

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°C в сухом льду или помещают в жидкий азот при -180°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

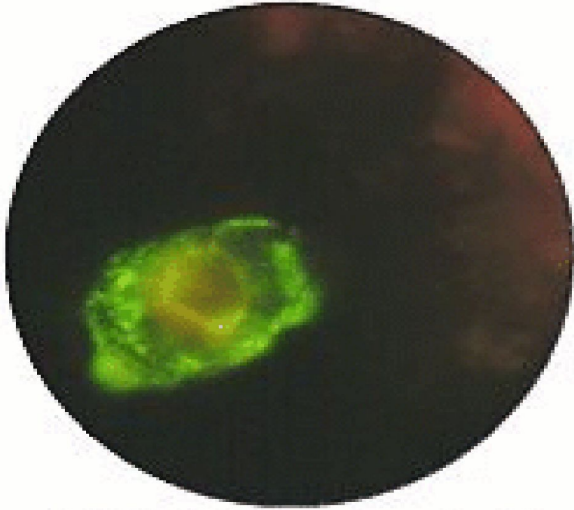


Fig. 3, HSV-infected epithelial cell from skin lesion (DFA)

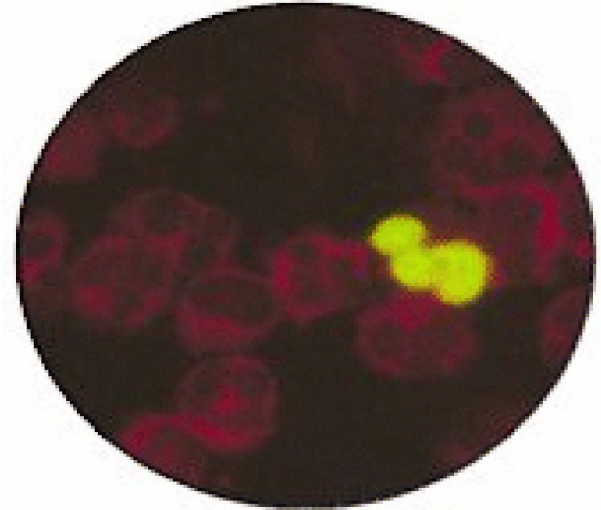
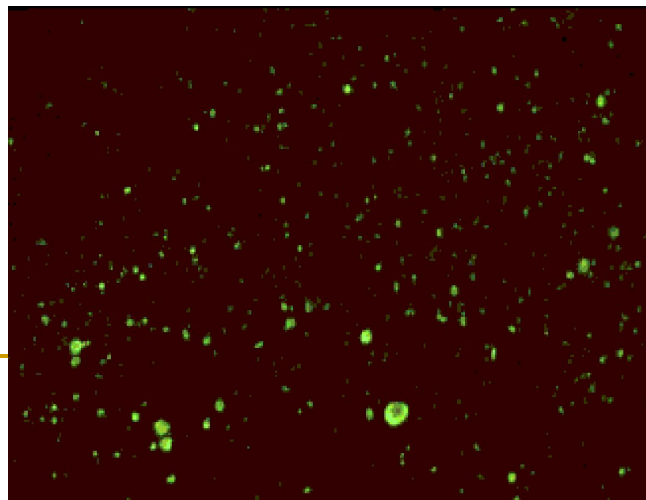


Figure 4 CMV pp65 antigens detected in nuclei of peripheral blood neutrophils



Ускоренные методы

Выявление вирусного АГ в клеточной культуре через 24 после накопления.

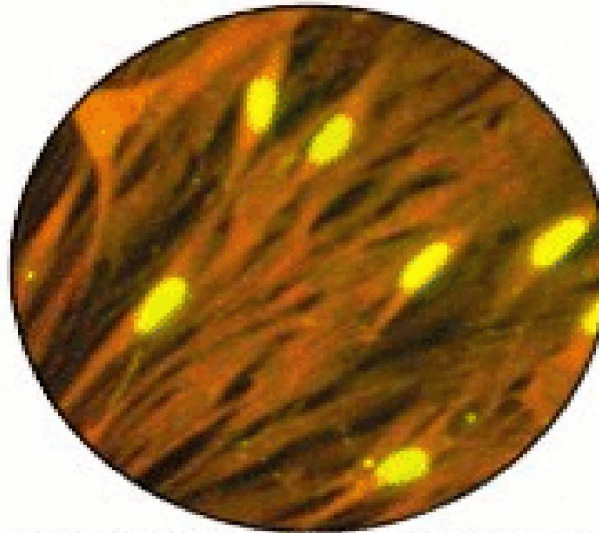


Fig. 2. CMV centrifugation culture fixed and stained 16 hrs after inoculation showing viral proteins in nuclei of infected human fibroblast cells

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

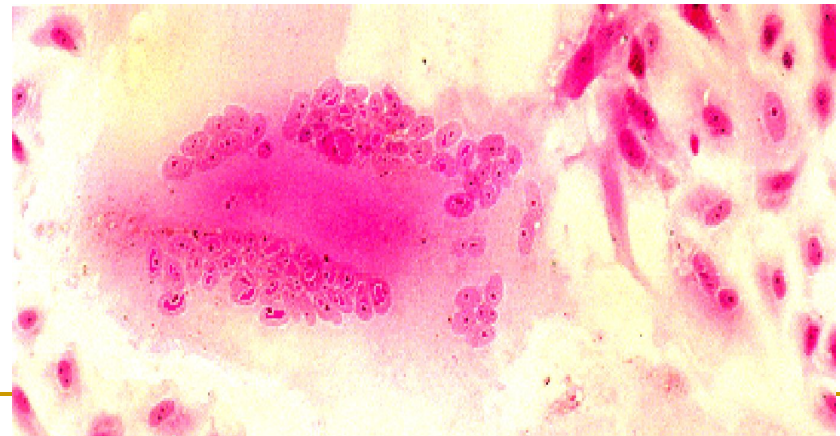
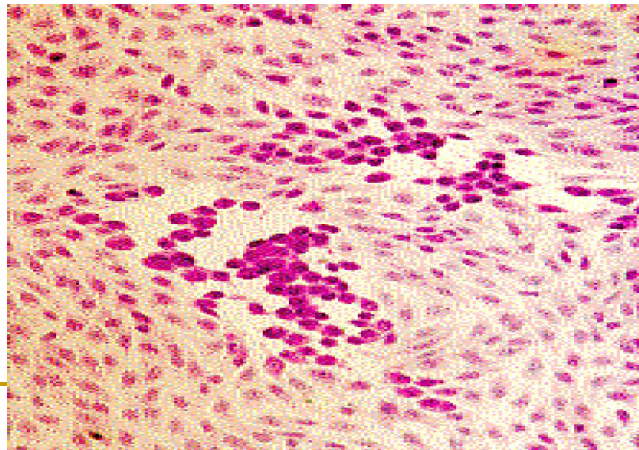
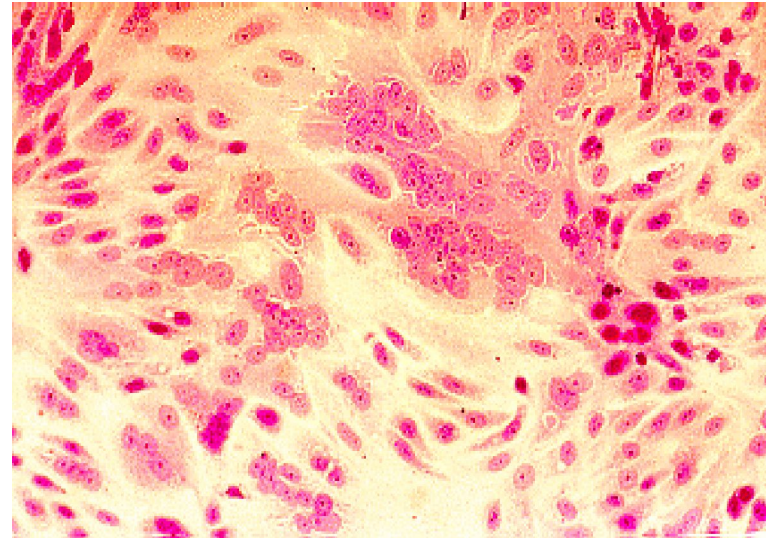
Чаще – перевиваемые монослойные

