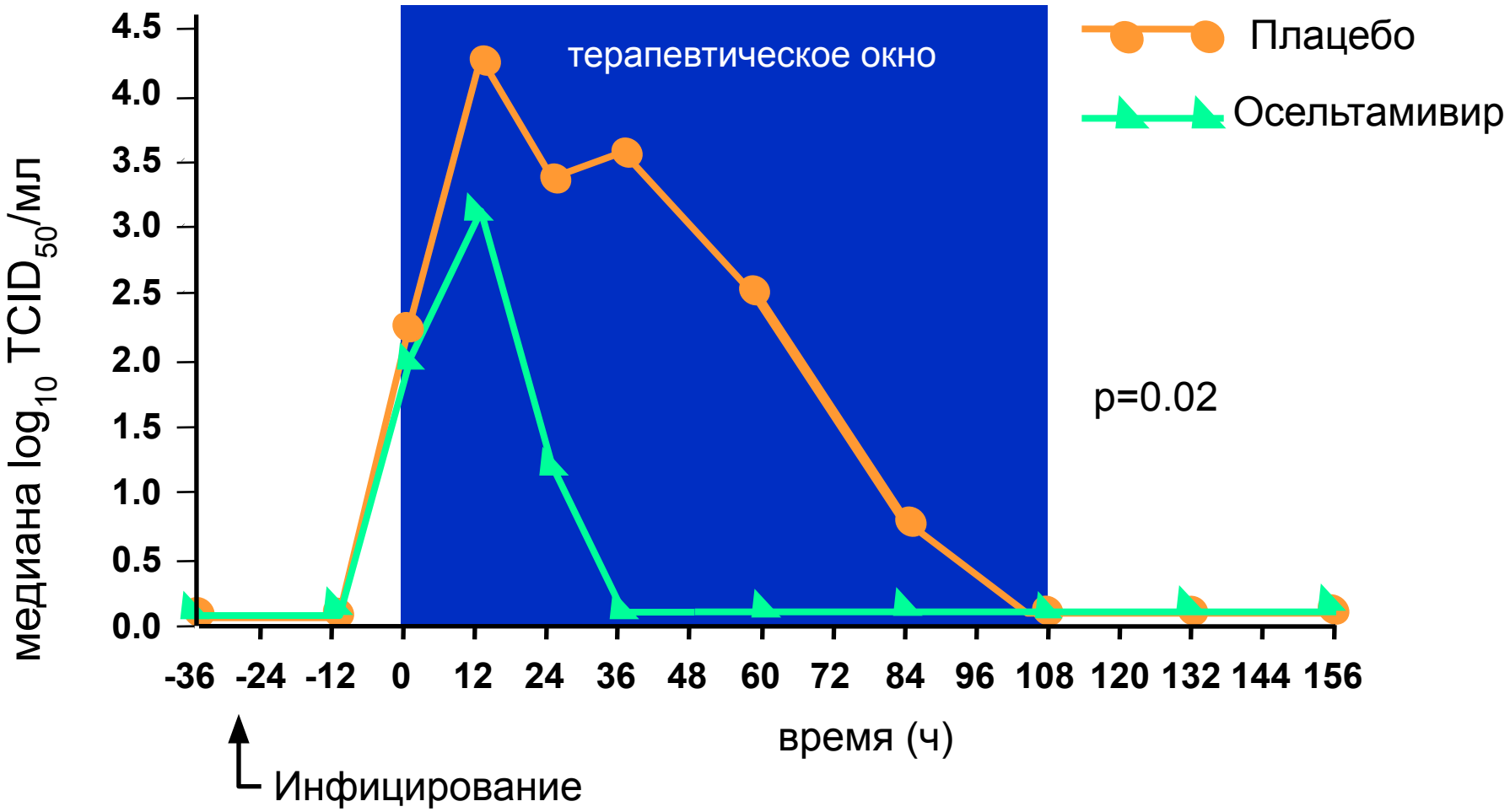


Осельтамивир: фармакокинетика у человека

- Быстрое всасывание при приеме внутрь и превращение в активный метаболит
- Высокая биодоступность

