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° С в сухом льду или помещают в жидкий азот при -180° С;
- 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

<u>Малоспецифические</u>

- **♦ 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.

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

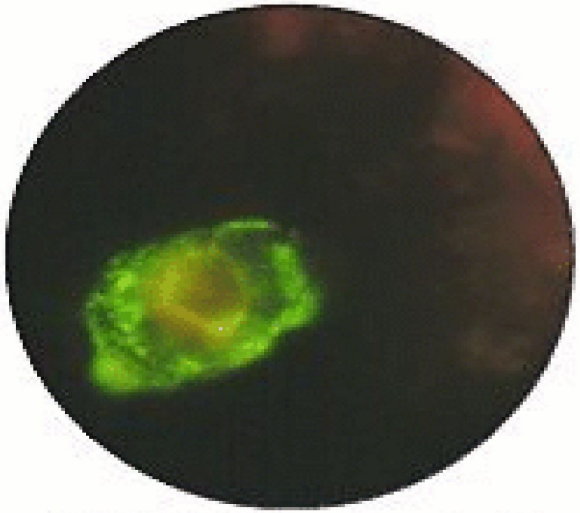


Fig. 3, HSV-infected epithelial cell from skin lesion (DFA)

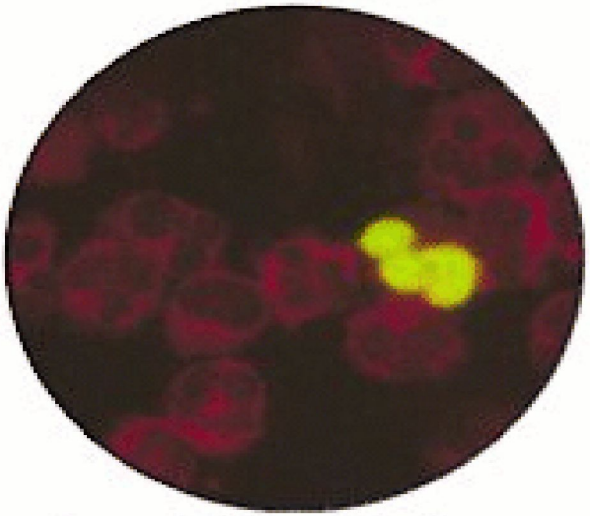
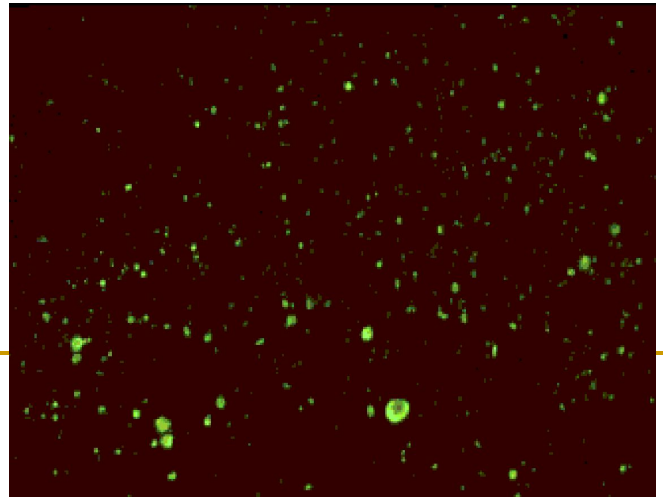


Figure 4 CMV pp65 antigens detected in nuclei of peripheral blood neutrophils



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

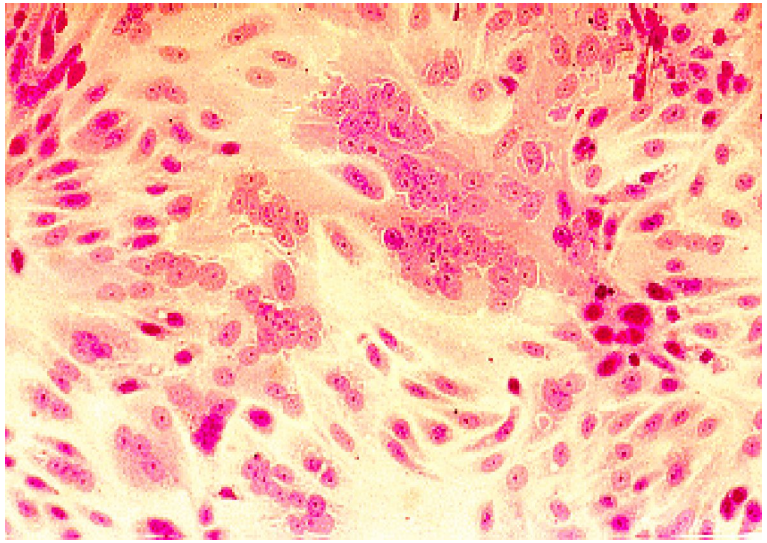
Использование для вирусологического метода культур клеток

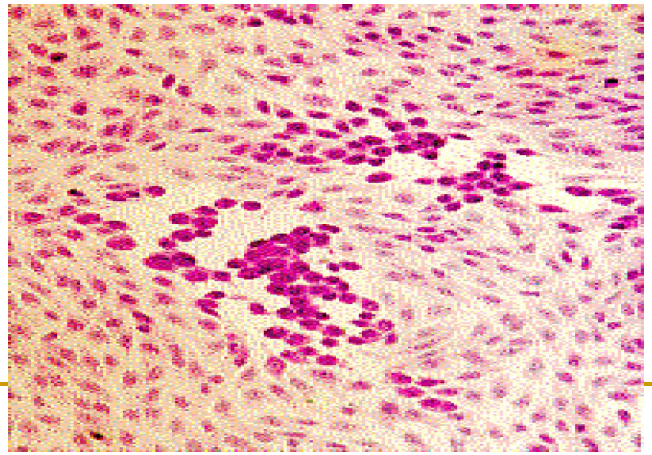
Чаще – перевиваемые монослойные

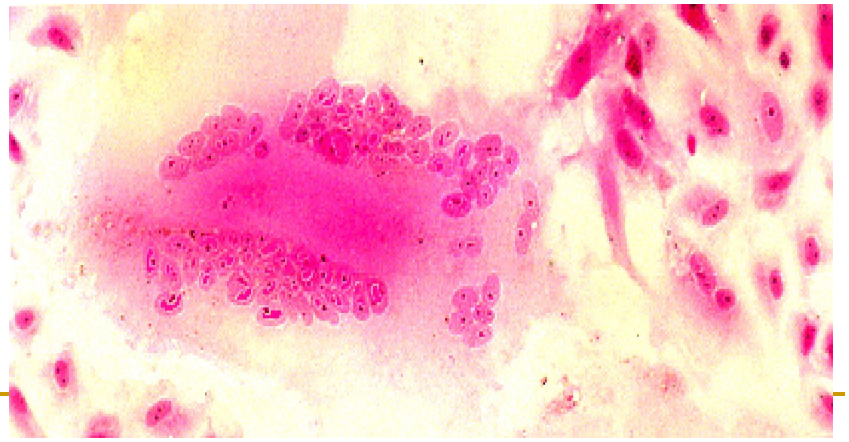
- индикация:
  - ЦПД (цитопатическое действие вирусов – любое изменение клеток монослоя, включая бляшкообразование и цветную пробу)
  - гемадсорбирующая активность монослоя (РГАдс)
  - РИФ (= идентификация)
- идентификация:
  - РН (в т.ч. РТГАдс)
  - РСК
  - РИФ