- 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

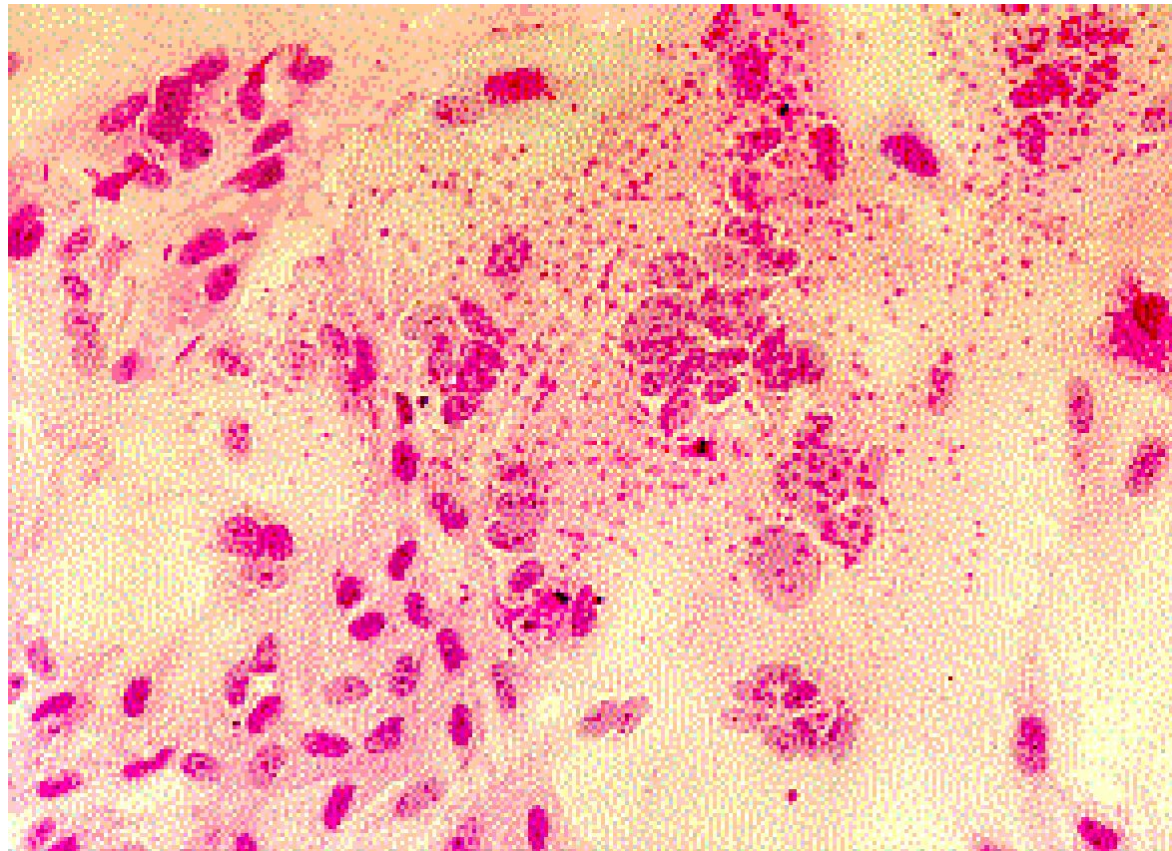
ЦПД вирусов



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

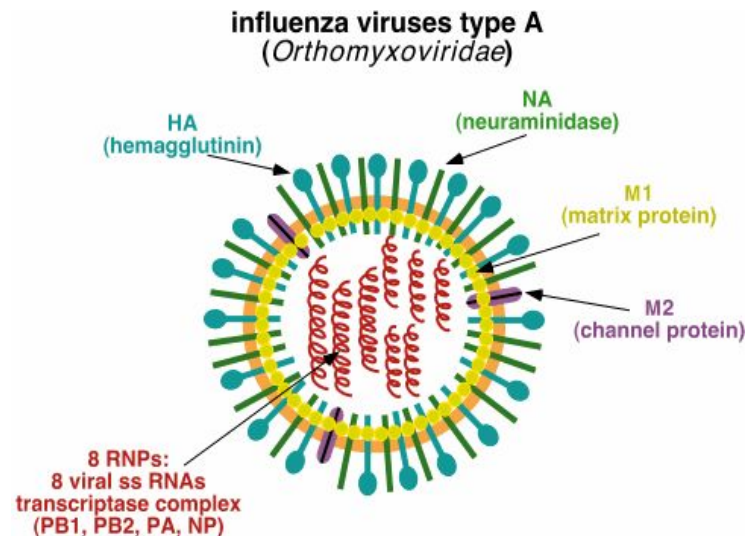
Ортомиксовирусы: структура вириона

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...

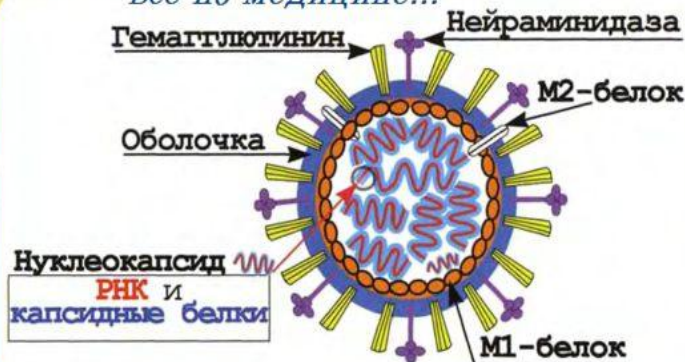


Рис. 4.4. Схема строения вируса гриппа (вирус с однонитевой из 8 фрагментов минус-РНК)