  (~80% для активного метаболита)
- Приём пищи не меняет уровень биодоступности
- Продолжительный период полувыведения ($T_{1/2}$ = 7-9 ч)
- Выведение через почки (>99%)
- Низкий потенциал лекарственных взаимодействий
  - *не влияет на систему цитохрома P450*
  - *низкое связывание с белками*

Лечение осельтамивиром: титры вирусов в назальном отделяемом



Hayden *et al.* 1999a

Резистентность к осельтамивиру обнаружена у вирусов H1N1 во время сезона 07/08

- Высокая частота резистентности к осельтамивиру среди циркулирующих штаммов H1N1 ассоциировалась с мутацией His274Tyr, впервые обнаружена в Норвегии 25 января 2008
- H1N1 природная резистентность к осельтамивиру зарегистрирована в 29/52 стран которые проводили такое обследование
- Обнаружены дополнительные мутации (в дополнение к H247T) которые могут обусловливать вирулентность вируса (компенсаторные мутации)
- Нет снижения чувствительности к амантадину, римантадину или занамивиру
- Резистентные вирусы выделены от взрослых и детей от 1 мес. до 61 года в ЕС
  - **Пациенты не получали осельтамивир и не были в контакте с пациентами получавшими терапию осельтамивиром,что свидетельствует о возникновении спонтанной природной резистентности в отличие от лекарственной резистентности, большинство стран не получали или в небольшом количестве принимали осельтамивир;**
- Первоначальный анализ клинической картины гриппа, вызванного резистентными штаммами не выявил отличий по сравнению с чувствительными штаммами (в основном легче, чем вызванный A/H3N2)

Побочные эффекты Тамифлю

Нежелательное явление	Плацебо	Тамифлю
Тошнота	5,6%	9,9%
Рвота	2,9%	9,4%
Системные головокружения	0,4%	1,0%

- Носят транзиторный характер
- Возникают после приема первой дозы
- Не требуют отмены препарата

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ:
Хроническая почечная недостаточность

Data on File. F. Hoffmann-La Roche Ltd. Basel, Switzerland.