ЦПД вирусов

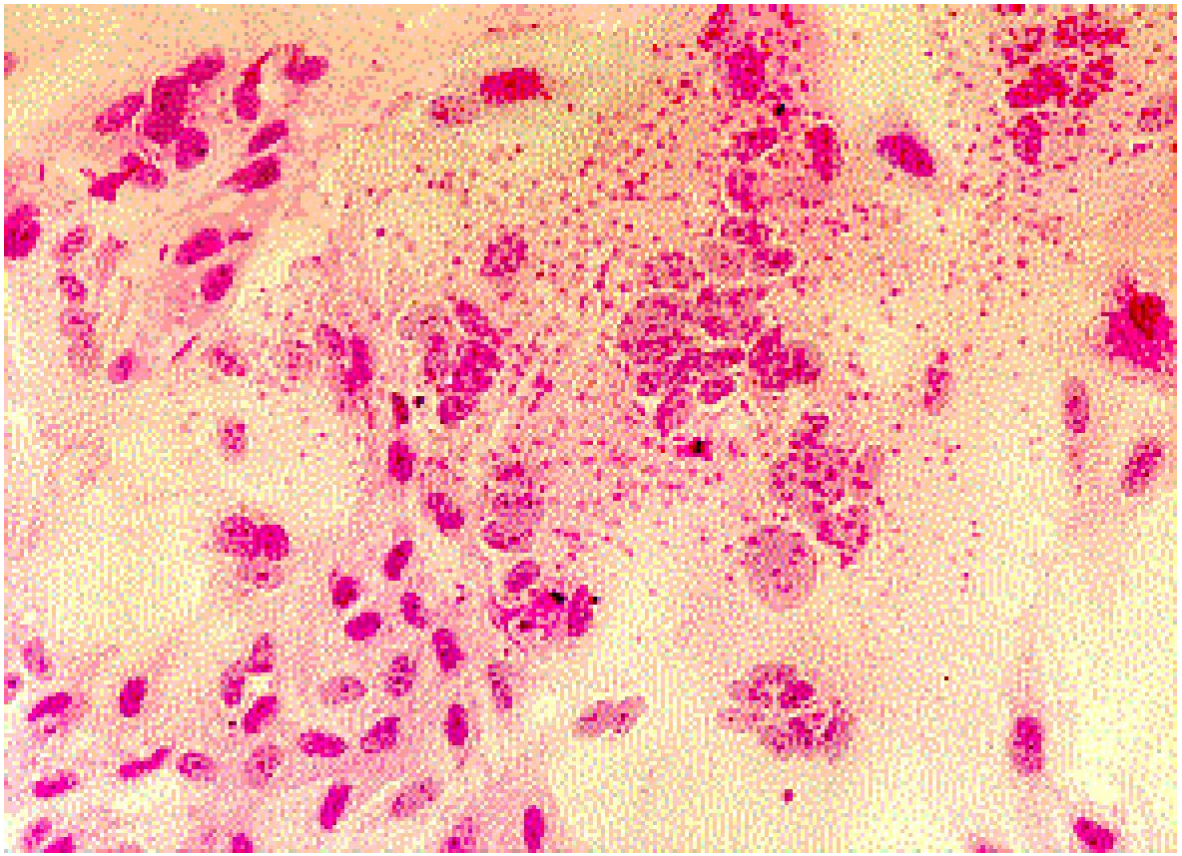
Fig. 1. Cytopathic effects of enterovirus 71 in rhesus monkey kidney cells







РГАдс



ВИРУСЫ ГРИППА

Ортомиксовирусы –
греч. *orthos* – правильный,
myxa - 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

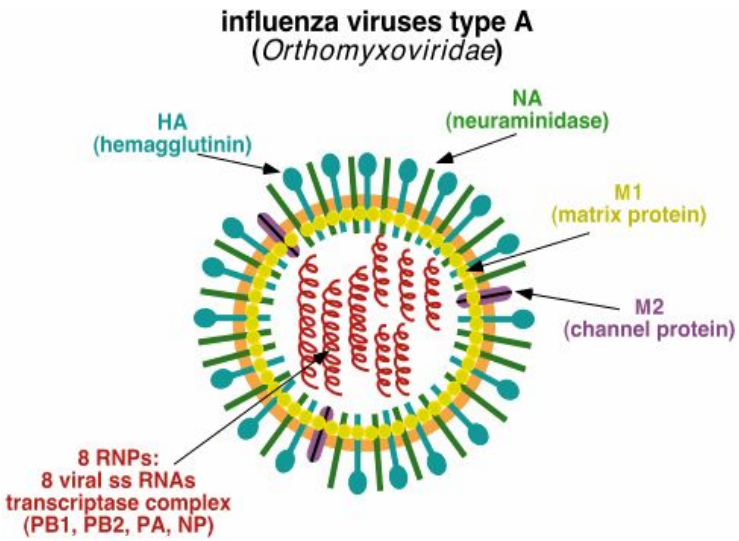
Ортомиксовирусы: структура вириона

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 вируснейтрализирующих Ig, адсорбция
  - нейраминидаза (N) – отрыв при отпочковывании



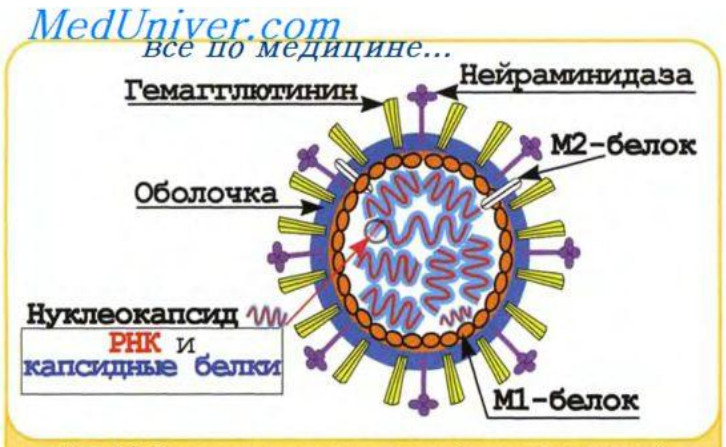
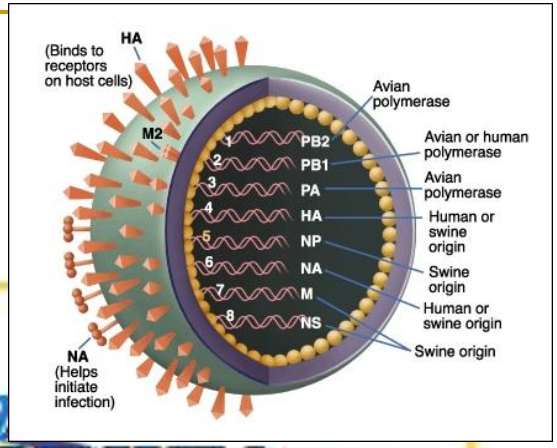