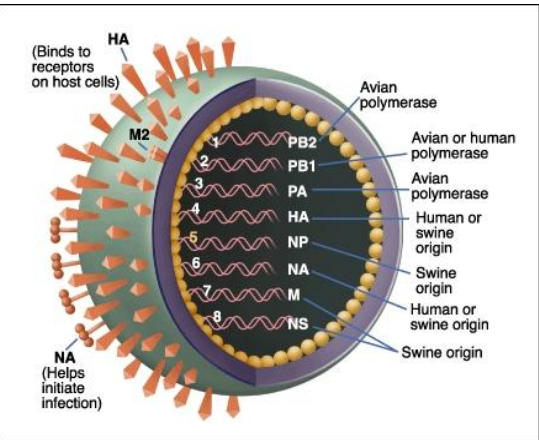
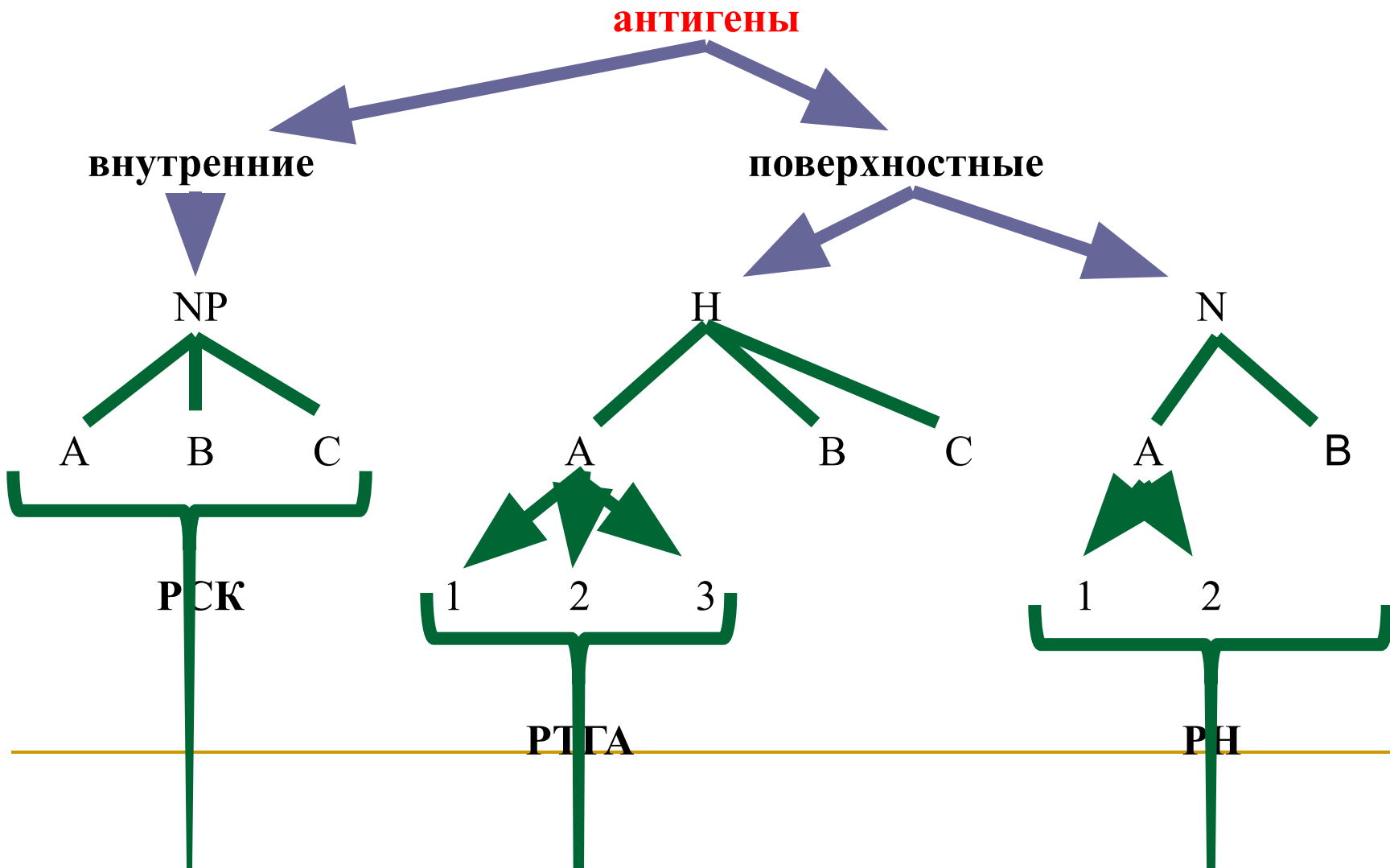


Рис. 4.58. Схема репродукции Influenzavirus тип А

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

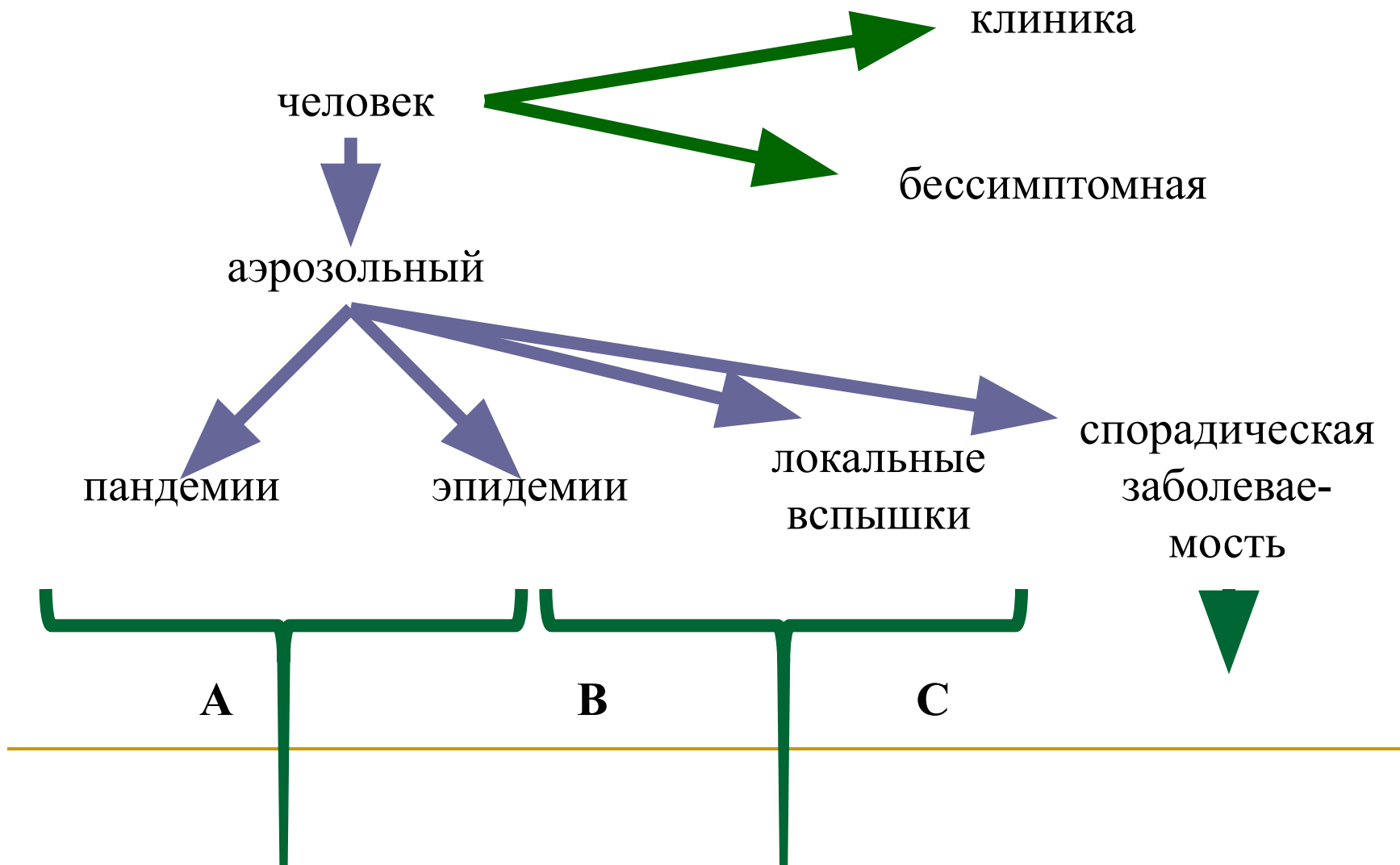
Чувствительность к факторам внешней среды вируса гриппа А

