

# ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

*Леванова Л.А.* – зав.кафедрой микробиологии,  
иммунологии и вирусологии, д.м.н., профессор

---

# Методические направления

- Обнаружение вируса или его компонентов непосредственно в клиническом материале, взятом от больного (быстрая диагностика);
  - Выделение вируса из клинического материала и его идентификация;
  - Серодиагностика вирусных инфекций;
-

---

# Выбор метода лабораторной диагностики зависит:

- От характера заболевания;
  - Предполагаемого возбудителя;
  - От периода болезни;
-

# Требования к сбору, хранению и доставке исследуемого материала

- Оптимальные сроки взятия материала;
- Выбор пробы зависит от патогенеза заболевания;
- Обязательно в острой стадии болезни берется кровь;
- Выбор пробы зависит от предварительного клинического диагноза;
- Пробы берутся с соблюдением правил асептики в стерильные флаконы с завинчивающей пробкой;
- Пробы сохраняют влажными и на холоду (не замораживают); можно использовать стабилизирующую среду (среда Хенкса и др.);
- Доставку осуществляют в максимально короткие сроки. Если время доставки превышает 30-40 минут и не сразу будет проведено исследование, пробы замораживают при  $-80^{\circ}\text{C}$  в сухом льду или помещают в жидкий азот при  $-180^{\circ}\text{C}$ ;
- Пробы маркируются и на них оформляется сопроводительный документ;

# Методы диагностики вирусных инфекций

1. Цитологический (быстрая диагностика);
  2. Вирусологический
  3. Серологический
  4. Молекулярно-генетический
-

---

# Методы быстрой диагностики

- Экспресс-методы;
  - Ускоренные методы;
-

# Экспресс-методы диагностики вирусных инфекций

## Малоспецифические

### ◆ Тельца

- Пашена
- Арагана

### ◆ Внутриклеточные включения

- ядерные (напр. при аденовирусной инфекции)
- цитоплазматические (напр. Бабеша-Негри)

### ◆ Выявление вириона в пробах

- ЭМ (дает ответ в течение 1 часа);
- ЭИМ (дает ответ в течение 2-3 часов);

*Подходят* для рота, адено, гепадна, парамиксо, ортомиксовирусов и др.



Тельца Бабеша-Негри

# Экспресс-методы диагностики вирусных инфекций

## Высокоспецифические

- Выявление вирусного АГ в пробах: РИФ, ИФА, РНГА, РИА, реакция преципитации в геле (от 2 до 24 часов);
- Выявление ранних противовирусных АТ IgM: РНГА, РОНГА, ИФА, РИА и др.;
- Выявление вирусных ферментов в тесте МГ;
- Выявление НК: ПЦР;



# РИФ с патологическим материалом

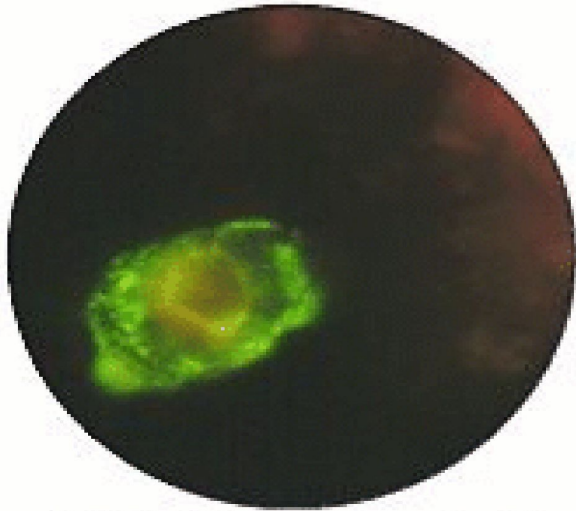


Fig. 3, HSV-infected epithelial cell from skin lesion (DFA)

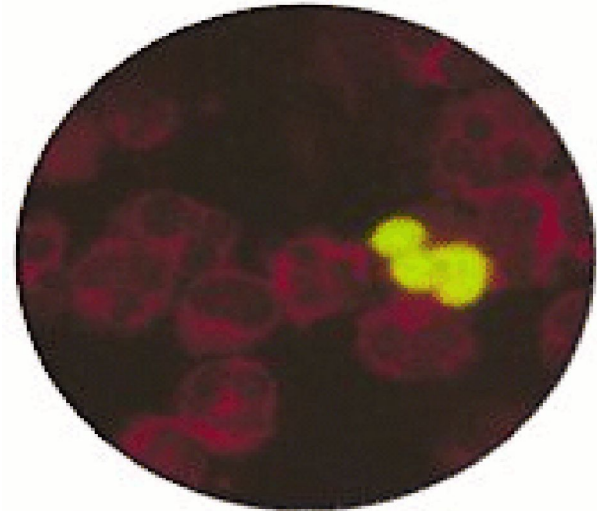
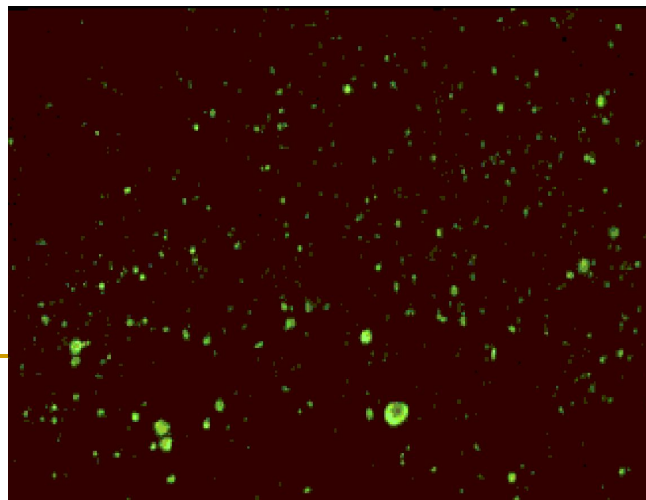


Figure 4 CMV pp65 antigens detected in nuclei of peripheral blood neutrophils



# Ускоренные методы

Выявление вирусного АГ в клеточной культуре через 24 после накопления.

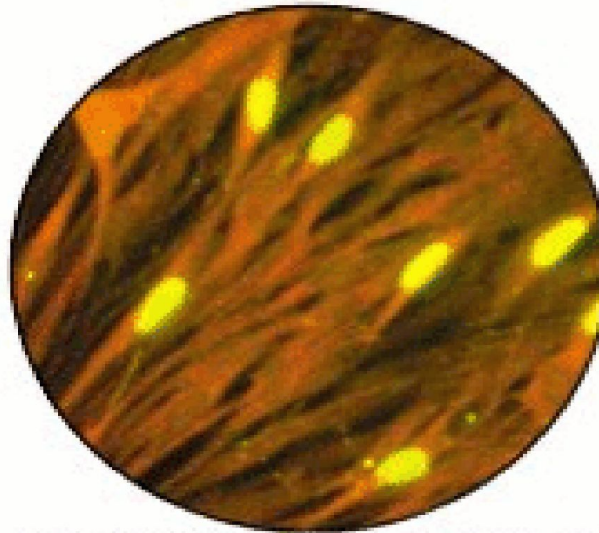


Fig. 2. CMV centrifugation culture fixed and stained 16 hrs after inoculation showing viral proteins in nuclei of infected human fibroblast cells

---

# Ретроспективные методы

- Вирусологический метод;
  - Серодиагностика;
-

---

# Вирусологический метод

## Этапы:

- Культивирование (накопление) вируса;
  - Индикация (обнаружение) вируса;
  - Типирование (идентификация вируса);
-

# Использование для вирусологического метода куриного эмбриона

5-7-дневные, реже – 10-11-дневные

- основные способы заражения:
  - ❑ на хорион-аллантоисную оболочку
  - ❑ в хорион-аллантоисную полость
  - ❑ в полость желточного мешка
  - ❑ в полость амниона
  - ❑ в тело эмбриона
- индикация:
  - ❑ гибель эмбриона
  - ❑ морфологические изменения эмбриона/оболочек
  - ❑ РГА с жидкостью из полостей куриного эмбриона
- идентификация:
  - ❑ РН (в т.ч. РТГА)
  - ❑ РСК