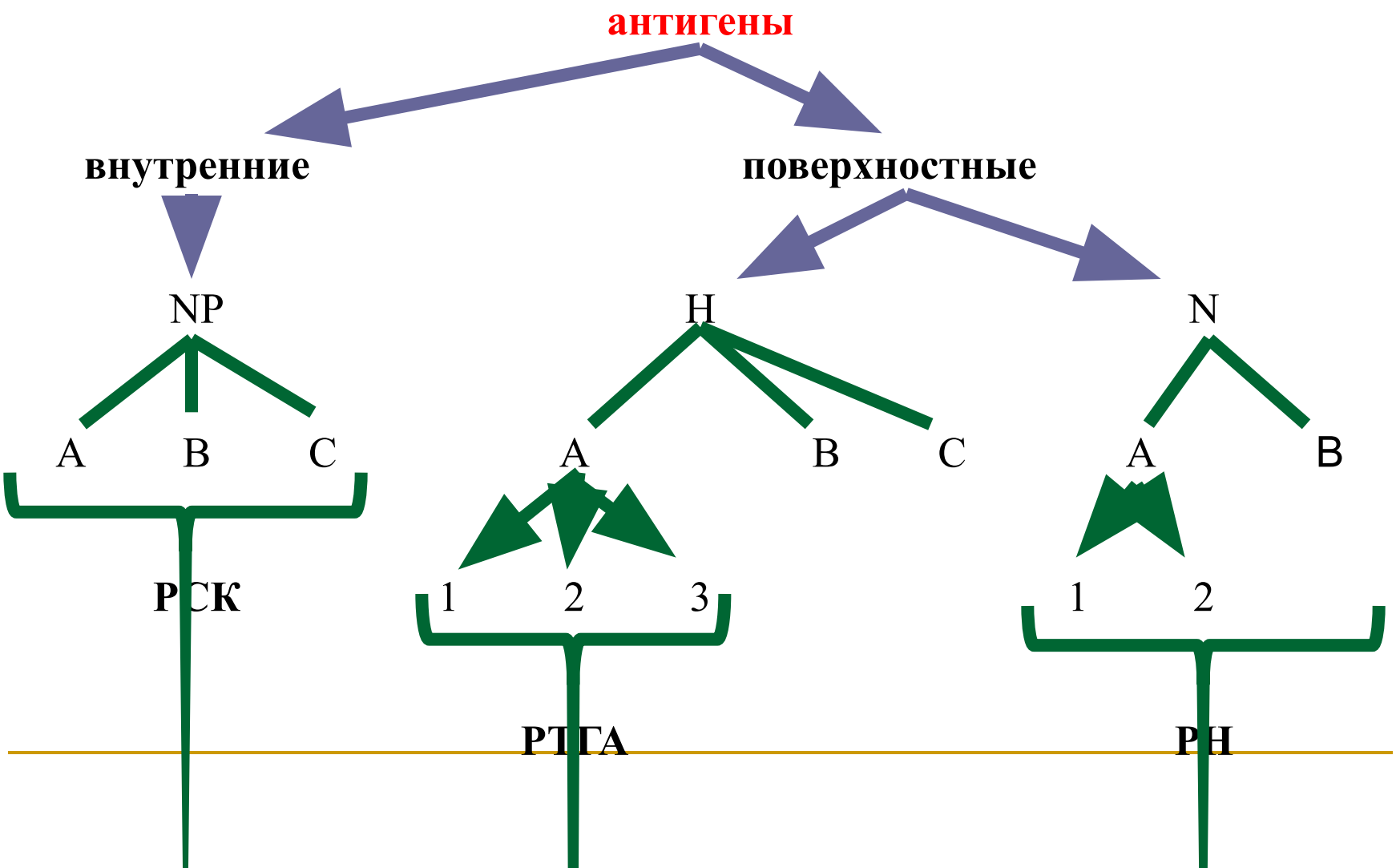
Рис. 4.4. Схема строения вируса гриппа (вирус с однонитевой из 8 фрагментов минус-РНК)



MedUniver.com
все по медицине...