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

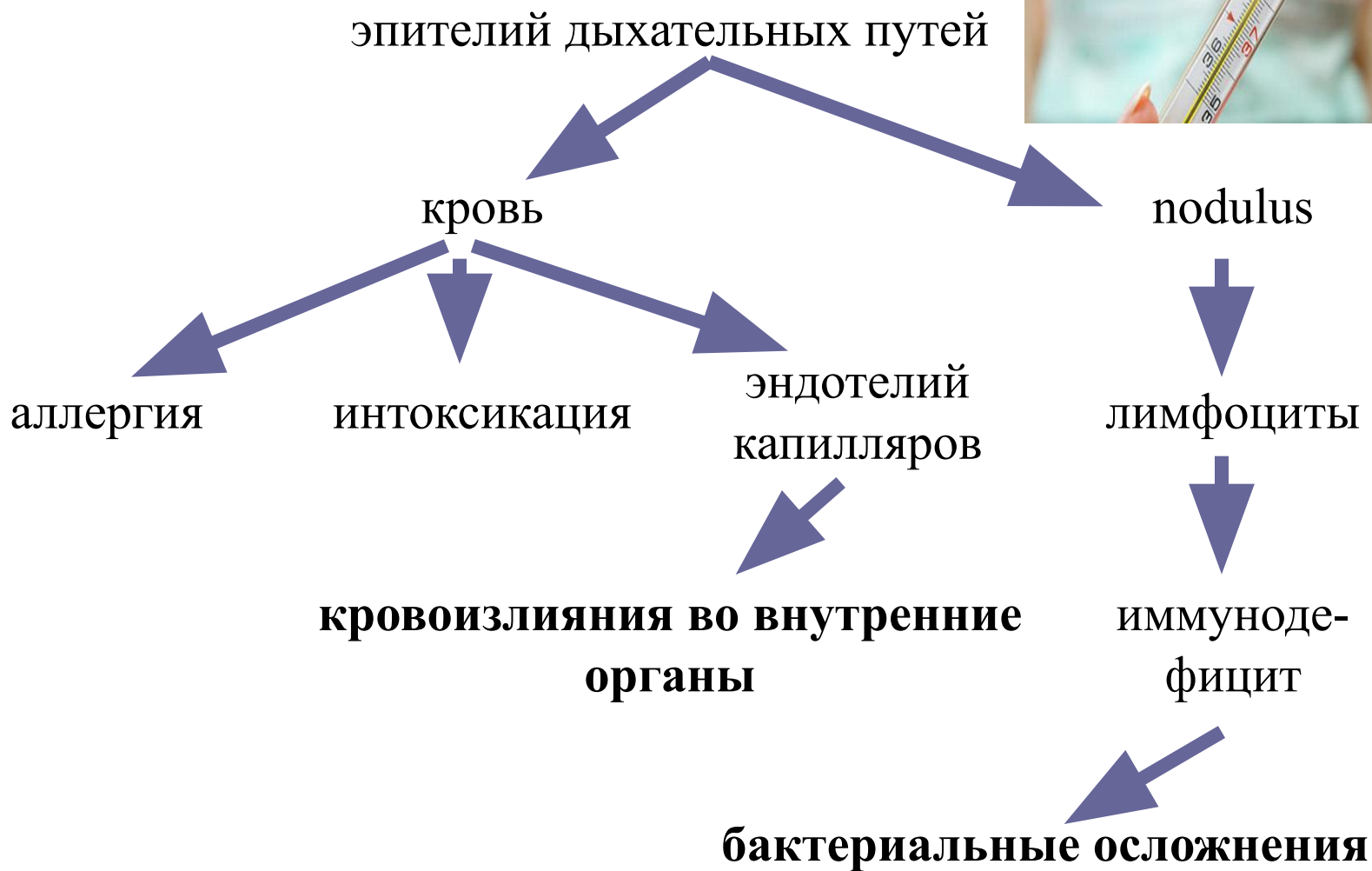
Отличительные особенности вируса гриппа С

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_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

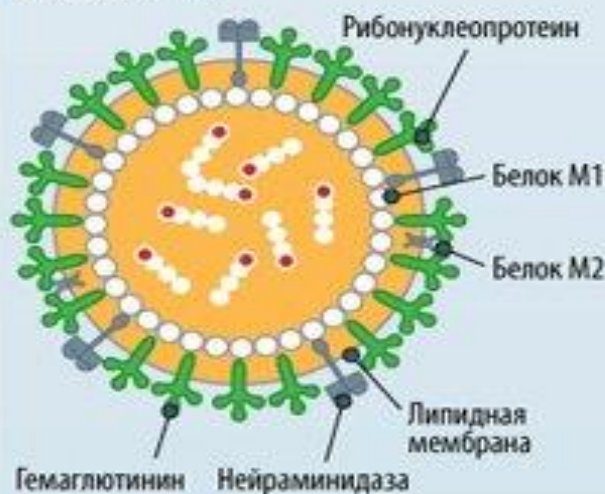
3. Серологический метод

- ❑ 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

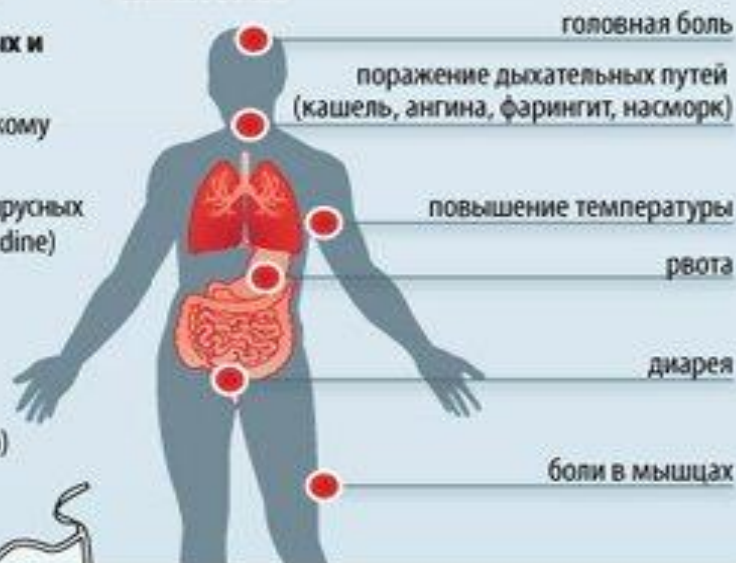
Штамм H1N1



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



Вирус птичьего гриппа нацелился на человечество

География и динамика распространения опасного заболевания



Впервые птичий грипп был выделен 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