# Использование для вирусологического метода культур клеток

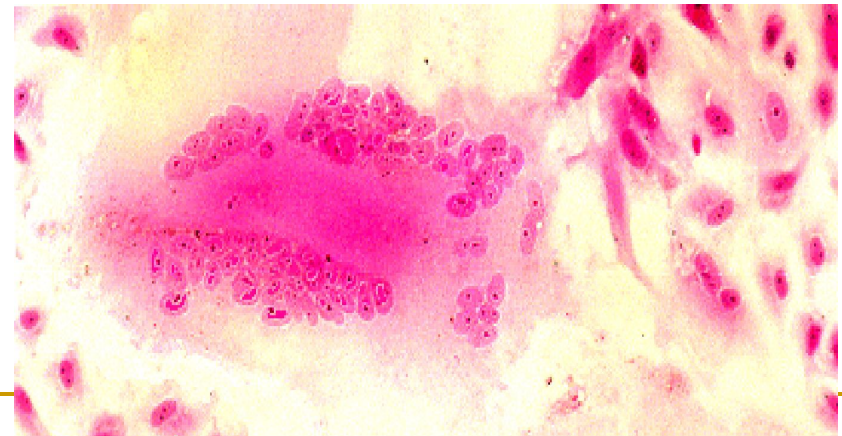
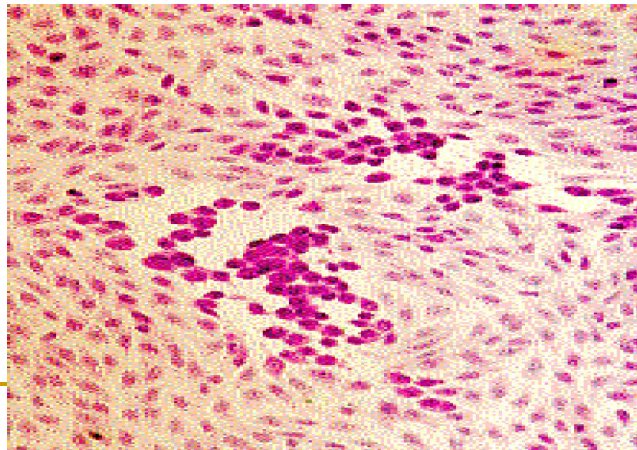
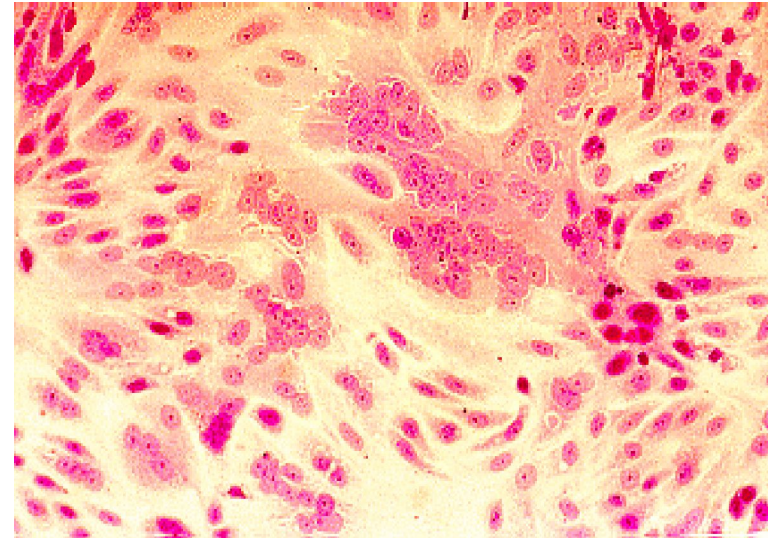
Чаще – перевиваемые монослойные

- индикация:
  - ЦПД (цитопатическое действие вирусов – любое изменение клеток монослоя, включая бляшкообразование и цветную пробу)
  - гемадсорбирующая активность монослоя (РГАдс)
  - РИФ (= идентификация)
- идентификация:
  - РН (в т.ч. РТГАдс)
  - РСК
  - РИФ

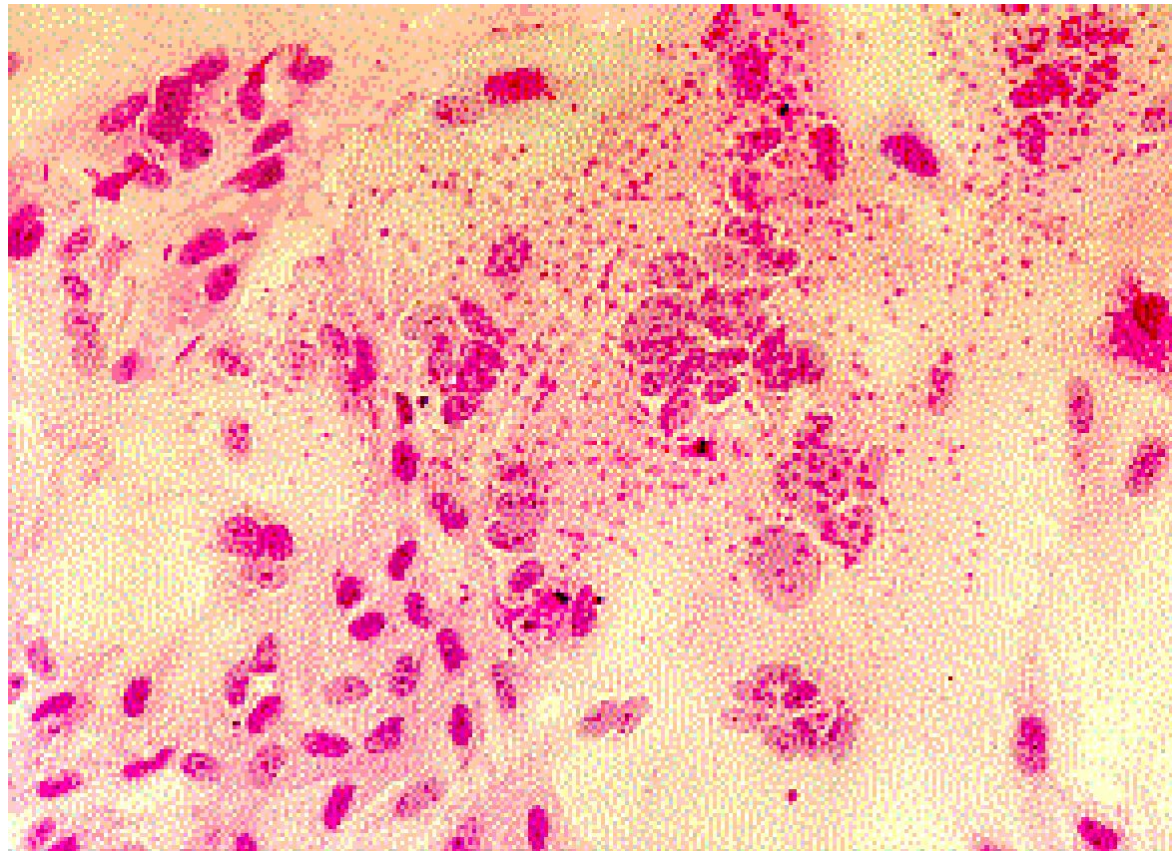
# ЦПД вирусов



Fig. 1. Cytopathic effects of enterovirus 71 in rhesus monkey kidney cells



# РГАдс





---

# ВИРУСЫ ГРИППА

Ортомиксовирусы –  
греч. *orthos* – правильный,  
*туха* - СЛИЗЬ



# Ортомиксовирусы: классификация

- Orthomyxoviridae
  - Influenzavirus
    - вирус гриппа А
    - вирус гриппа В
  - Influenza
    - вирус гриппа С



---

# Ортомиксовирусы: характеристика семейства

- спиральный тип симметрии
  - цитоплазматические включения
  - наличие ядерной стадии репликации
-

# Ортомиксовирусы: основной способ культивирования

куриный эмбрион

- амнион
- аллантоис

индикация

- РГА

идентификация

- РСК
- РТГА

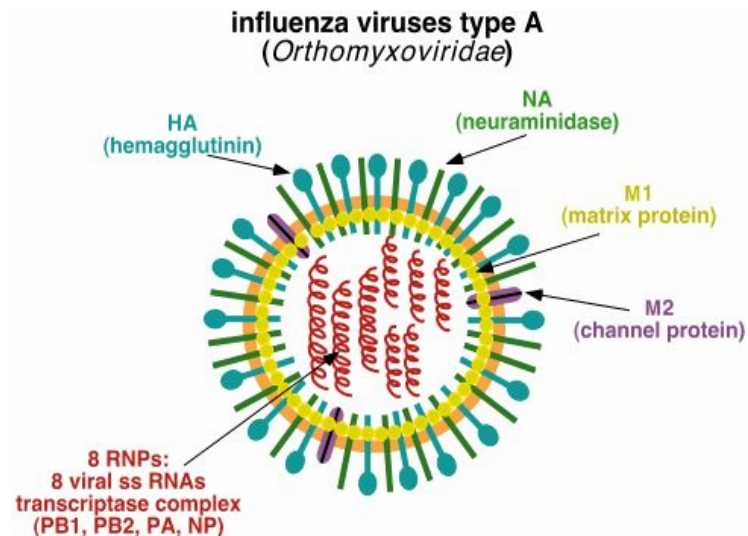
# Ортомиксовирусы: структура вириона

сердцевина (нуклеокапсид)

- ❑ РНК ( А и В – 8, С – 7)
- ❑ структурный белок (нуклеокапсид) – А, В или С
- ❑ ферменты

суперкапсид

- ❑ М-белок
- ❑ билипидный слой
- ❑ шипы (гликопротеины – gp)
  - гемагглютинин (Н) – индукция вируснейтрализующих Ig, адсорбция
  - нейраминидаза (N) – отрыв при отпочковывании



MedUniver.com

Все по медицине...