Рис. 4.58. Схема репродукции Influenzavirus тип А

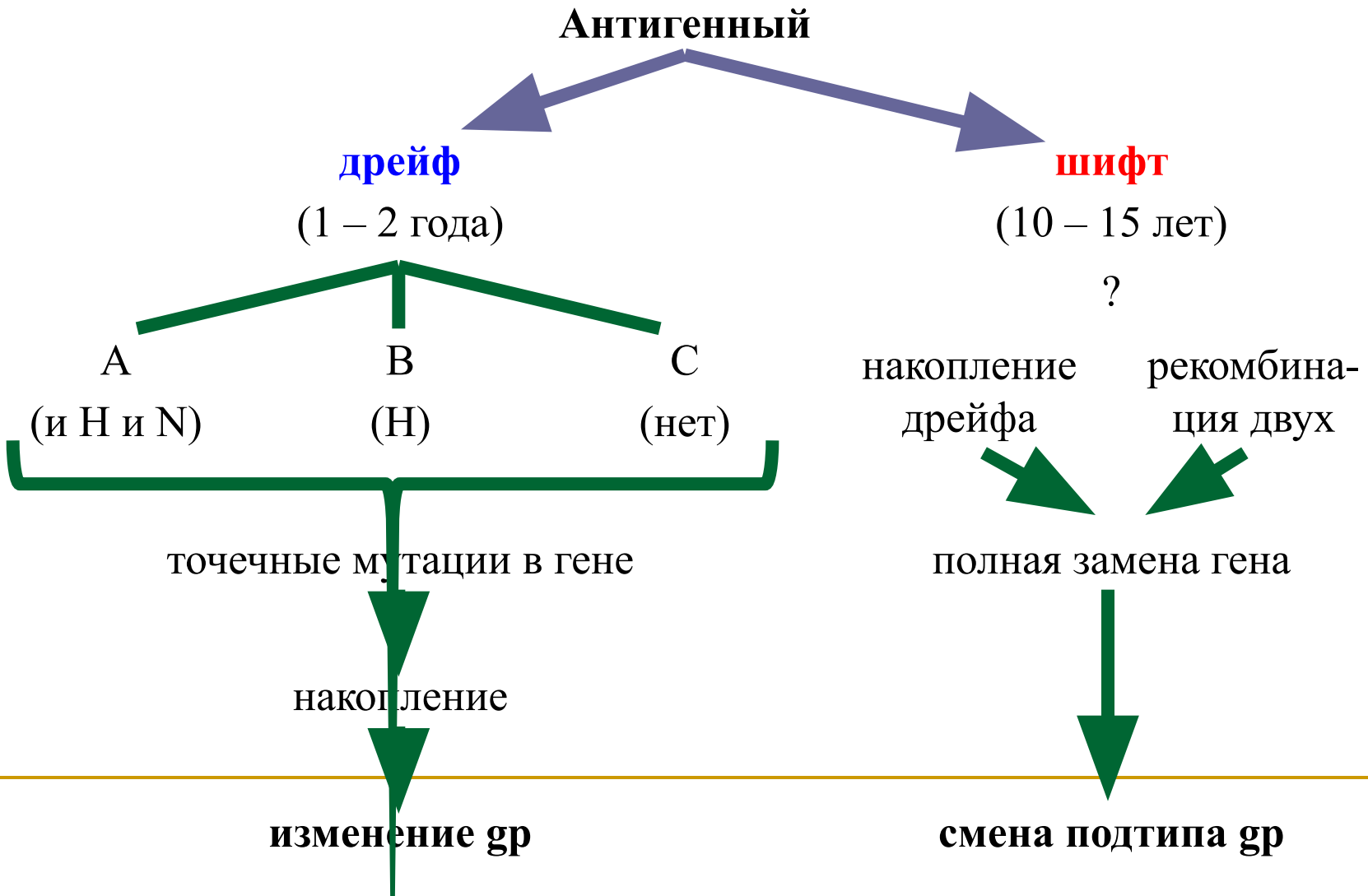
Ортомиксовирусы: антигенная структура



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



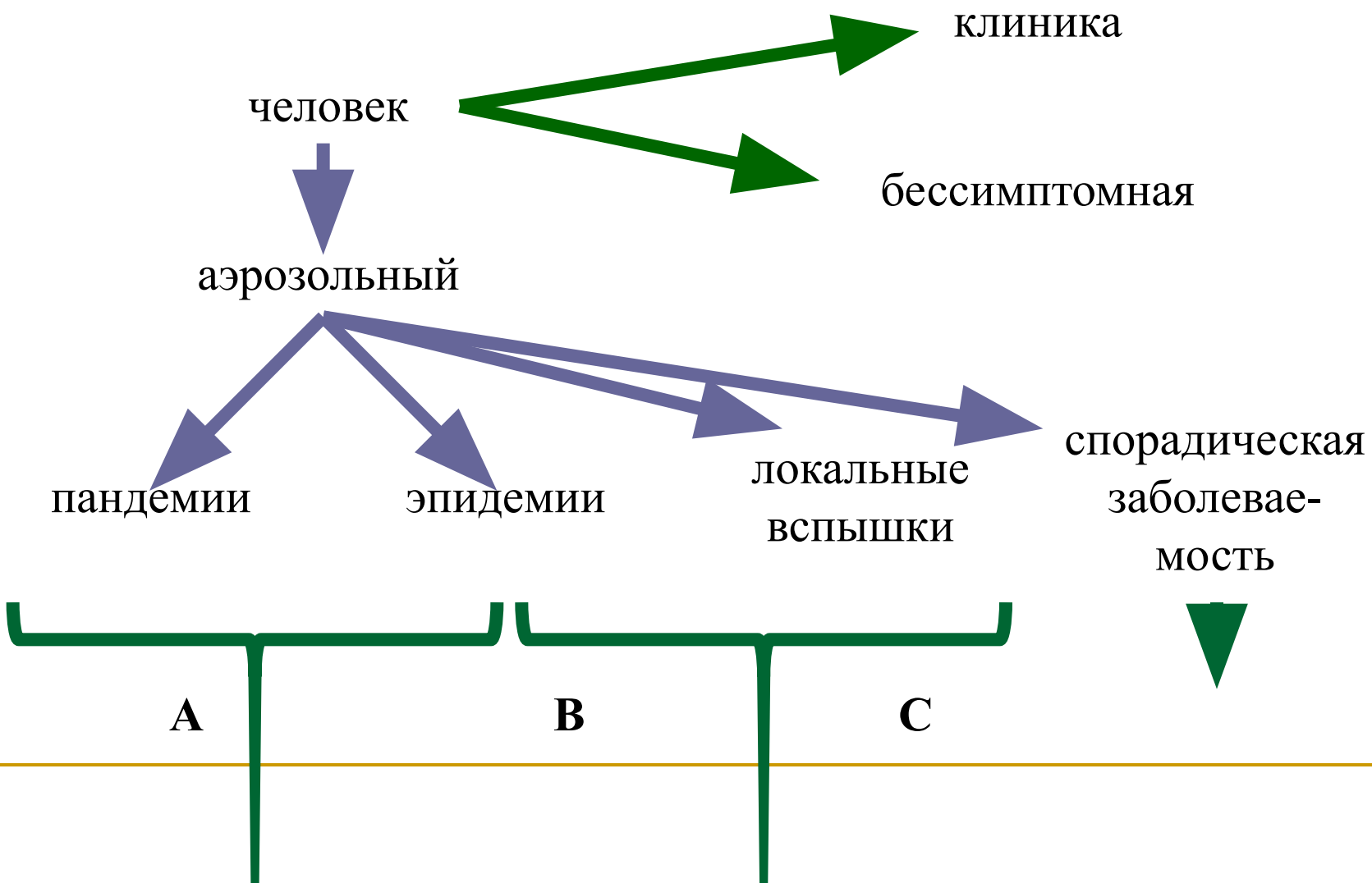
Чувствительность к факторам внешней среды вируса гриппа А

- 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

эпителий дыхательных путей

кровь

nodulus

аллергия

интоксикация

эндотелий капилляров

лимфоциты

кровоизлияния во внутренние органы

иммунодефицит

бактериальные осложнения

Грипп: иммунитет

напряжённый и длительный, **но**

узкоспецифичный

гуморальный

- ИФН
- Ig
- IgAS – местный
- анти-H - нейтрализация
- анти-N – распространение

клеточный

- NK
- макрофаги
- T_k

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

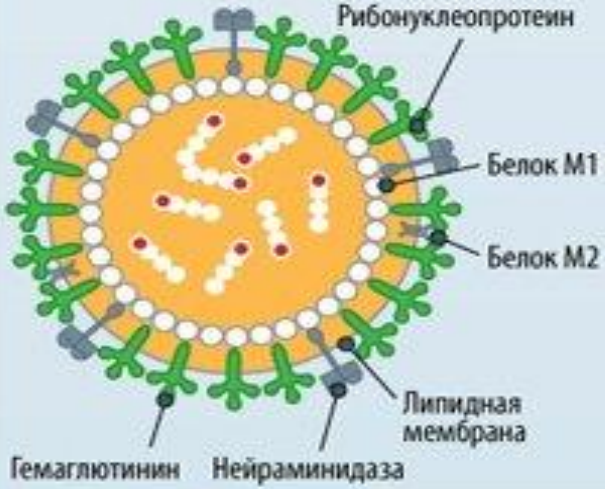
РТГА - подтип

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

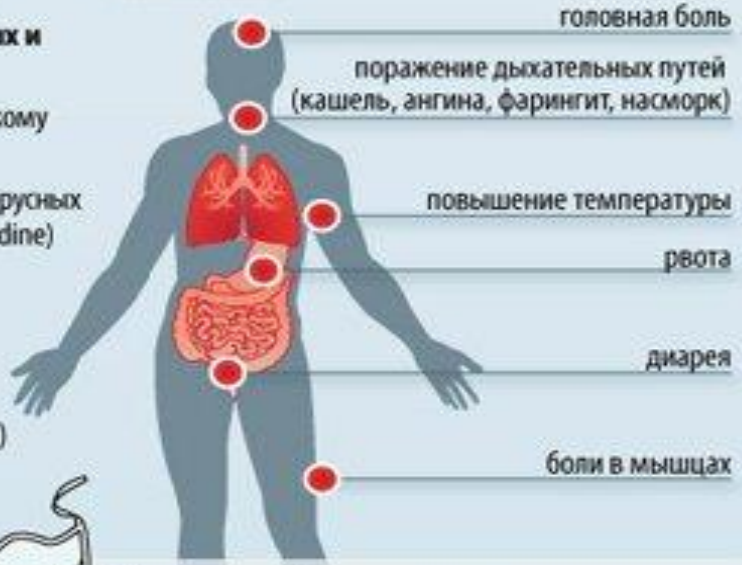
Штамм H1N1



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

«РИА Новости» © 2009
Любое использование этой публикации возможно только с письменного согласия «РИА Новости»
По вопросу использования обращаться по телефону +7 (495) 645-6601 (# 7251) или e-mail: infographica@rian.ru

Вирус птичьего гриппа нацелился на человечество

География и динамика распространения опасного заболевания

Впервые птичий грипп был выявлен 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-Балкария, в Сибири – Новосибирская и Омская области, Алтай

Увеличить

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 птичим гриппом, из них **64** со смертельным исходом
- На сегодняшний день вирусом были инфицированы **357** человека, из них **225** скончались

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. опасный вирус птичьего гриппа зарегистрирован только в странах Юго-Восточной Азии

2005 г. появился в России, Китае и Восточной Европе

2006 г. обнаружен в Австрии, Азербайджане, Болгарии, Германии, Греции, Египте, Индии, Ираке, Иране, Италии, Казахстане, Нигерии, России, Словении, Франции

2008 г. успел проявиться в Израиле, Вьетнаме, Великобритании, Индии, Иране, Китае, Египте, Германии, Таиланде, Турции, Украине и Болгарии

ФГУП РАМИ «РИА Новости» © 2008
Любое использование этой публикации возможно только с письменного согласия ФГУП РАМИ «РИА Новости»
По вопросу использования обращаться по телефону +7 (495) 645-6601 (# 7251) или e-mail: infographica@rian.ru

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 сротипа)**
- **с. Picornaviridae**
- **р. Rhinovirus (2 вида, 100 сероваров)**
- **р. Enterovirus (вирусы Коксаки и ECHO);**
- **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)