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

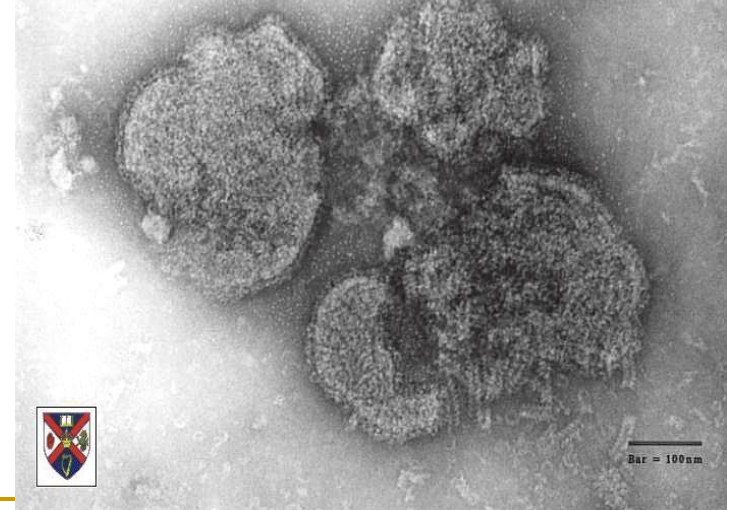
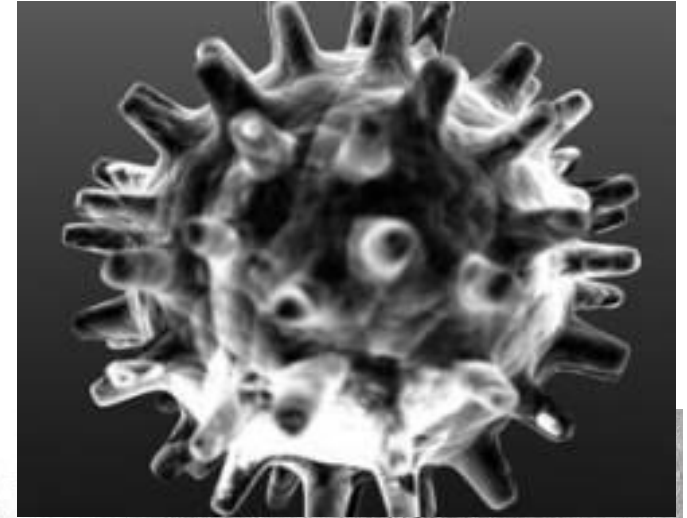
Бронхит и бронхиолит
(РС –вирусы)
пневмонии (гриппа,
парагриппа)