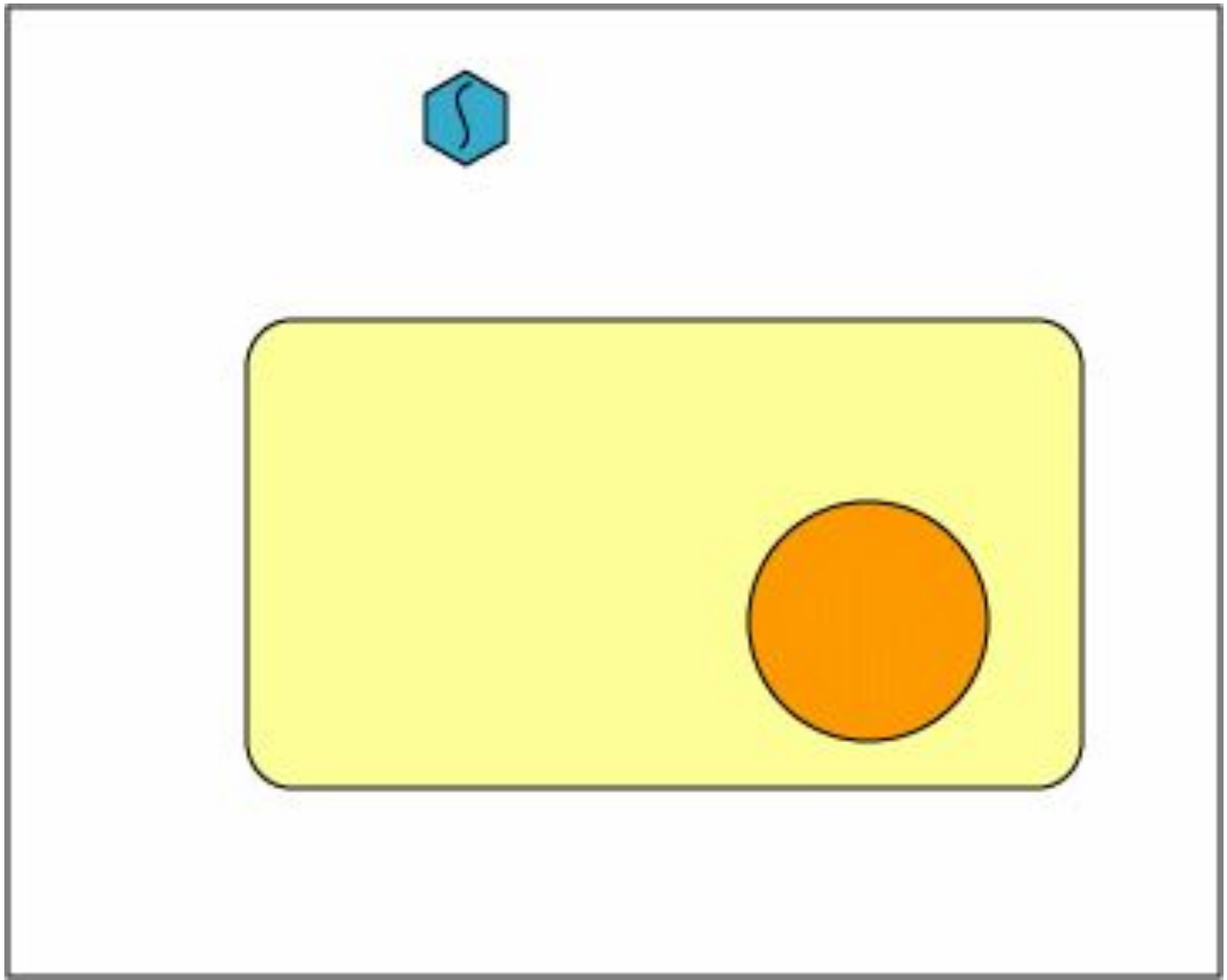
Существует ли природная резистентность к другим ингибиторам NA?

- У 4 изолятов A/H1N1 из Австралии/ Филиппин от пациентов не получавших терапию занамивиром обнаружена резистентность к занамивиру
  - Мутации обнаружены в положении Q136K & K150T
  - Вирус оставался чувствительным к осельтамивиру
  - Hurt et al выполнили дополнительные исследования с рекомбинантными вирусами с такими мутациями, публикации планируются.
- Общественная база данных genetic sequence показывает что такие мутации могут возникнуть в позиции 136 и 150, что делает возможным возникновение природной резистентности к занамивиру.

ингибиторы нейраминидазы 2-ого (занамивир = Реленза) и 3-его (озельтамивир=Тамифлю) поколений. Они ингибируют ту самую N у вирусов. Устойчивые штаммы неизбежно появятся, но пока препараты неплохо помогают, особенно если назначены контактным людям до появления первых симптомов или в первые часы заболевания.

Представитель нового поколения пероральных индукторов ИФН Кагоцел – высокомолекулярное соединение, синтезированное на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы и низкомолекулярного природного полифенола. Этот препарат обладает уникальной фармакокинетикой, благодаря которой высокое содержание ИФН в кишечнике отмечается уже через 4 ч после приема препарата, а концентрация в крови достигает максимума через 48 ч. При этом обеспечивается длительный (до 4-5 суток) интерфероновый ответ.

Механизм противовирусного действия интерферонов



modeled by Waldemar A. Damala Jr.
damala@gmail.com
http://damala.deviantart.com
"I swear it wasn't me."
Mr. Littlepig