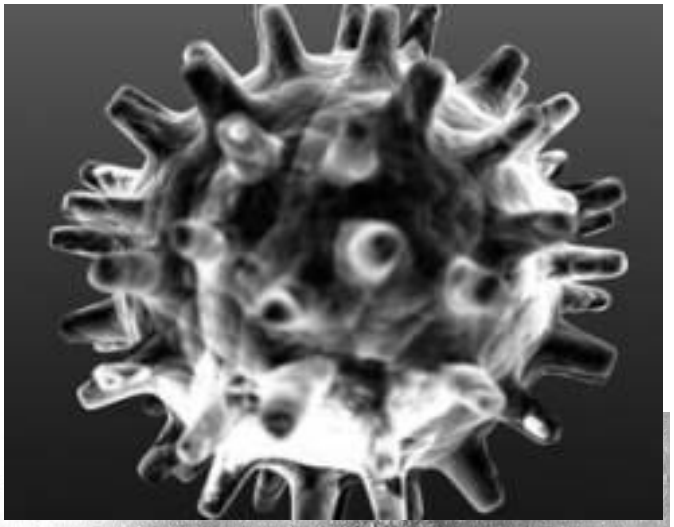
Нижнего отдела
респираторного тракта

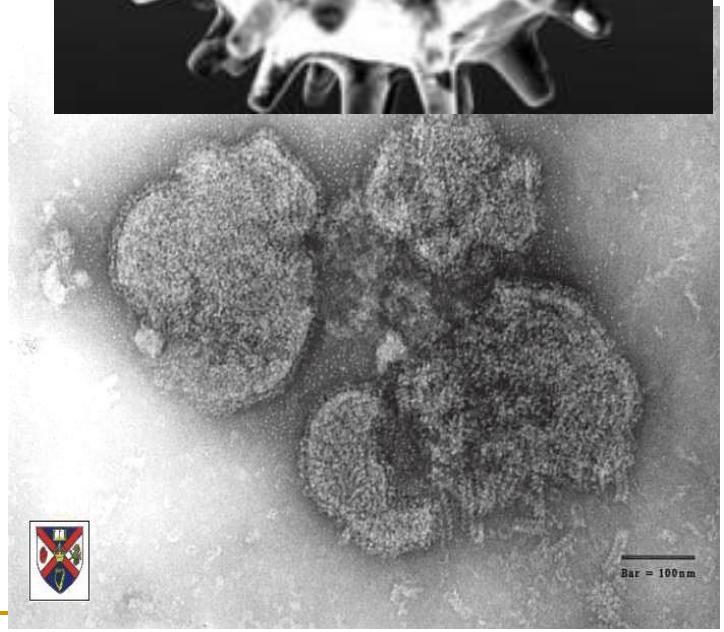
Бронхит и бронхиолит
(РС –вирусы)
пневмонии (гриппа,
парагриппа)

Семейство **Paramyxoviridae**

Морфология

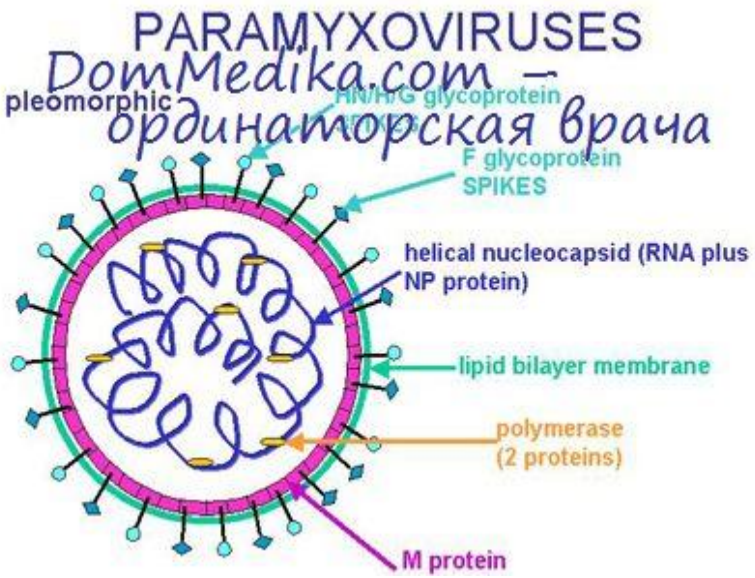
- Крупные оболочечные вирусы (150-300 нм)
- Спиральный тип симметрии
- Нуклеокапсид закручен в спираль
- Однонитевая несегментированная минус - РНК