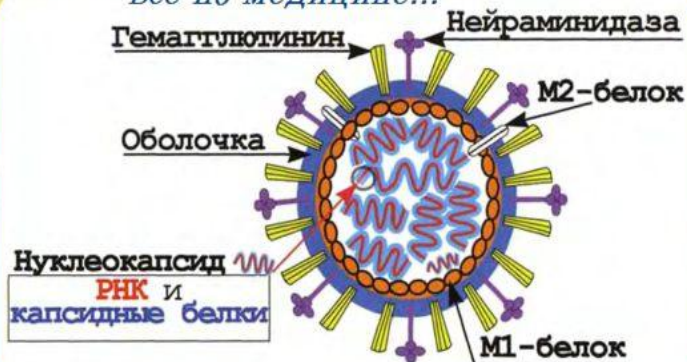


Рис. 4.4. Схема строения вируса гриппа (вирус с однонитевой из 8 фрагментов минус-РНК)

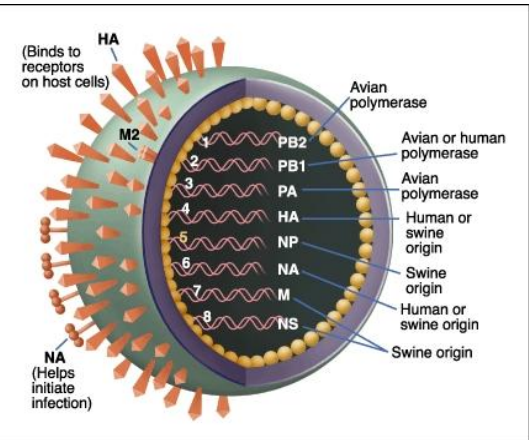
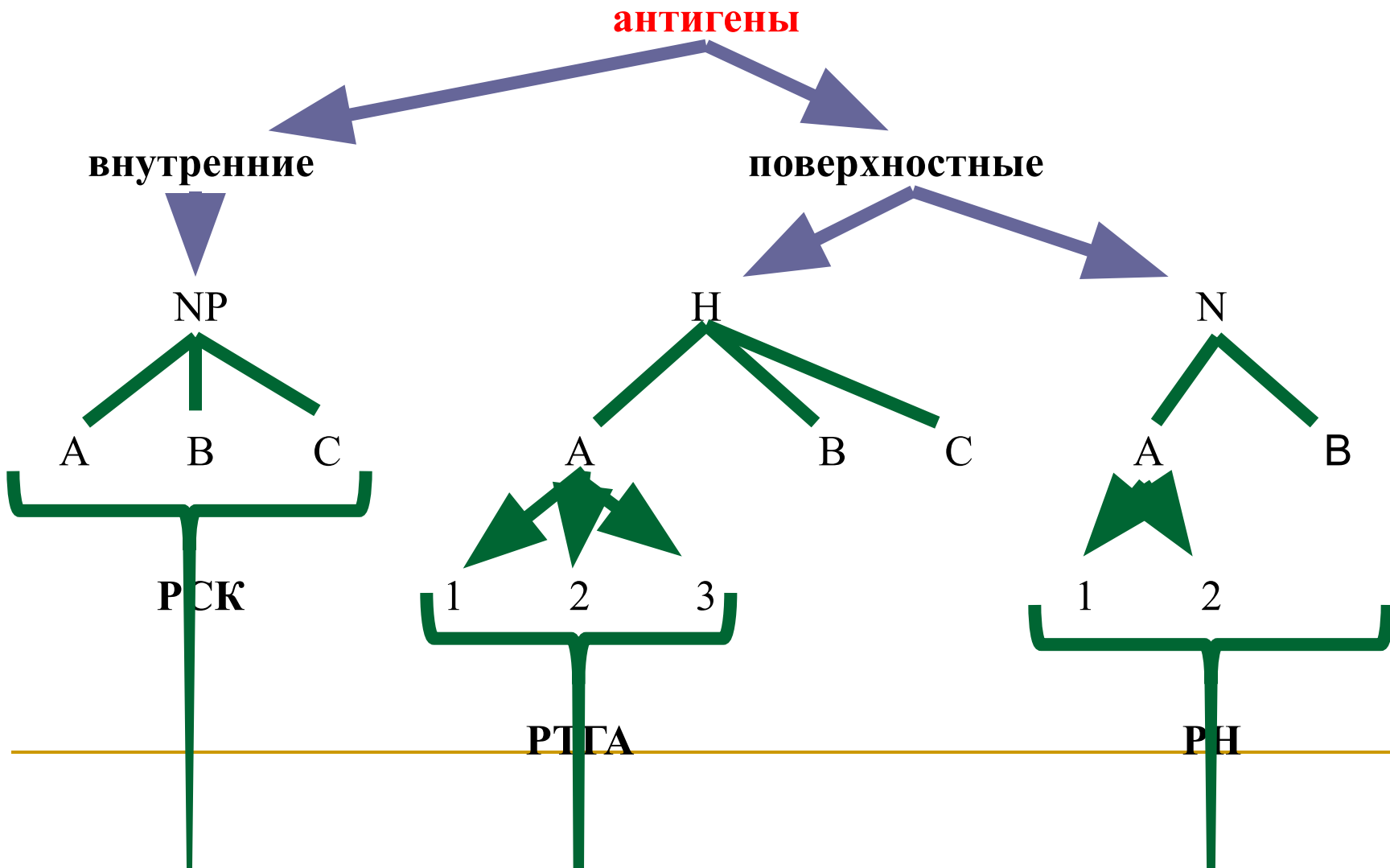


Рис. 4.58. Схема репродукции Influenzavirus тип А

# Ортомиксовирусы: антигенная структура



# Серотипы вируса гриппа А (по классификации ВОЗ 1980 г.)

| Формула | Период циркуляции | Примечание        |
|---------|-------------------|-------------------|
| H1N1    | 1918 – 1957       | до 1947 г. – H0N1 |
| H2N2    | 1957 – 1968       | Азиатский         |
| H3N2    | с 1968            | Гонконг           |
| H1N1    | с 1977            | Русский           |



# Ортомиксовирусы: антигенная изменчивость и её следствия

Антигенный

дрейф

(1 – 2 года)

шифт

(10 – 15 лет)

?

A

B

C

(и H и N)

(H)

(нет)

накопление  
дрейфа

рекомбина-  
ция двух

точечные мутации в гене

полная замена гена

накопление

изменение gr

смена подтипа gr

---

# Чувствительность к факторам внешней среды вируса гриппа А

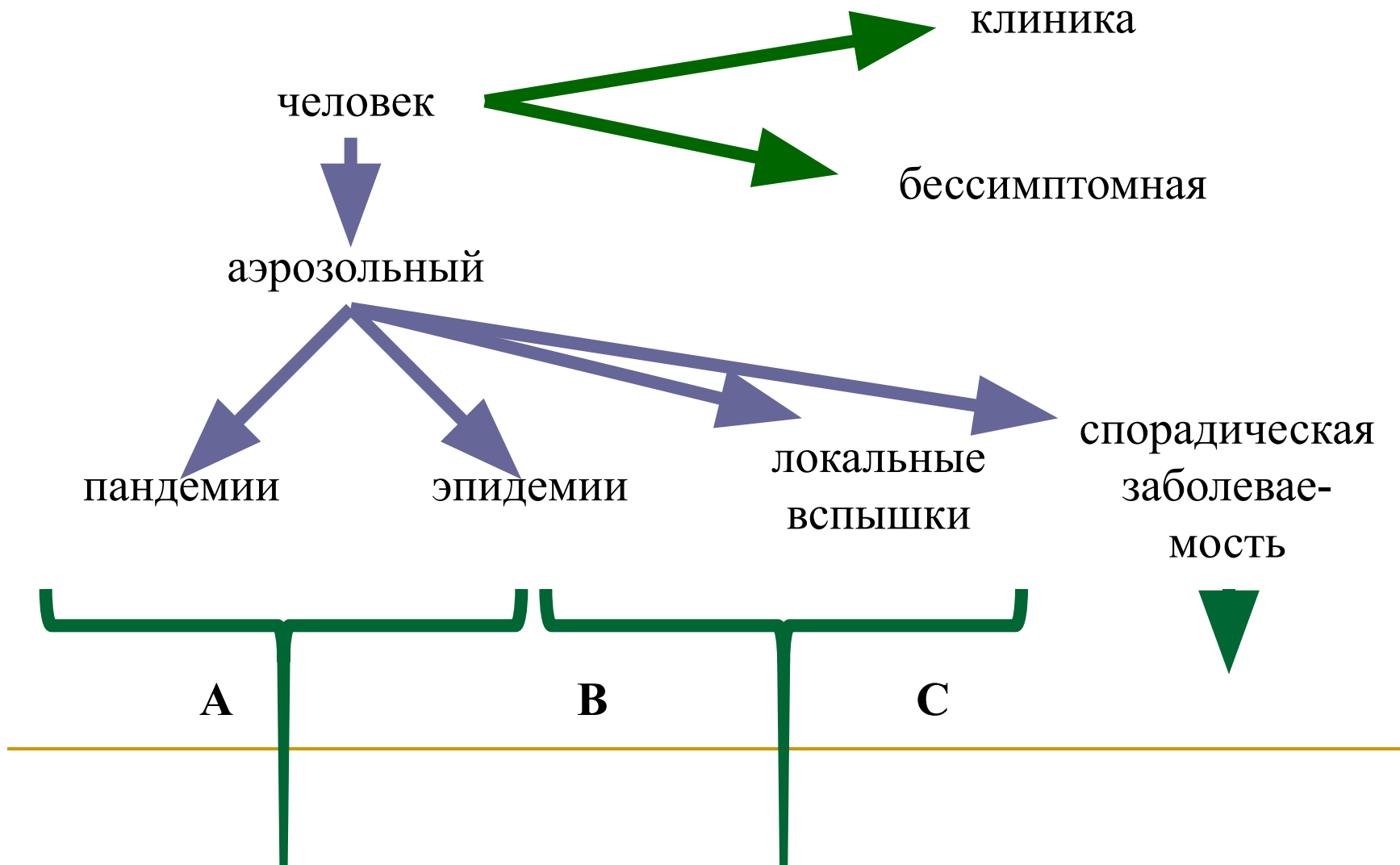
- 56°C
  - УФ-лучи
  - дезинфектанты
  - детергенты
-