Семейство *Paramyxoviridae*



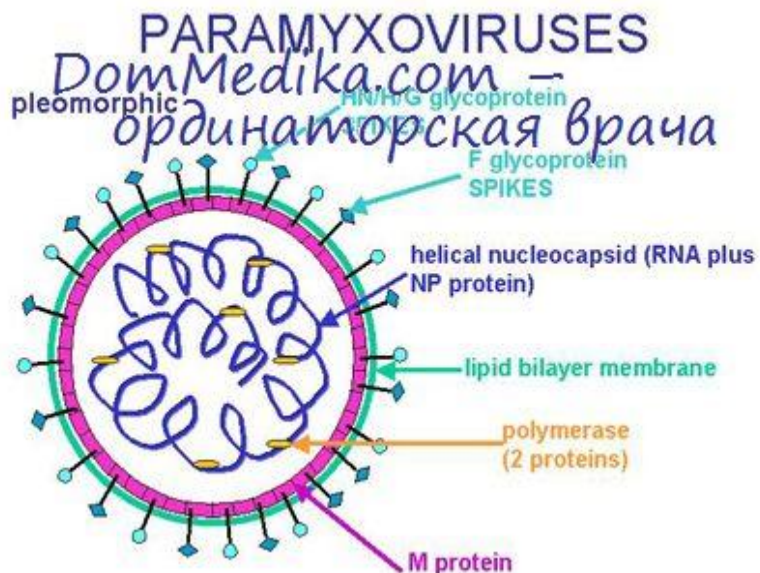
Морфология

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



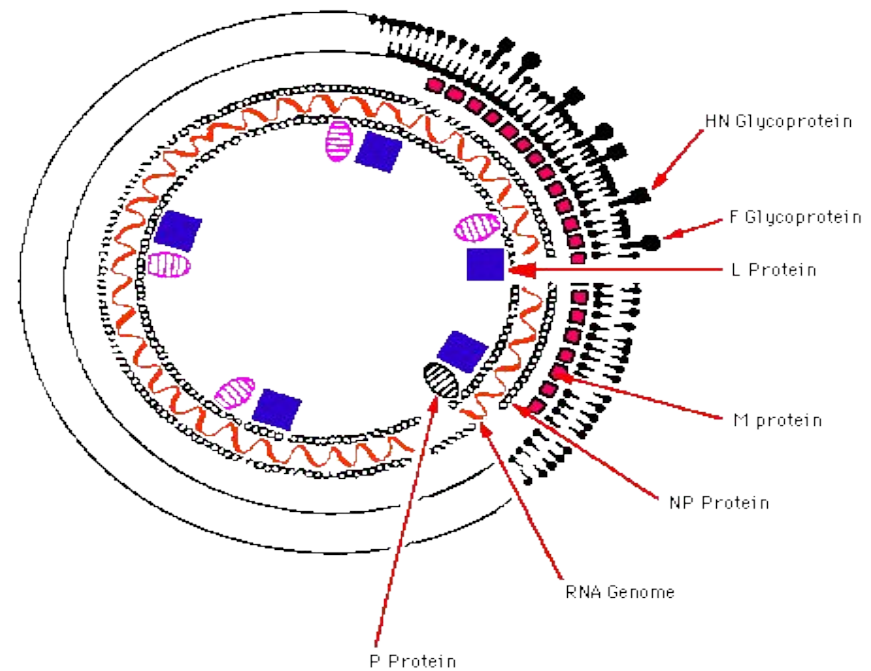
Парамиксовирусы: характеристика

- 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



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)
-

Рнеumovirus: свойства

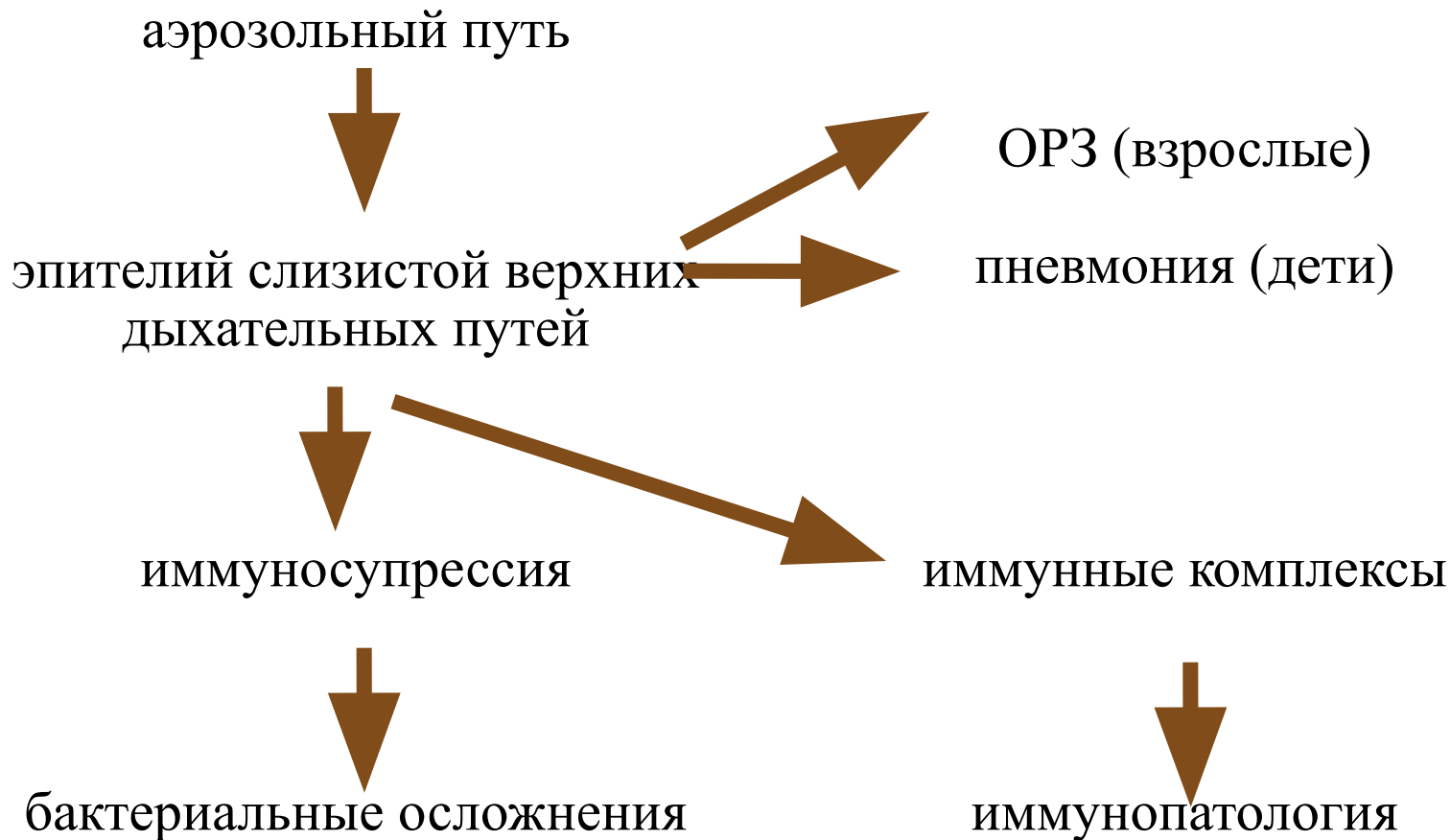
- характерно образования *синцития*
 - полное отсутствие:
 - гемагглютинирующей и гемадсорбирующей активности
 - нейраминидазной активности
 - поверхностные гликопротеины:
 - G – адсорбция
 - F – слияние мембран (проникновение) и образование синцития
 - 2 серотипа (РН)
-

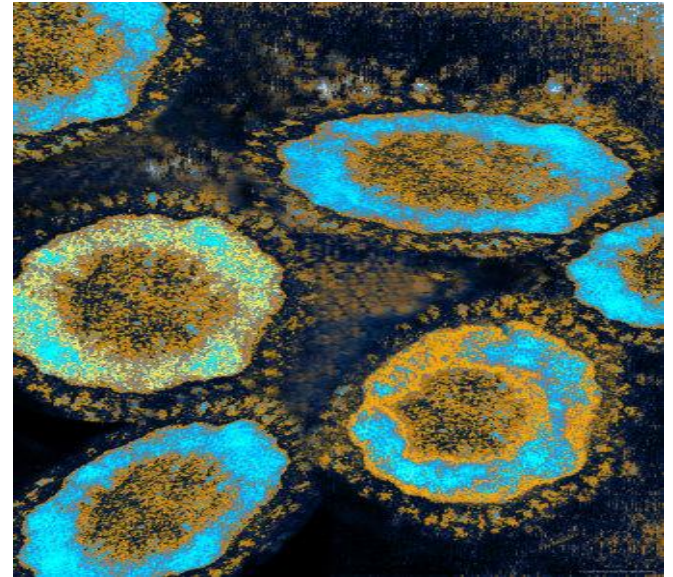
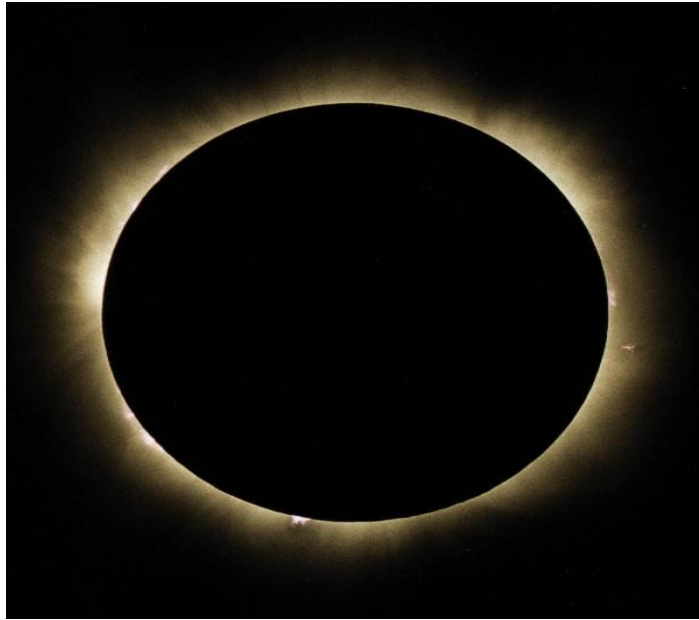
Респираторно-синцитиальный вирус:

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
-

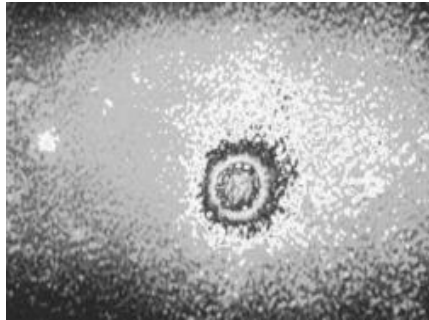
Патогенез RSV-инфекции (респираторно-синцитиальной вирусной инфекции)





Семейство Coronaviridae

КОРОНАВИРУСЫ: классификация



Coronaviridae



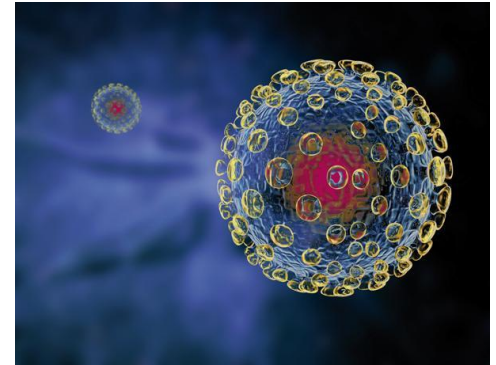
человека

ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ

энтеральные

ТОРС
(SARS)
респираторные
(высококонтагиозные)

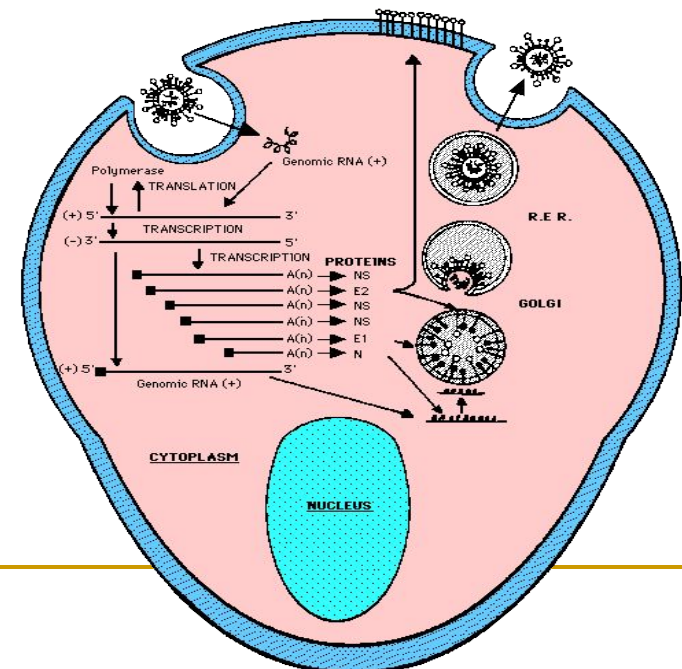
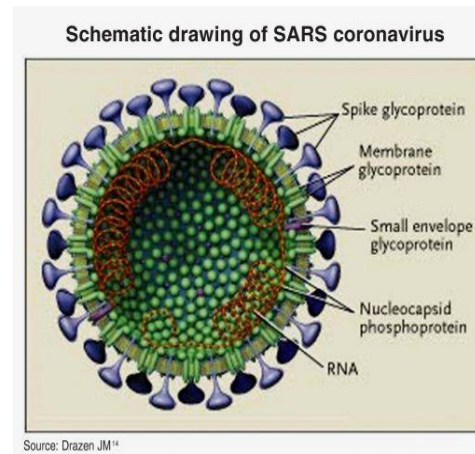
ЭТИМОЛОГИЯ



- **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:

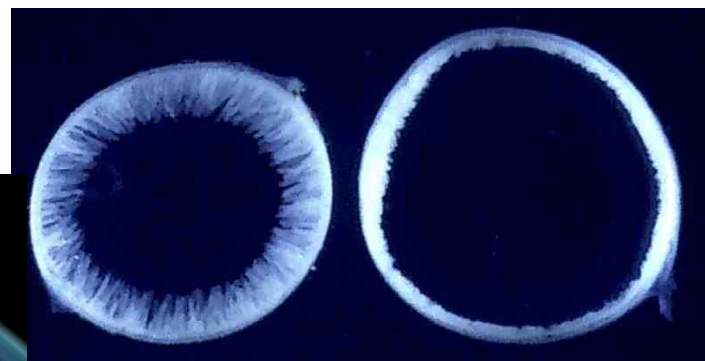
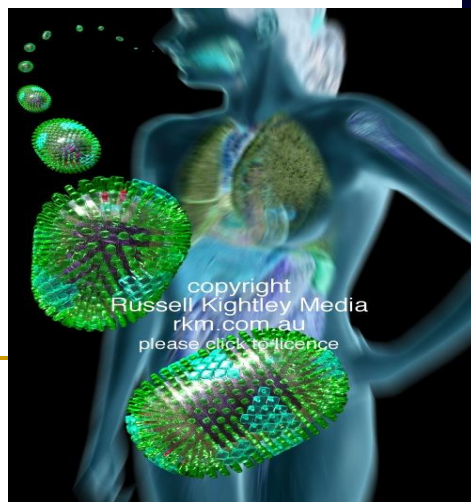
роль в патологии человека

• Респираторные

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

• Энтеральные

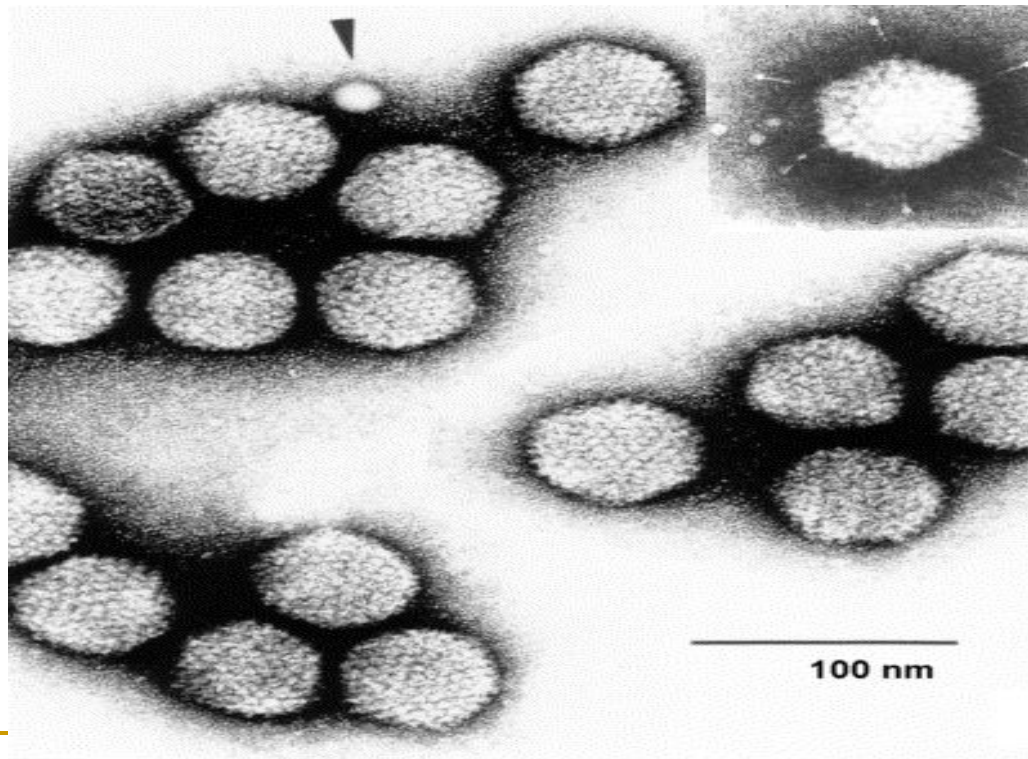
- гастроэнтериты (дети)