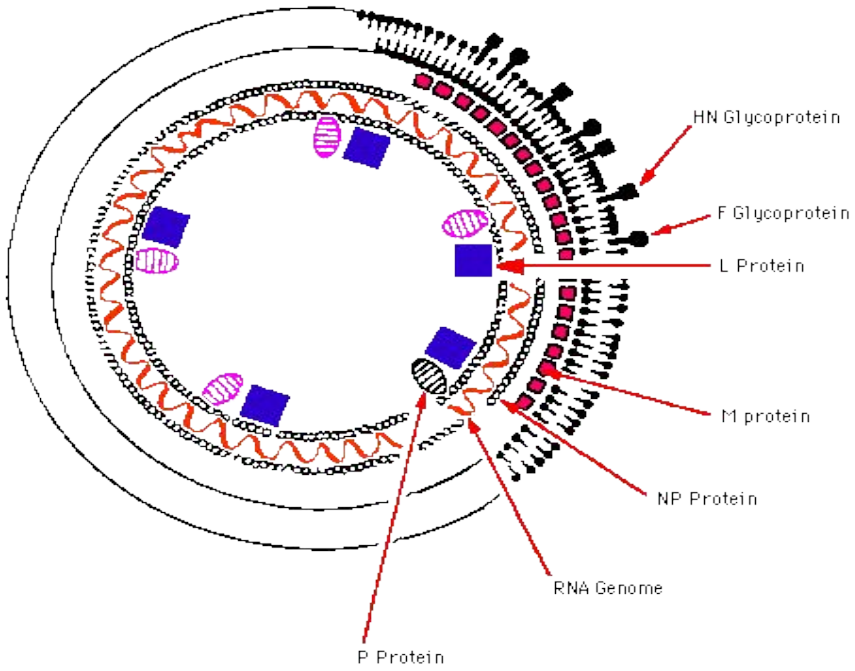
Парамиксовирусы: характеристика

- 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

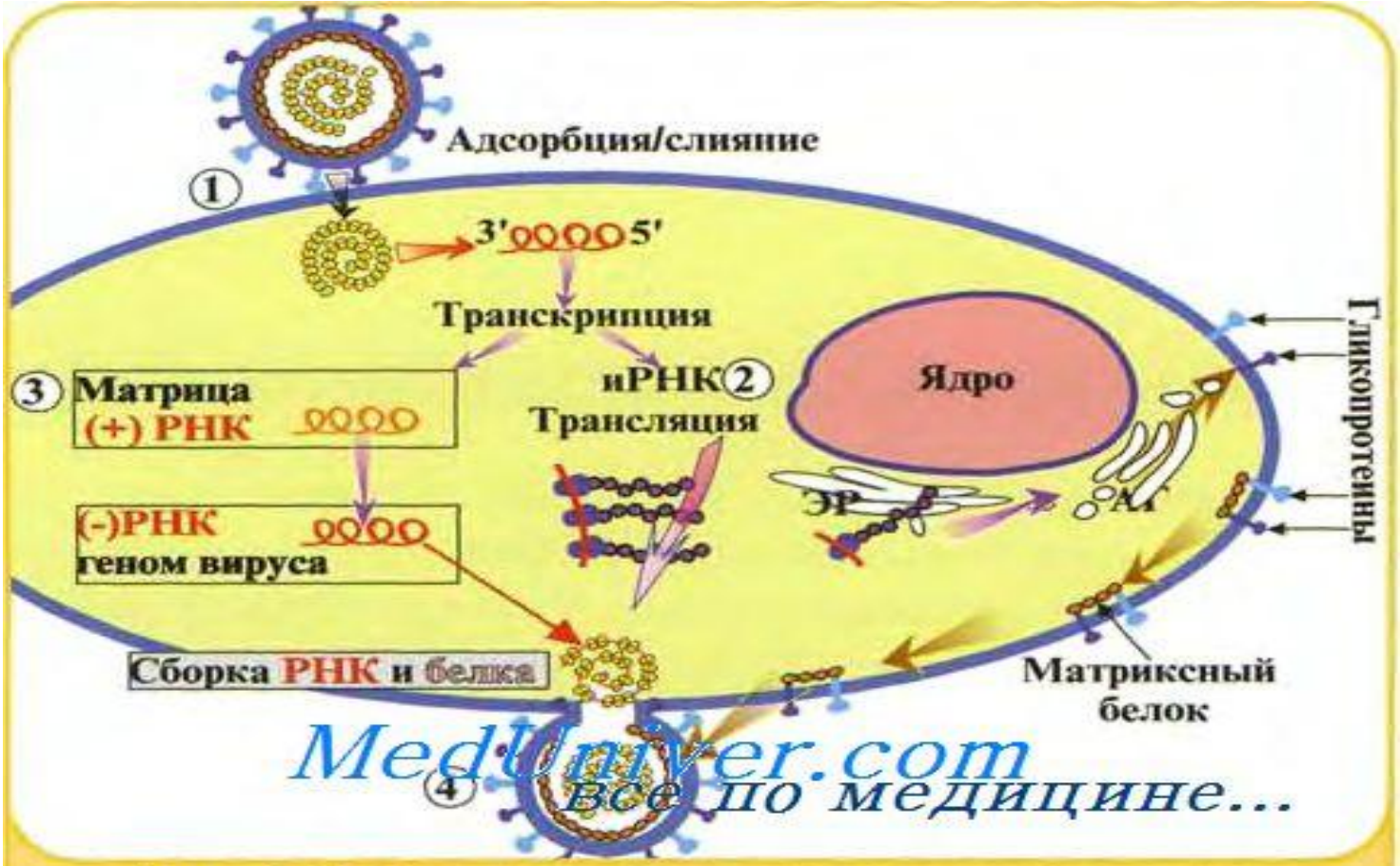


Рис. 4.52. Схема репродукции парамиксовируса

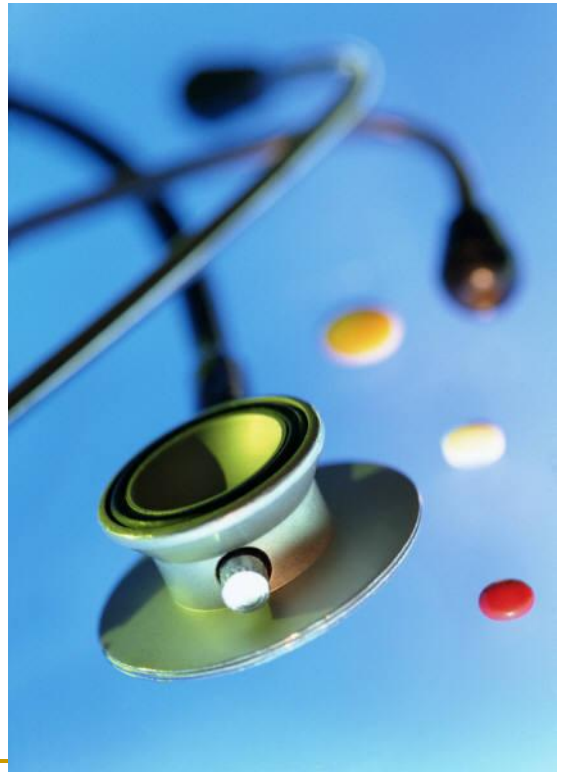
Вирус парагриппа: свойства

- 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)

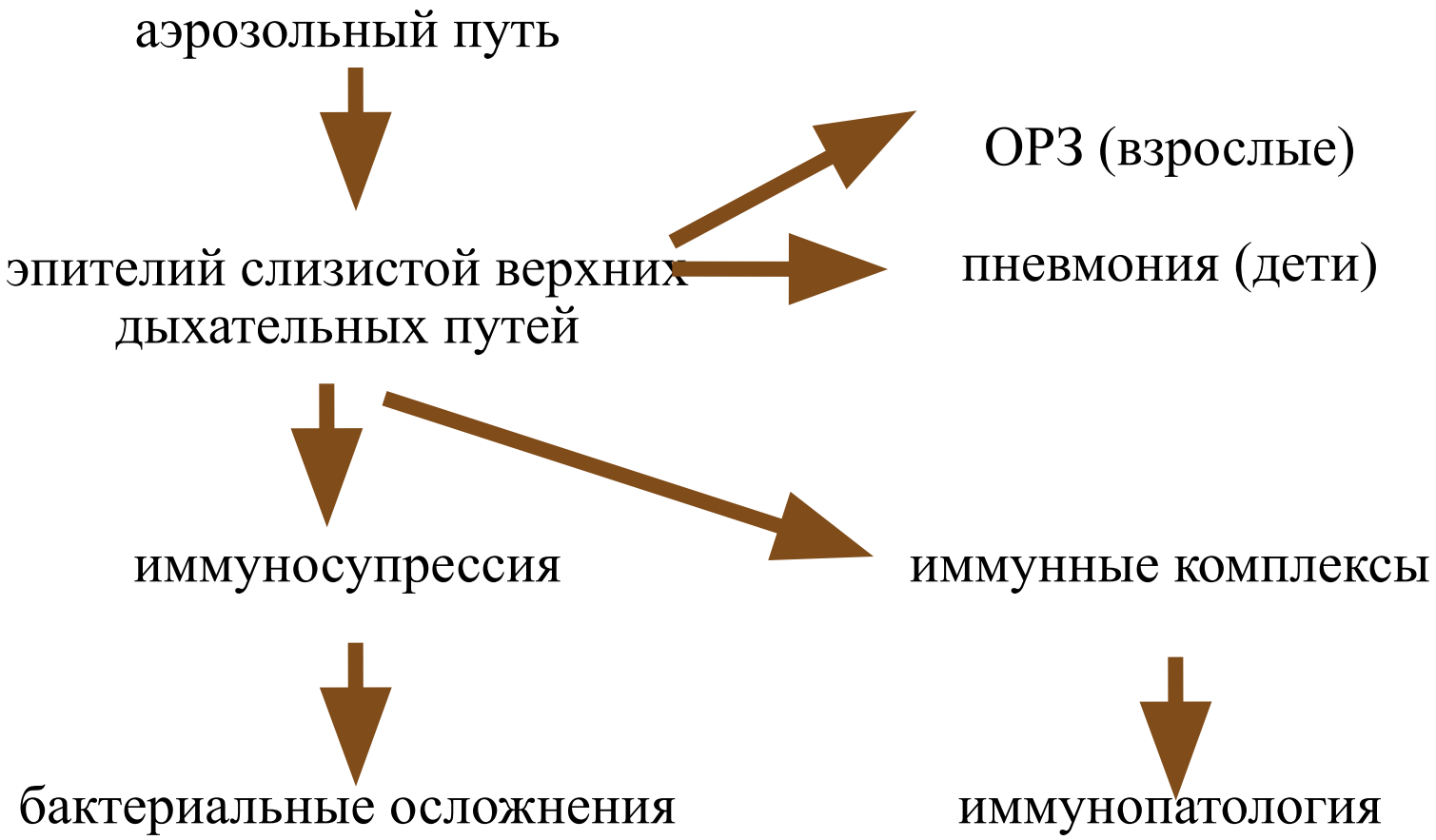
Pneumovirus: свойства

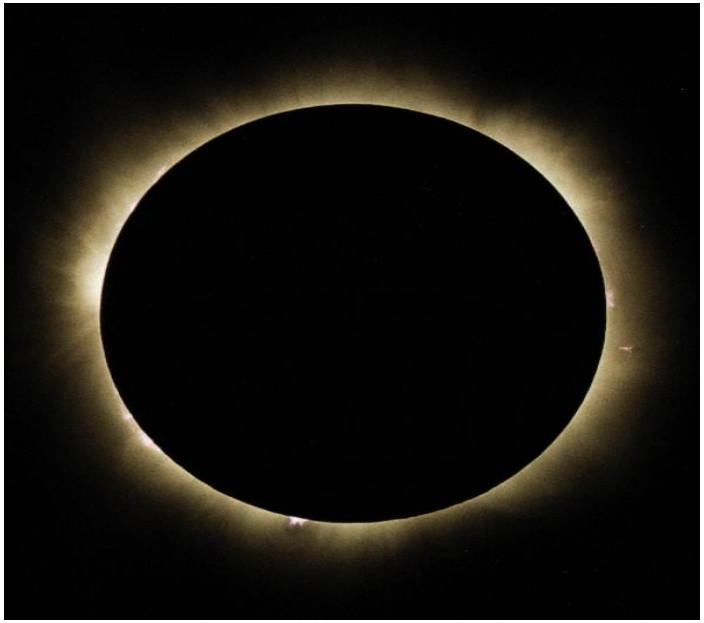
- характерно образования ***синцития***
- полное отсутствие:
  - гемагглютинирующей и гемадсорбирующей активности
  - нейраминидазной активности
- поверхностные гликопротеины:
  - G – адсорбция
  - F – слияние мембран (проникновение) и образование синцития
- 2 серотипа (PH)