---

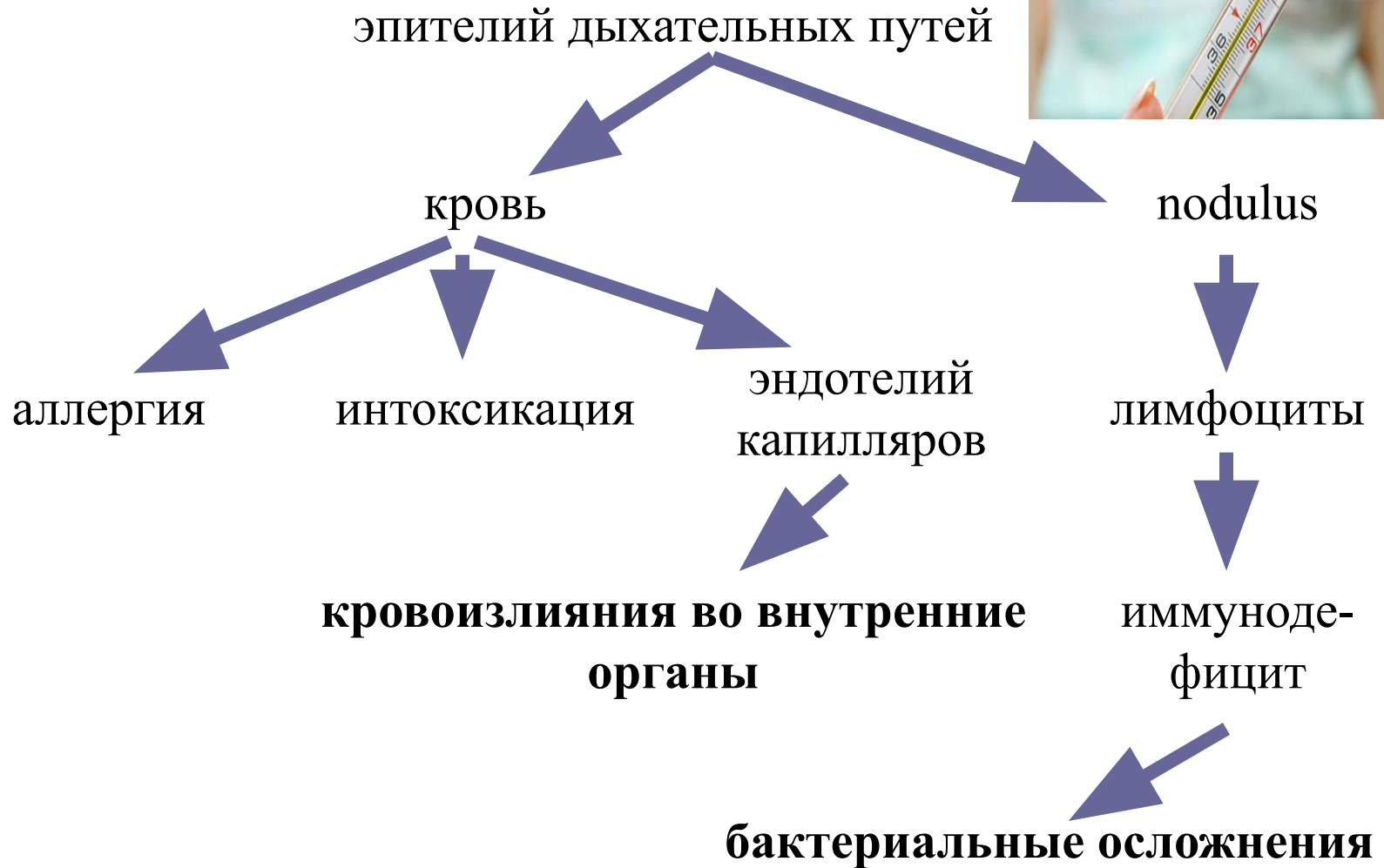
# Отличительные особенности вируса гриппа С

1. РНК имеет 7 фрагментов
  2. нет нейраминидазы (один тип шипов)
  3. шипы располагаются на поверхности вириона не беспорядочно, а со строгой гексагональной ориентацией
  4. для адсорбции на клетке используется другой тип рецепторов
-

# Грипп: эпидемиология и характер заболеваемости



# Грипп: патогенез



# Грипп: иммунитет

напряжённый и длительный, но  
узкоспецифичный

гуморальный



клеточный

■ ИФН

■ Ig

■ IgAS – местный

■ анти-Н -

нейтрализация

■ анти-N –

распространение

■ NK

■ макрофаги

■ T<sub>k</sub>

# Грипп: иммуно- и химиопрофилактика

## Иммунопрофилактика

- ВАКЦИНЫ
  - живые
  - убитые
  - химические
- ИММУНОГЛОБУЛИН
- ИФН

## Химиопрофилактика

- ремантадин
  - грипп А
  - начальная стадия

# Вирусологическая диагностика гриппа

## 1. Экспресс-диагностика

- ❑ РИФ: Ag в эпителии

## 2. Вирусологический метод (первые дни)

носоглоточный смыв



куриный эмбрион



РГА – индикация



РСК – тип

РТГА - подтип

## 3. Серологический метод

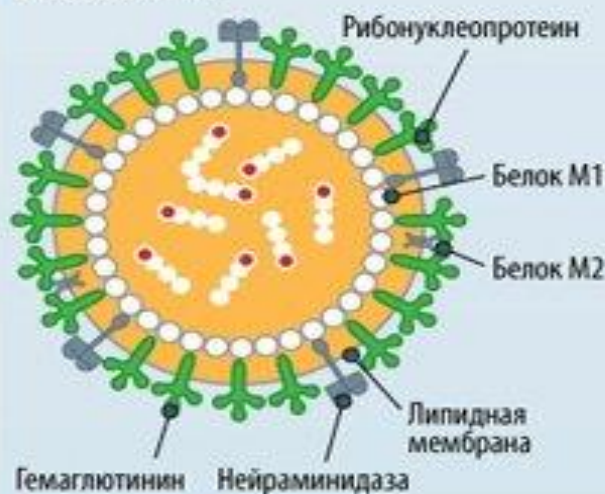
- ❑ антитела в «парных сыворотках» (ч/з 8-14 дней) – РСК, РТГА



# Вирус свиного гриппа «А» (H1N1): характеристика и симптомы

Вирус свиного гриппа, динамично изменяющийся на генетическом уровне, представляет наибольшую опасность в эпидемиологическом отношении

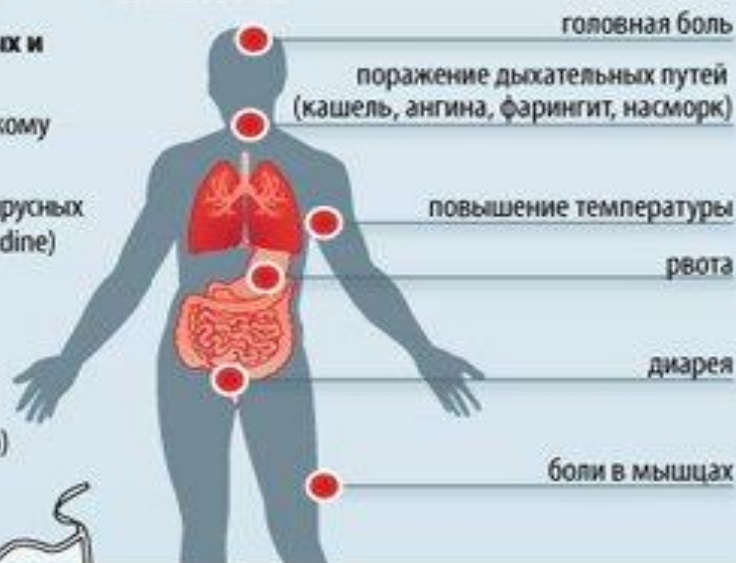
## Штамм H1N1



## Характеристика вируса:

- поражает **человека, животных и птиц**
- способен к быстрому генетическому изменению
- устойчив к действию противовирусных препаратов **амантадин (amantadine)** и **римантадин (rimantadine)**
- чувствителен к действию **озельтамивира (oseltamivir)** и **занамивира (zanamivir)**
- передается (предположительно) **от человека к человеку**

## Симптомы




## Особенности эпидемии гриппа «А»

- **быстрое развитие** внутри страны
- высокая заболеваемость населения (**40%**)
- одинаковое поражение **всех** возрастных групп
- возникают **каждый год**

Эпидемиологически значимые вирусы гриппа «А»:  
**A(H1N1), A(H2N2), A(H3N2), H5N1, H7N7, H9N7**

## Лечение и безопасность

- 
- Пациенты с подтвержденным или предполагаемым диагнозом должны:
    - размещаться в одноместных палатах с **закрытыми дверьми**
    - надевать **хирургическую маску** (ватно-марлевую повязку)
    - часто **мыть руки**
    - следовать правилам респираторной гигиены



# Вирус птичьего гриппа нацелился на человечество

## География и динамика распространения опасного заболевания



Впервые птичий грипп был выведен в Италии более 100 лет назад

Переносчики вируса – мигрирующие птицы, чаще всего – дикие утки



**Штамм H5N1 способен переходить от птиц к человеку**

Птичий грипп H5N1 может перерасти во всемирную эпидемию, если в результате мутации вирус начнет передаваться от человека к человеку

**В России**

птичий грипп зафиксирован в южных регионах – Краснодарский край, Дагестан и Кабардино-Балкарии, в Сибири – Новосибирская и Омская области, Алтай

**Случаи заражения человека**

- Первый зарегистрирован в 1997 г. в Гонконге во время вспышки гриппа у домашней птицы
- К 2005 г. в мире было зарегистрировано 112 случаев заболевания человека птичьим гриппом, из них 64 со смертельным исходом
- На сегодняшний день вирусом были инфицированы 357 человека, из них 225 скончались



**Увеличить**

Вспышки птичьего гриппа среди домашних птиц в Японии, Малайзии и Республике Корея были успешно ликвидированы

**Заболевания птичьим гриппом людей отмечены в 14 странах мира**

Азербайджан, Вьетнам, Джибути, Египет, Индонезия, Ирак, Камбоджа, Китай, Лаос, Мьянма, Нигерия, Пакистан, Таиланд, Турция

**Трагическая статистика**

(умерли от птичьего гриппа с 2003 г.)