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
-

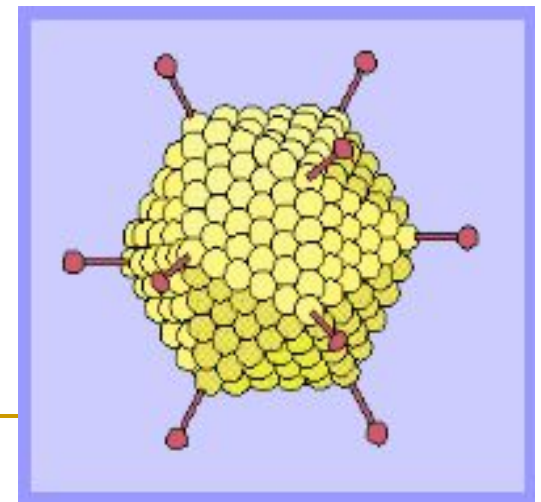
Семейство Adenoviridae



Аденовирусы: состав семейства

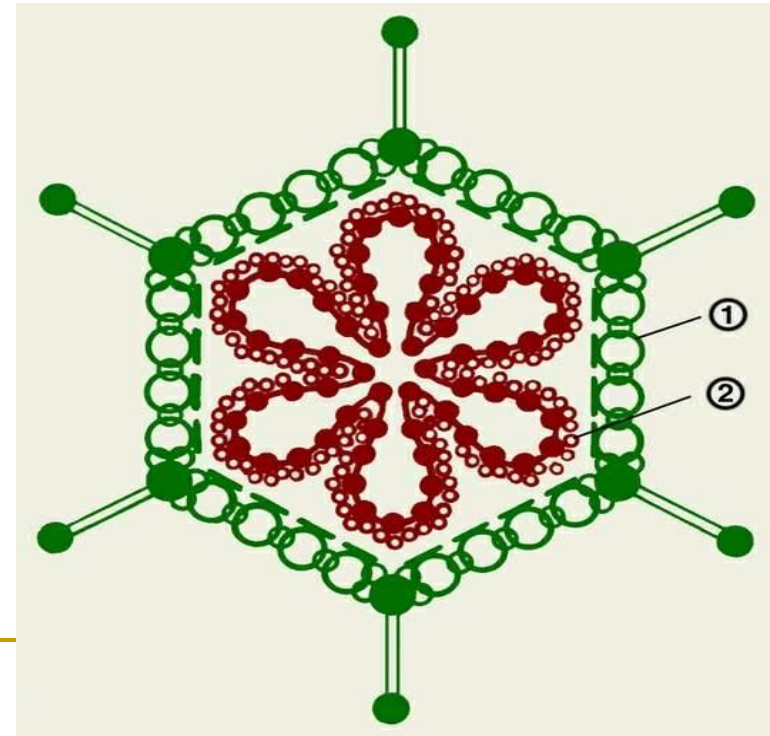
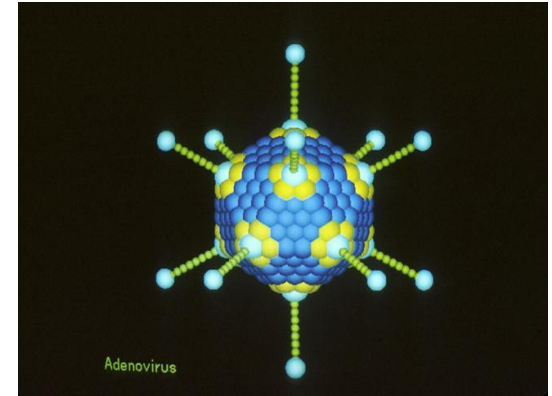
Adenoviridae

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



Аденовирусы: общая характеристика

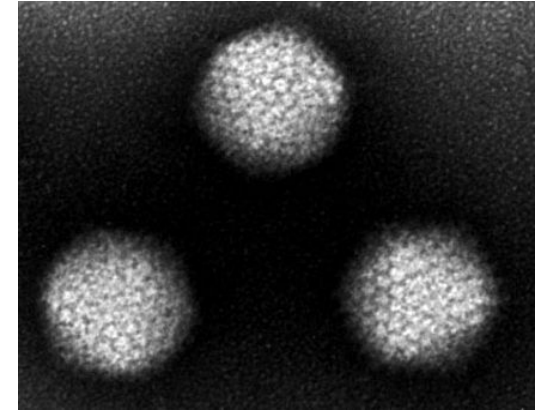
- Простые ДНК-овые вирионы
- 252 капсомера
- от 12 вершин икосаэдра – фибры (нити)
- антигены:
 - группоспецифический (нуклеокапсид) – РСК
 - типоспецифические (нити=гемагглютинины) – РТГА, РН



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

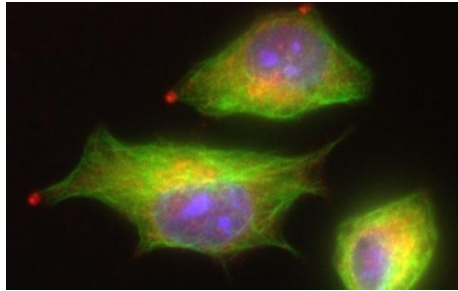


Аденовирусные инфекции: следствия трансплацентарного инфицирования

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

Аденовирусные инфекции: вирусологическая диагностика

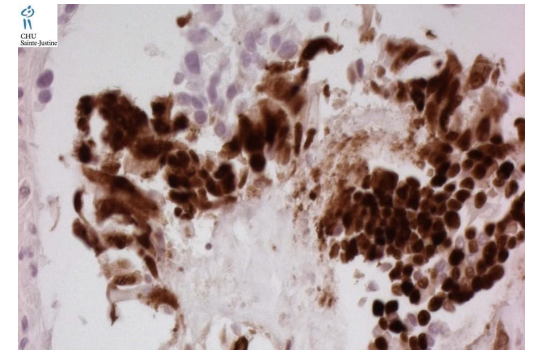
1. Обнаружение Ag в респираторном эпителии (РИФ).
2. Выделение вируса
отделяемое носа, зева, конъюнктивы, faeces



▼
культура клеток

▼
РСК

▼
РН, РТГА



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

Спасибо за

ВН