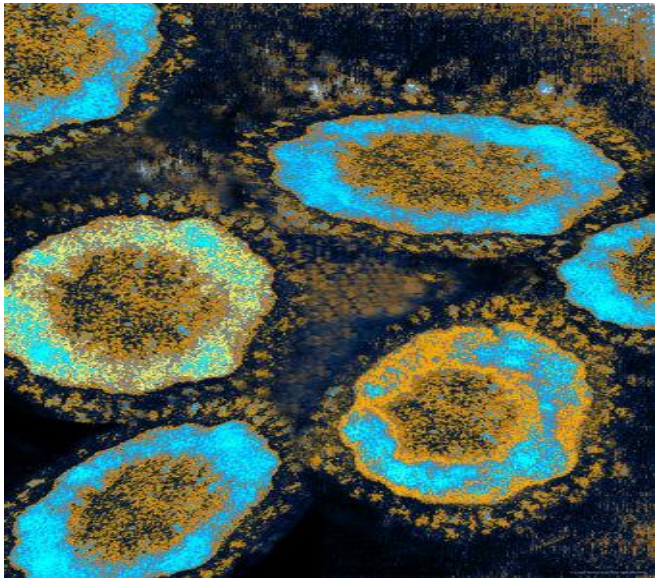
Респираторно-синцитиальный вирус: эпидемиология

- 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)

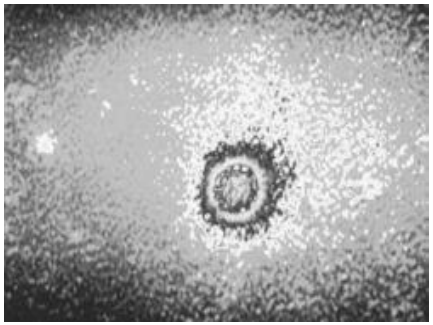


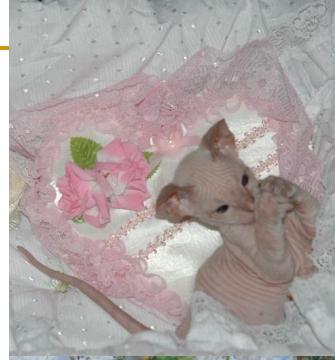




Семейство Coronaviridae

КОРОНАВИРУСЫ: классификация





Coronaviridae

человека

животных и птиц

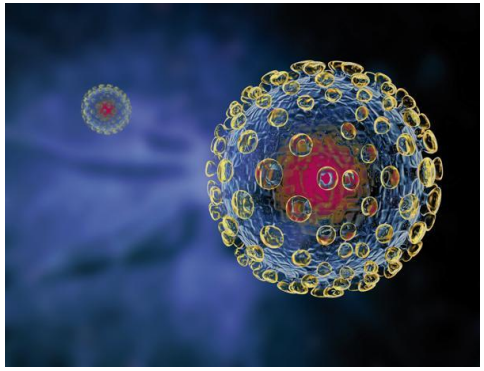
ТОРС

(SARS)

энтеральные

респираторные
(высококонтагиозные)

Этимология



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

Коронавирусы: свойства

- Сложноорганизованные размером 100-150 нм
- Спиральный тип симметрии
- Гликопротеины Е2 – пепломер и Е1 – трансмембранный
- Однонитевая несегментированная плюс РНК
- 4 серогруппы (РН) – нет перекрёстного иммунитета
- Практически не культивируются

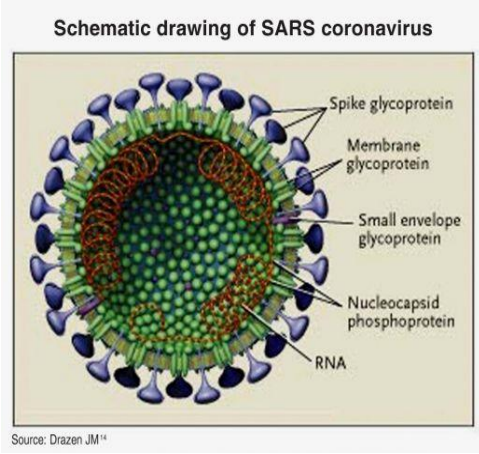
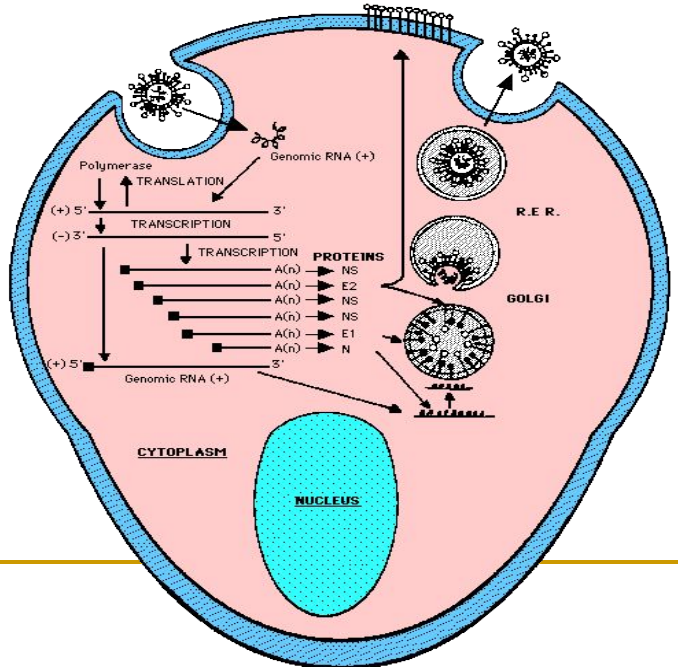


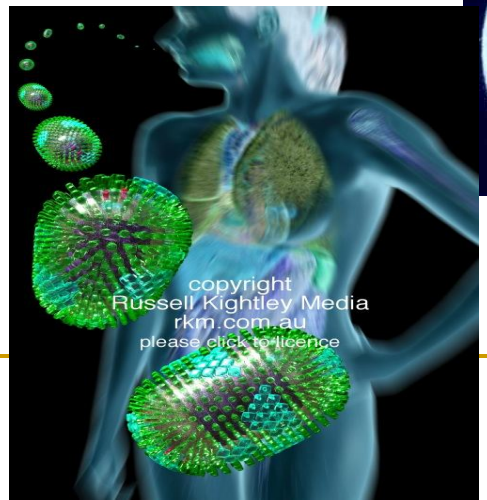
Рис. 4.45. Схема строения коронавируса

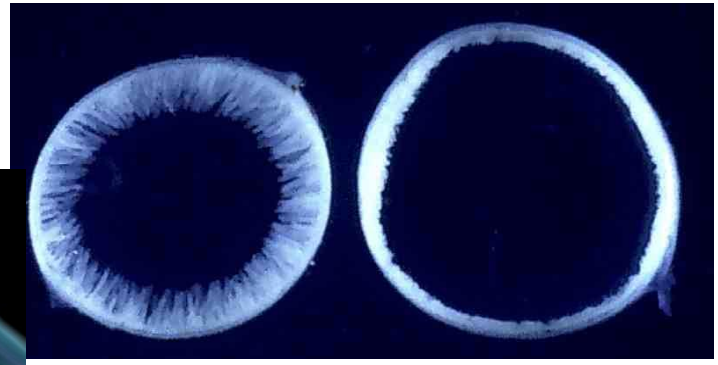


Коронавирусы:
роль в патологии человека

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

- **Энтеральные**
- гастроэнтериты (дети)

