

КАЗАНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ



Вирусы, вызывающие респираторные инфекции

Лектор: ИСАЕВА Гузель Шавхатовна
д.м.н., зав.каф. микробиологии
имени академика В.М.
Аристовского



Вопросы лекции

- Основные возбудители острых респираторных вирусных инфекций
- Свойства возбудителей гриппа (таксономия, структура вириона, антигены и антигенная изменчивость, методы культивирования)
- Эпидемиология и патогенез гриппа
- Принципы микробиологической диагностики
- Препараты для этиотропной терапии
- Профилактика гриппа. Характеристика вакцин.

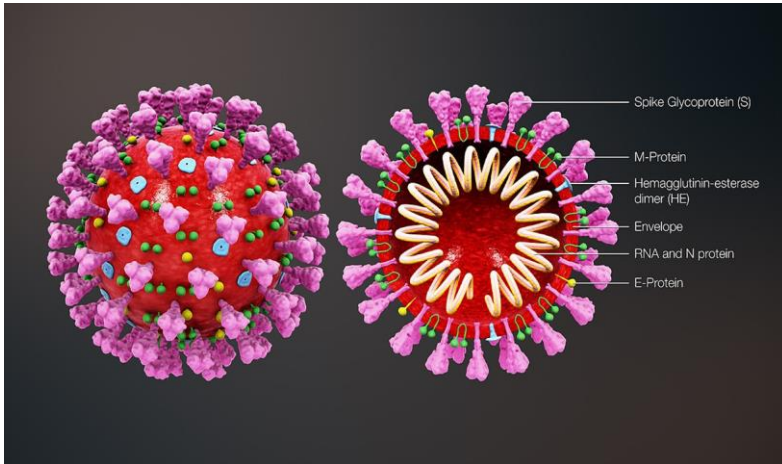


Основные возбудители ОРВИ

- РНК-содержащие оболочечные
- Сем. *Orthomyxoviridae* (вирусы гриппа А-D)
- Сем. *Paramyxoviridae*:
 - род *Respirovirus* - вирусы парагриппа 1 и 3 типа
 - род *Morbillivirus* – вирус кори и ПСПЭ
- Род *Orthorubulavirus* - вирус эпидемического паротита, вирусы парагриппа 2 и 4 типа
- Сем. *Pneumoviridae*
 - Род *Orthopneumovirus*- респираторно-синцитиальный вирус (RSV)
 - Род *Metapneumovirus* - метапневмовирусы