**География птичьего гриппа**

(по официальной информации Всемирной организации здравоохранения)

| 2004 г.   | 2005 г.                                     | 2006 г.  | 2008 г.   |
|---|---|--|---|
| опасный вирус птичьего гриппа зарегистрирован только в странах Юго-Восточной Азии | появился в России, Китае и Восточной Европе | обнаружен в Австрии, Азербайджане, Болгарии, Германии, Греции, Египте, Индии, Ираке, Иране, Италии, Казахстане, Нигерии, России, Словении, Франции | успел проявиться в Израиле, Вьетнаме, Великобритании, Индии, Иране, Китае, Египте, Германии, Таиланде, Турции, Украине и Болгарии |



# ВИРУСЫ, ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ ВОЗДУШНО-КАПЕЛЬНЫМ ПУТЕМ (ОРВИ)

- **ОРВИ**

- **с. Paramyxoviridae**

- п/с Paramyxovirinae

- р. Respirovirus (ВПГЧ -1,-3)

- р. Rubulavirus (ВПГЧ -2, -4a, -4b)

- п/с Pneumovirinae

- р. Pneumovirus (RS – вирус);

- **с. Coronaviridae**

- р. Coronavirus (более 10 видов)

- **с. Reoviridae**

- р. Orthoreovirus (3 серотипа)

- **с. Picornaviridae**

- р. Rhinovirus (2 вида, 100 сероваров)

- р. Enterovirus (вирусы Коксаки и ЕСНО);

- **с. Adenoviridae**

- р. Mastadenovirus (80 видов)

- **с. Paramyxoviridae**

- п/с Paramyxovirinae

- р. Rubulavirus ( вирус паротита);

- р. Morbillivirus (вирус кори);

- **с. Togaviridae**

- р. Rubivirus (вирус краснухи)

# Проявления ОРВИ



## ОРВИ

**Верхнего отдела**  
респираторного тракта

Ринит (рино и коронавирусы),  
фарингит (корона, парамиксо,  
аденовирусы)

**Нижнего отдела**  
респираторного тракта

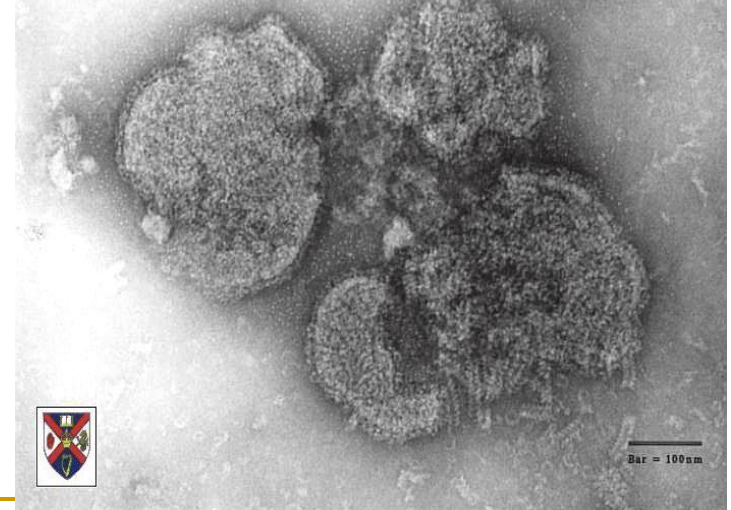
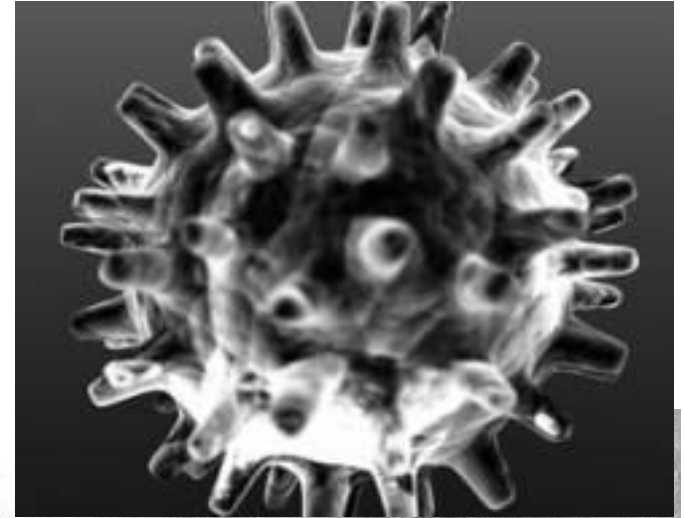
Бронхит и бронхиолит  
(РС –вирусы)  
пневмонии (гриппа,  
парагриппа)

# Семейство *Paramyxoviridae*



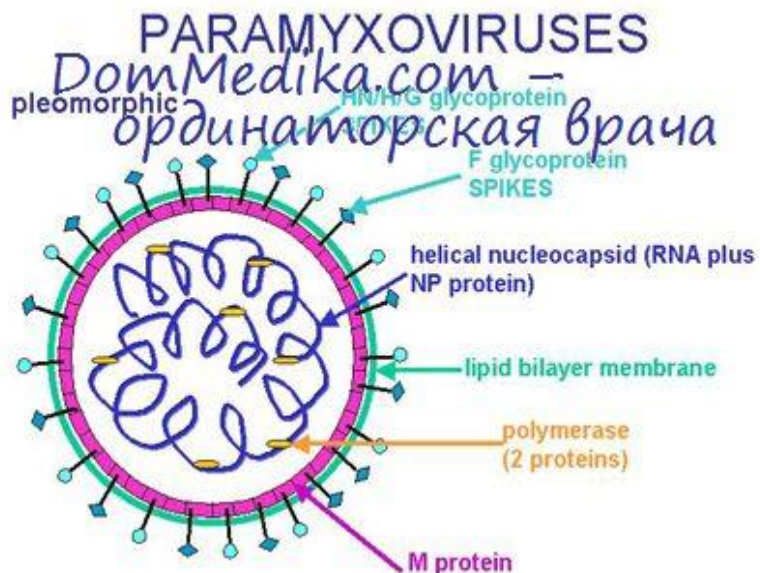
# Морфология

- Крупные оболочечные вирусы (150-300 нм)
- Спиральный тип симметрии
- Нуклеокапсид закручен в спираль
- Однонитевая несегментированная минус - РНК



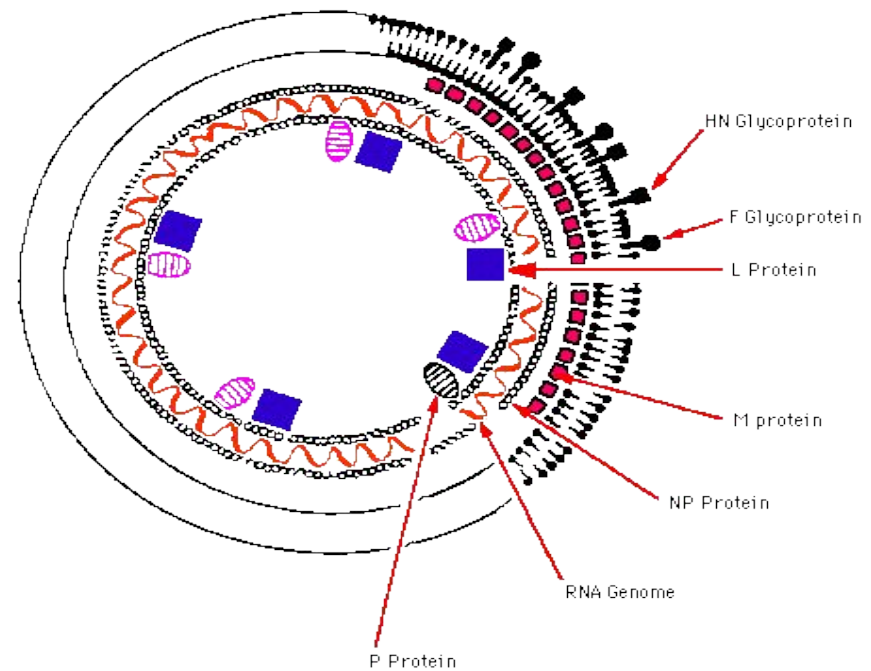
# Парамиксовирусы: характеристика

- гликопротеины (шипы суперкапсида):
  - HN – нейраминидазная и гемагглютинирующая активность
  - F – слияние мембран (симпласты, синцитий), гемолиз
- репликация целиком осуществляется в цитоплазме
- могут формировать цитоплазматические включения