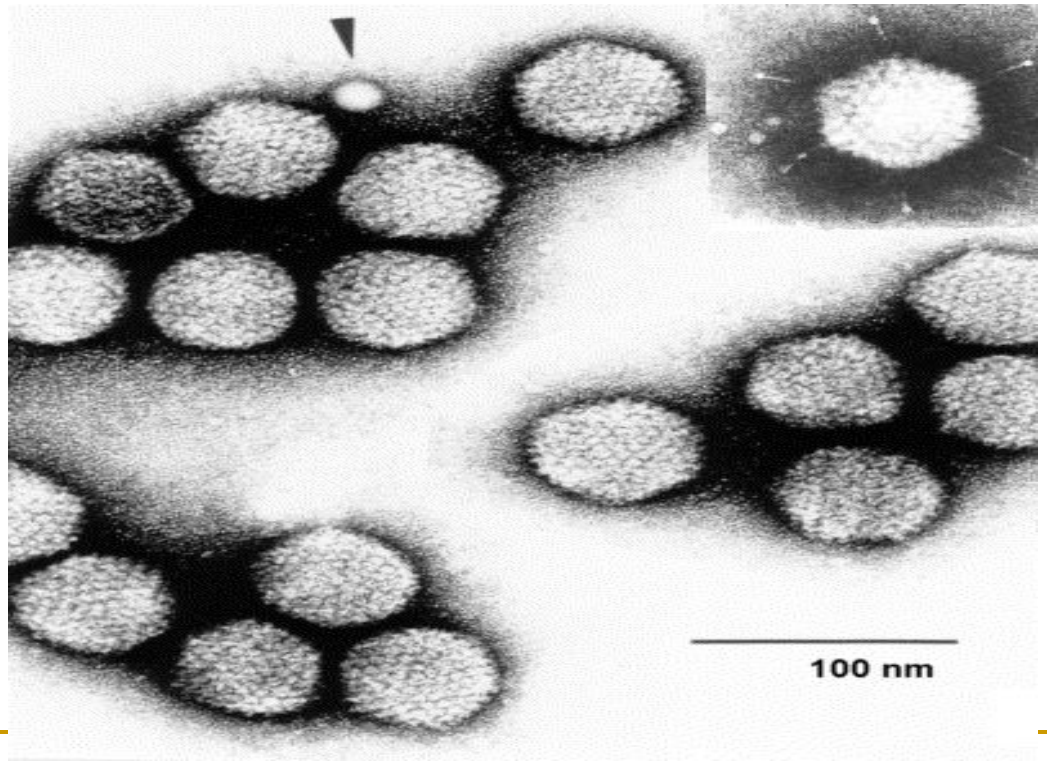




Диагностика ОРВИ, вызванных коронавирусами

- 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

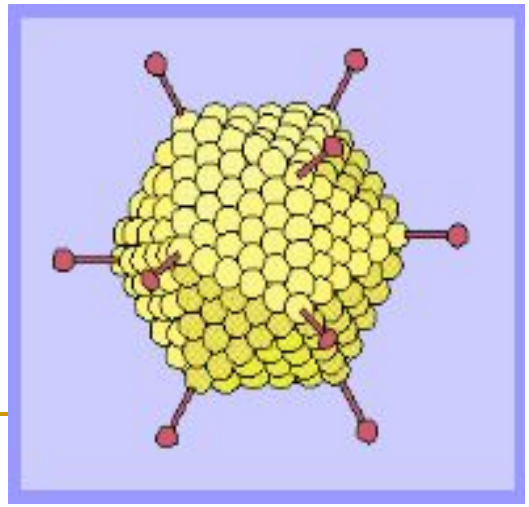
Семейство Adenoviridae



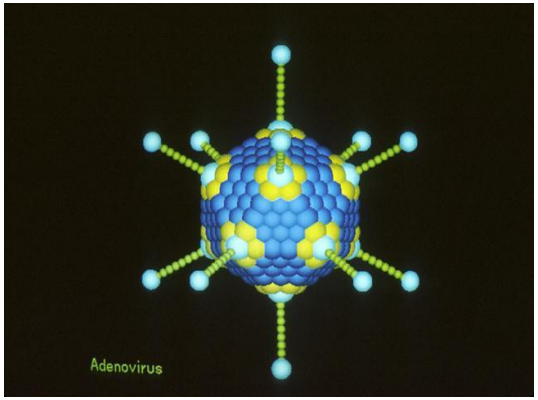
Аденовирусы: состав семейства

Adenoviridae

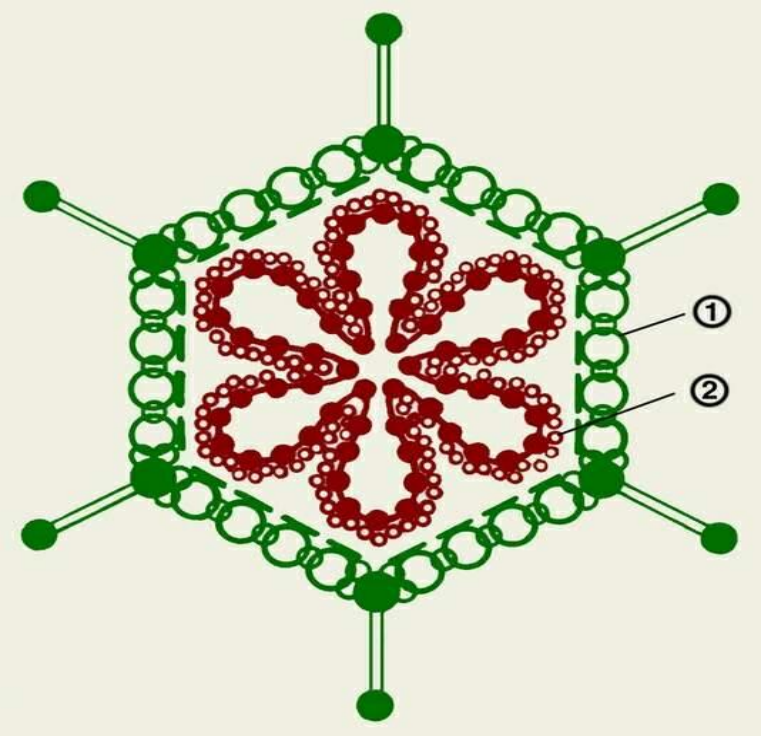
- Aviadenovirus – вирусы птиц
- Mastadenovirus – вирусы млекопитающих
  - серотипы (РТГА)



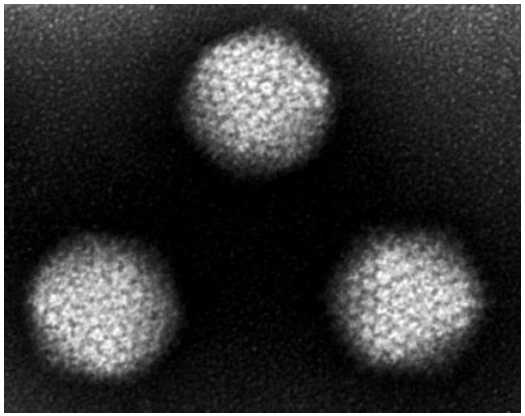
Аденовирусы:
общая характеристика



- 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
- конъюнктива
- 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

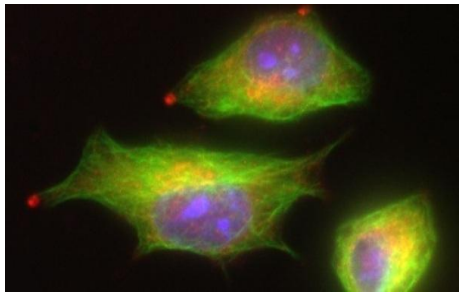
Аденовирусные инфекции: следствия трансплацентарного инфицирования

- 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



▼

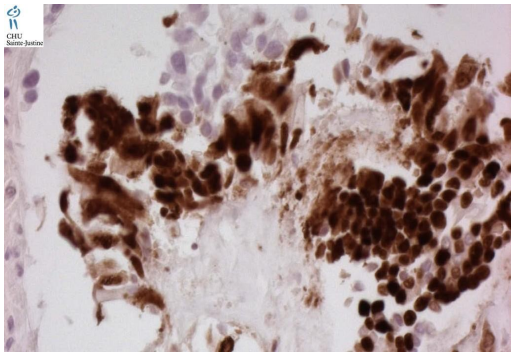
культура клеток

▼

РСК

▼

РН, РТГА



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

Спасибо за вн