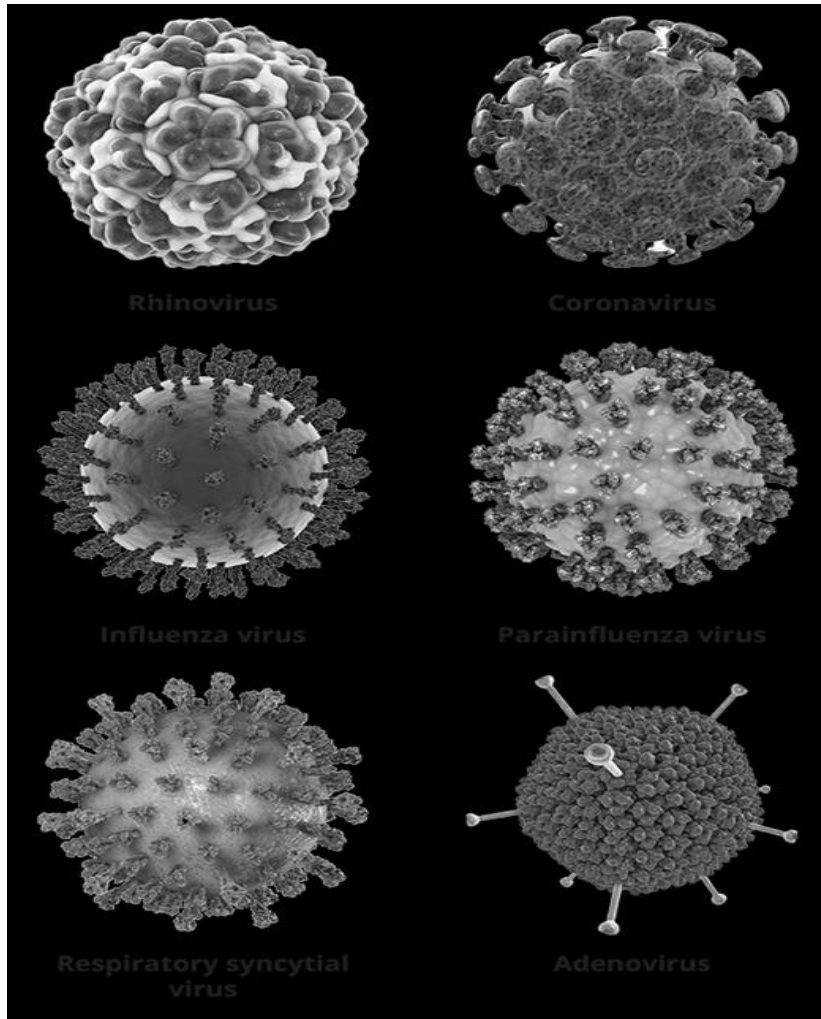
Основные возбудители ОРВИ

- РНК – содержащие оболочечные:
- Семейство *Coronaviridae*
- Подсемейство *Orthocoronavirinae*



- *Под Alphacoronavirus*
- *Human coronavirus 229E*
- *Human coronavirus NL63*
- *Под Betacoronavirus:*
- *Human coronavirus OC 43*
- *Middle East respiratory syndrome-related coronavirus* (MERS-CoV)
- *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* - *SARS-CoV*
- *SARS-CoV-2*

Основные возбудители ОРВИ



- РНК содержащие безоболочечные :
 - Семейство *Picornaviridae*
 - Род *Enterovirus*
 - Виды:
 - Риновирус А (*Human rhinovirus A*)
 - Риновирус В (*Human rhinovirus B*)
 - Риновирус С (*Human rhinovirus C*)
 - ДНК-содержащие безоболочечные
 - Сем. *Adenoviridae* (7 типов аденовирусов человека, 88 серотипов)
 - Семейство *Parvoviridae*
- Род Бокавирусы



Грипп

- (от франц. gripper- схватывать, царапать) – острое инфекционное вирусное заболевание, характеризующееся поражением респираторного тракта, лихорадкой, интоксикацией, нарушением деятельности сердечно-сосудистой и нервной систем.



Таксономия вирусов гриппа

- Семейство Orthomyxoviridae (от греч. Orthos- прямой, муха – слизь)

4 рода:

- *Alphainfluenzavirus* (состоит из одного вида - Influenza A)
- *Betainfluenzavirus* (Influenza B)
- *Gammainfluenzavirus* (Influenza C)
- *Deltainfluenzavirus* (Influenza D)