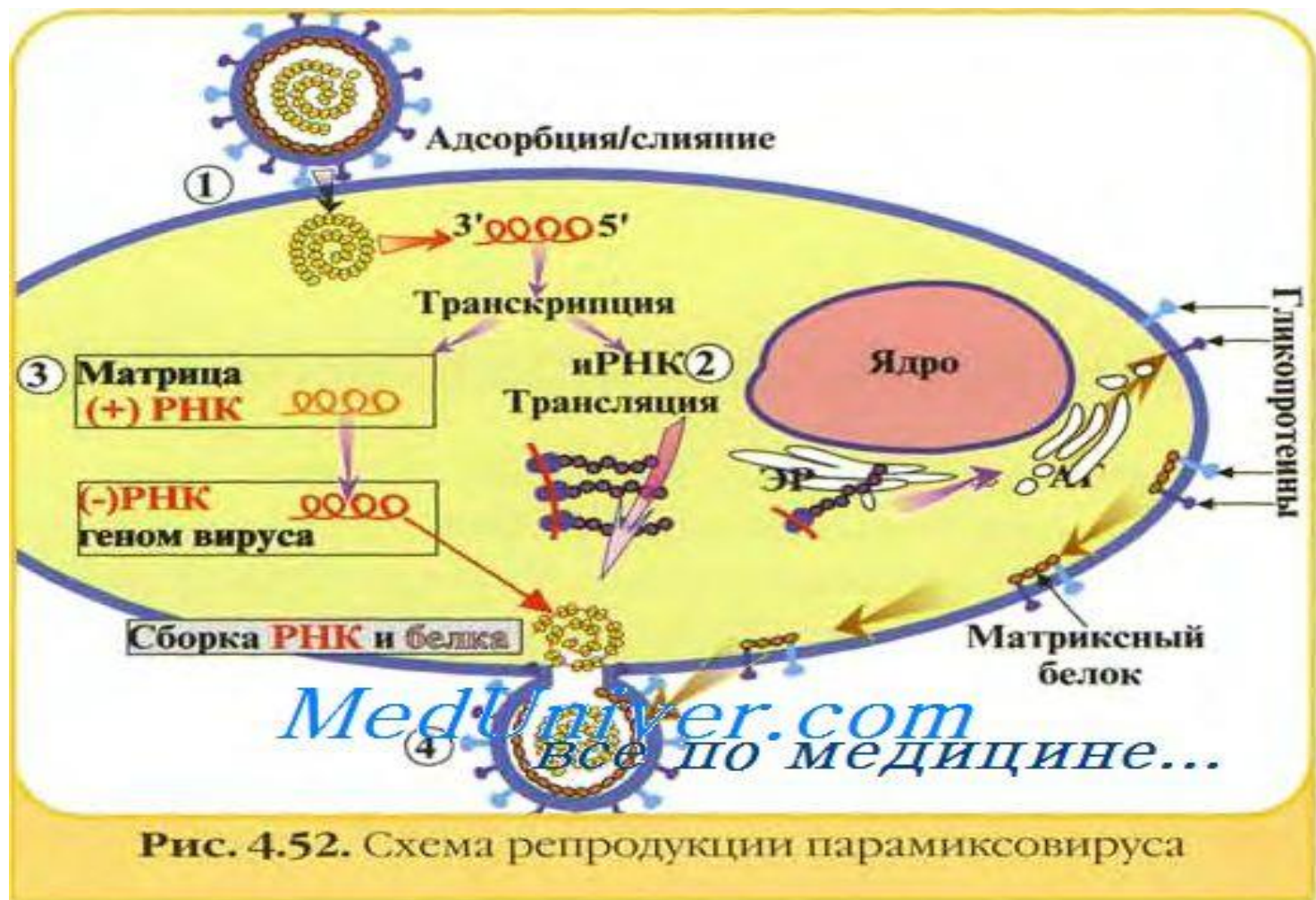
# Белки и гликопротеины

- Гемагглютинины и нейраминидаза (у ВПГЧ и вируса паротита, у РС – отсутствуют)
- Гликопротеин F (Fusion – слияние)
- М-белок
- Белки полимеразного комплекса (L, P)





# Репродукция парамиксовирусов



# Вирус парагриппа: свойства

- 5 серотипов (доминирует ВПГЧ-3)
- гемагглютинирующая активность
- ЦПД



- зависит от серотипа

# Парагрипп: патогенез

- эпителий носоглотки → ОРЗ
- кровь
- пневмонии
- (дети до года)



# Парагрипп: ИММУНИТЕТ

- типоспецифический
- непродолжительный  
(возможна реинфекция тем же серотипом)



# Парагрипп:

## вирусологическая диагностика

- 1. Экспресс-диагностика
    - Ag в клетках носовых ходов (РИФ, ИФА)
  - 2. Вирусологический метод
    - НОСОГЛОТОЧНЫЙ СМЫВ
      - ▼
    - культура клеток
      - ▼
    - РГАдс, ЦПД
      - ▼
    - РСК, РТГА, РН
  - 3. Серологический метод
    - антитела в «парных сыворотках» (РТГА, РСК, РН)
-

---

# Рнеumovirus: свойства

- характерно образования *синцития*
  - полное отсутствие:
    - гемагглютинирующей и гемадсорбирующей активности
    - нейраминидазной активности
  - поверхностные гликопротеины:
    - G – адсорбция
    - F – слияние мембран (проникновение) и образование синцития
  - 2 серотипа (РН)
-

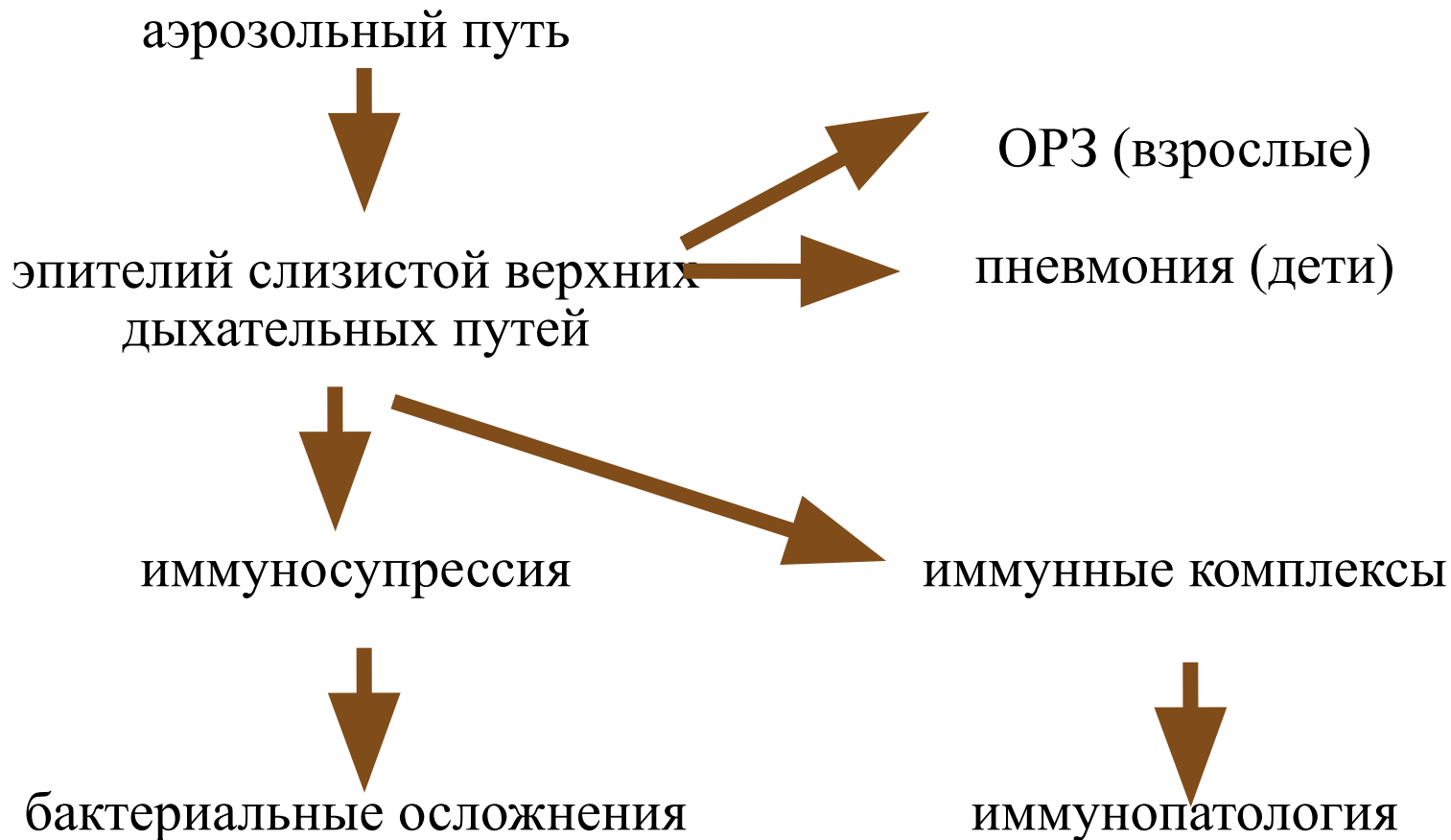
---

# Респираторно-синцитиальный вирус:

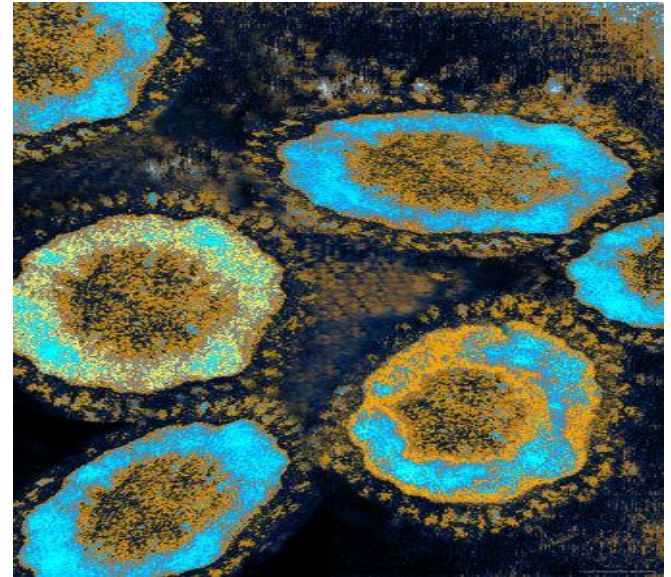
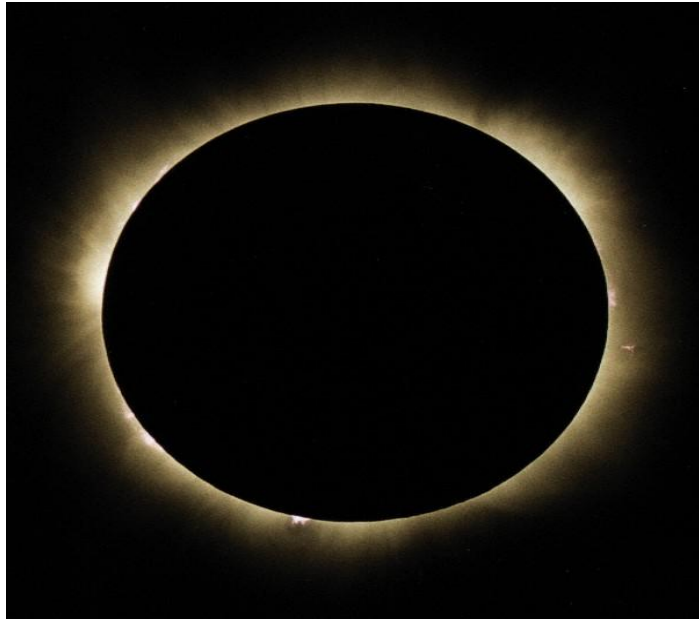
## эпидемиология

- Вызывает патологию нижних отделов респираторного тракта у детей до 3 лет.
  - Максимум тяжелых заболеваний приходится на возраст 6 нед – 6 мес (бронхиолиты, пневмонии)
  - При повторных заражениях теряет свою агрессивность
  - Основной путь – контактный, аэрогенный
-

# Патогенез RSV-инфекции (респираторно-синцитиальной вирусной инфекции)

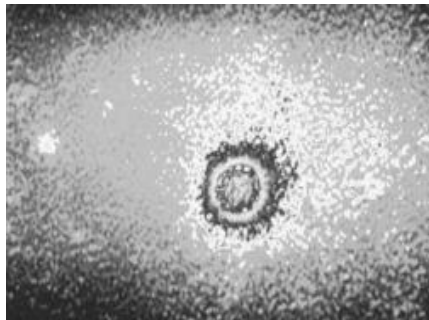






# Семейство *Coronaviridae*

# КОРОНАВИРУСЫ: классификация

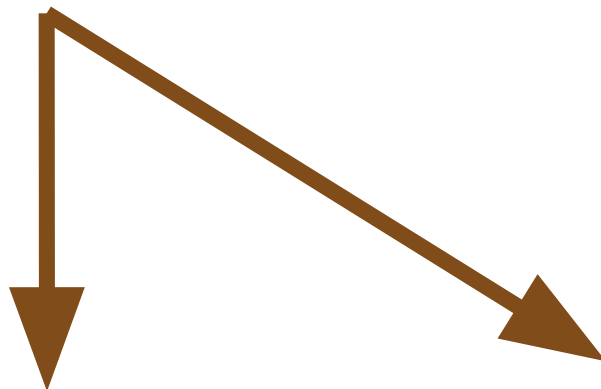


Coronaviridae

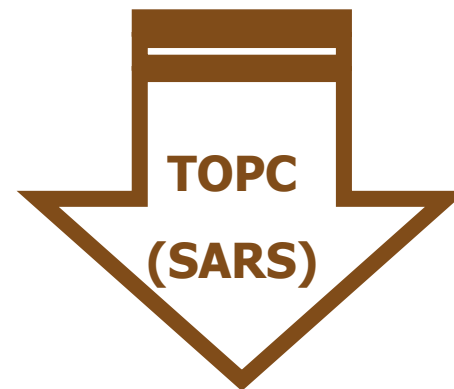


человека

ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ



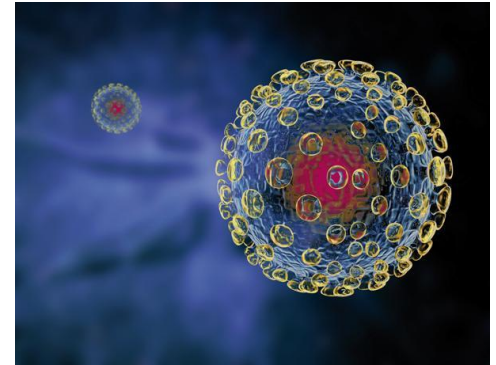
энтеральные



ТОРС  
(SARS)

респираторные  
(ВЫСОКОКОНТАГИОЗНЫЕ)

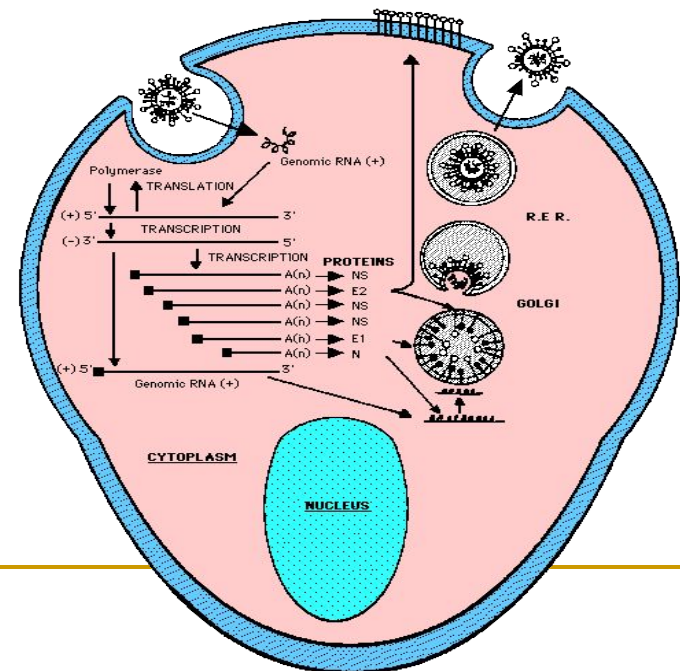
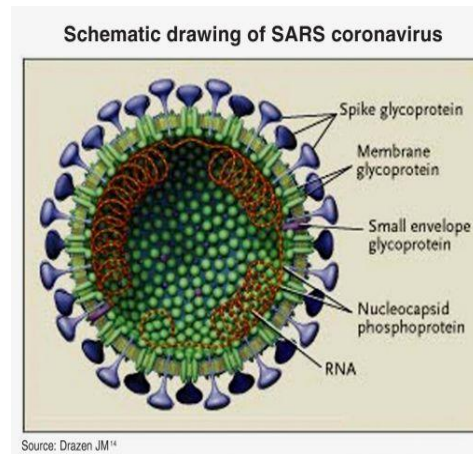
# ЭТИМОЛОГИЯ



- **ТОРС** – тяжелый острый респираторный синдром
- (**SARS** – *Severe Acute Respiratory Syndrome*)

# Коронавирусы: свойства

- Сложноорганизованные размером 100-150 нм
- Спиральный тип симметрии
- Гликопротеины E2 – пепломер и E1 – трансмембранный
- Однонитевая несегментированная плюс РНК
- 4 серогруппы (РН) – нет перекрёстного иммунитета
- Практически не культивируются



# Коронавирусы:

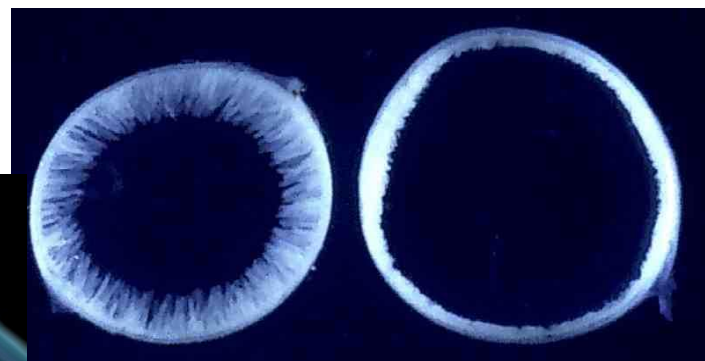
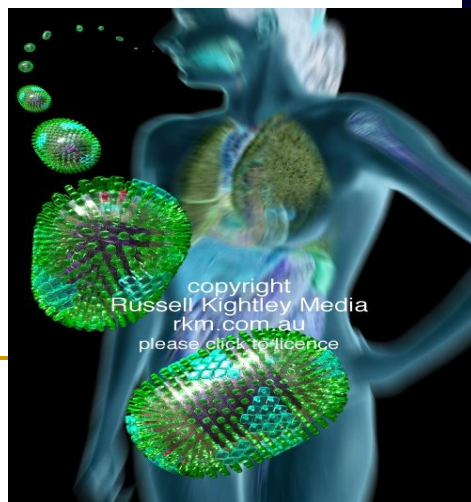
## роль в патологии человека

### • Респираторные

- б/симптомное
- ОРЗ
- бронхиты
- пневмонии (дети до 2-х лет)
- ТОРС (SARS)

### • Энтеральные

- гастроэнтериты (дети)

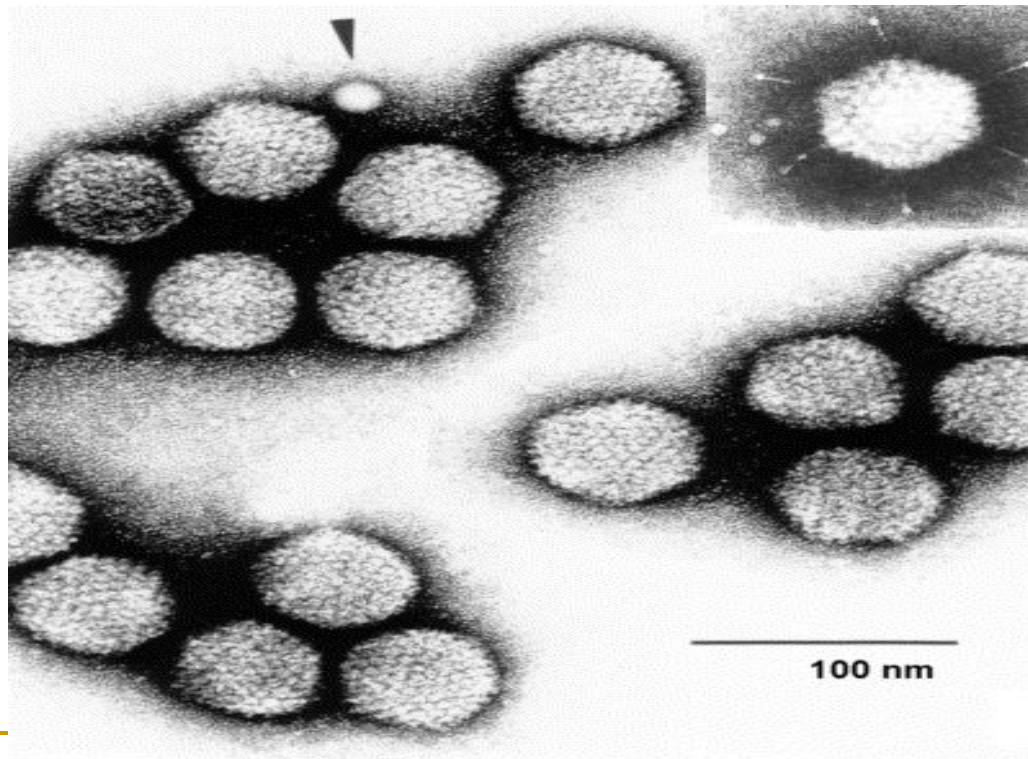


---

# Диагностика ОРВИ, вызванных коронавирусами

- **Экспресс-диагностика:** (РИФ для обнаружения АГ в клетках эпителия ВДП)
  - **Серологический** (РСК, РТГА, РН с целью серодиагностики)
  - **Молекулярно-генетический** (ПЦР) для определения наличия вирусной РНК
-

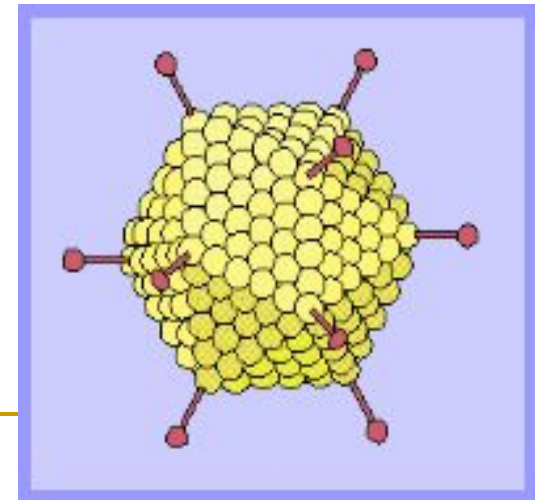
# Семейство Adenoviridae



# Аденовирусы: состав семейства

## Adenoviridae

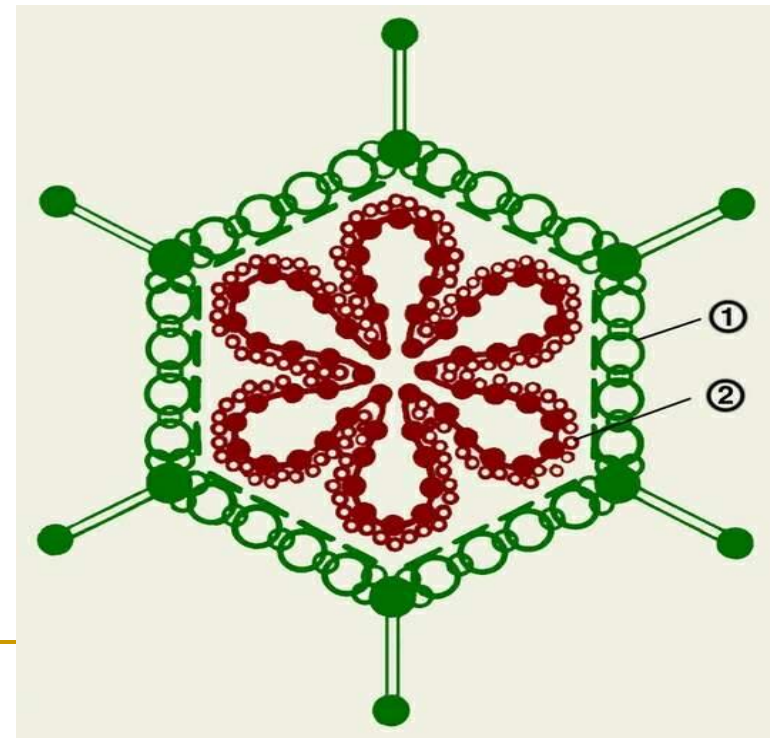
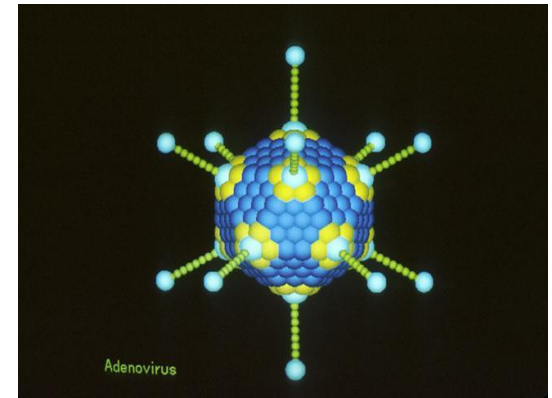
- Aviadenovirus – вирусы птиц
- Mastadenovirus – вирусы млекопитающих
  - серотипы (РТГА)





# Аденовирусы: общая характеристика

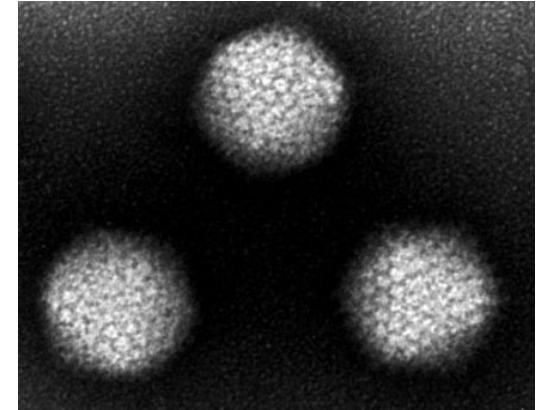
- Простые ДНК-овые вирионы
- 252 капсомера
- от 12 вершин икосаэдра – фибры (нити)
- антигены:
  - группоспецифический (нуклеокапсид) – РСК
  - типоспецифические (нити=гемагглютинины) – РТГА, РН



# Аденовирусные инфекции: патогенез

первичная репродукция

- эпителиоциты слизистой
  - дыхательных путей
  - кишечника
- конъюнктивы
- лимфоидная ткань
  - миндалин
  - мезентеральных лимфоузлов



кровь



эндотелий сосудов



экссудативное воспаление слизистых оболочек



фибринозные плёнки, некроз

## Аденовирусные инфекции: клинические формы

- ОРЗ
- фарингоконъюнктивальная лихорадка
- пневмонии (дети, пожилые)
- (керато-)конъюнктивиты
- гастроэнтериты
- редкие аденовирусные поражения
  - менингоэнцефалиты
  - геморрагические циститы



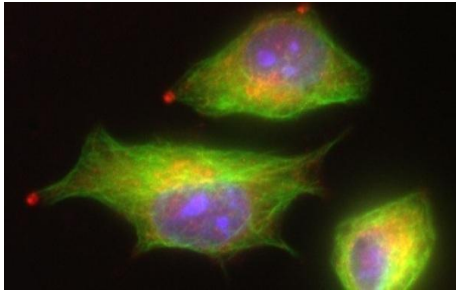
---

## Аденовирусные инфекции: следствия трансплацентарного инфицирования

- внутриутробные заболевания
  - аномалии развития плода
  - смертельные пневмонии новорождённых
-

# Аденовирусные инфекции: вирусологическая диагностика

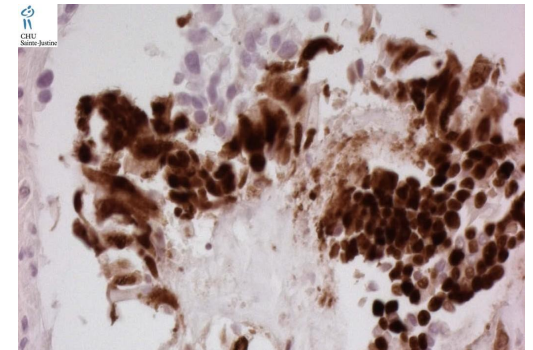
1. Обнаружение Ag в респираторном эпителии (РИФ).
2. Выделение вируса  
отделяемое носа, зева, конъюнктивы, faeces



▼  
культура клеток

▼  
РСК

▼  
РН, РТГА



3. Выявление нарастания титра антител (РСК, РТГА, РН)

# Спасибо за

# ВН