История открытия

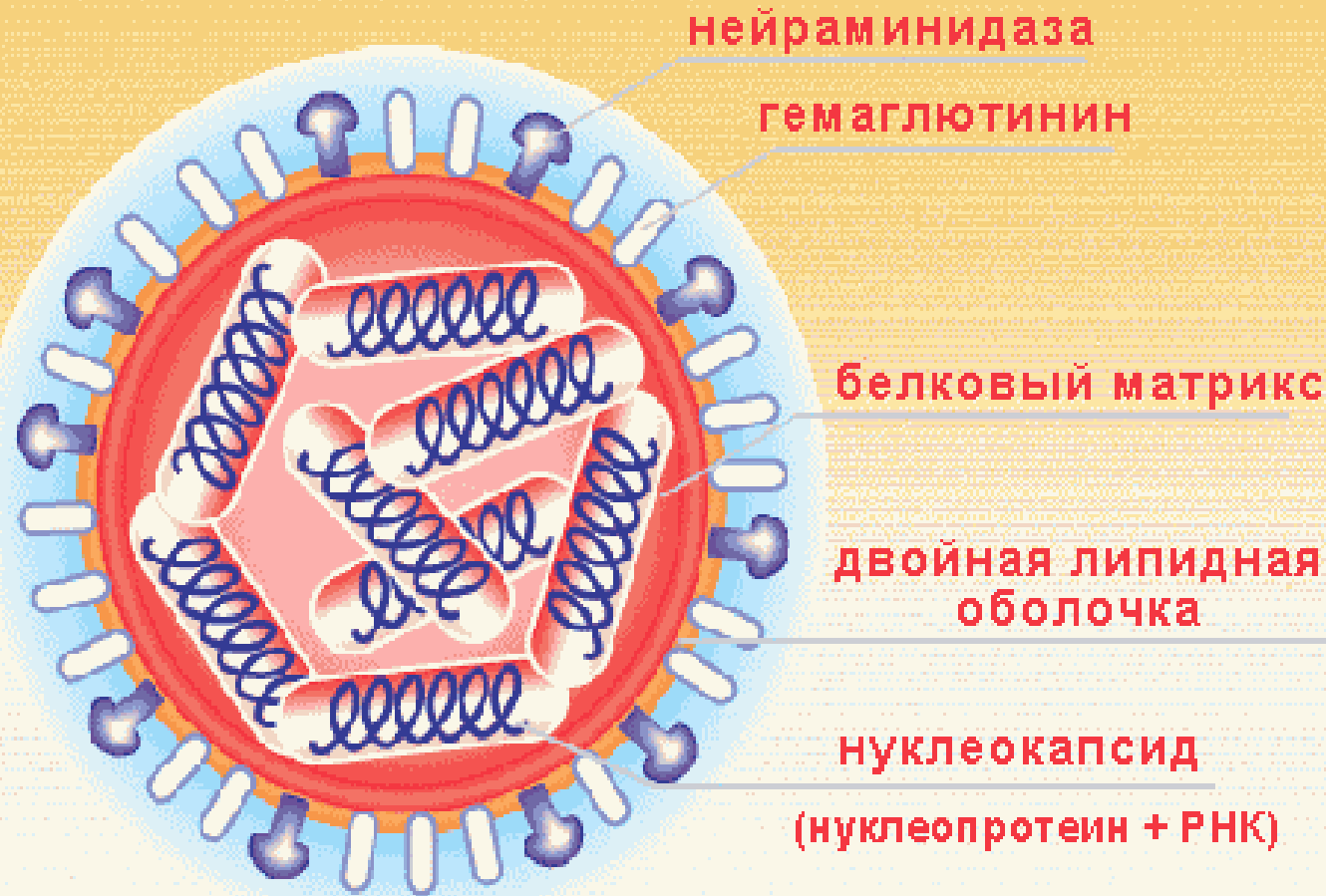
- 412 год до н.э. - Первые упоминания о гриппоподобном состоянии описано Гиппократом
- 1580 год - Первая задокументированная пандемия гриппоподобного заболевания
- 1931 год – Richard Shope открыл вирус гриппа
- 1933 год – открыт вирус гриппа А
- 1936 год – открыт вирус гриппа В
- 1940 год – вирус гриппа культивирован на куриных эмбрионах
- 1947 год – Тейлор выделил вирус гриппа С
- 2016- открытие вируса гриппа D



Структура и свойства

- Вирус гриппа – *Mixovirus influenzae*
- Имеет сферическую структуру и размер 80-120 нм.
- Сердцевина вируса имеет одноцепочечную сегментированную отрицательную цепь РНК, состоящую из 8 фрагментов, которые кодируют 10 вирусных белков (вирус гриппа С и D – 7 фрагментов)
- Фрагменты имеют общую оболочку – капсид
- Снаружи вирус покрыт липидной оболочкой

Строение вируса гриппа





Антигенная структура

- Нуклеопротеин NP (растворимый S - антиген) – постоянен, определяет тип вируса
- Нуклеокапсид окружен слоем матричного белка М
- На поверхности вируса находятся выступы (гликопротеины) – гемагглютинин (Н) и нейраминидаза (N)



Антигенная изменчивость вирусов гриппа

- Существуют два механизма антигенной изменчивости
- антигенный дрейф
- антигенный шифт



Антигенный дрейф

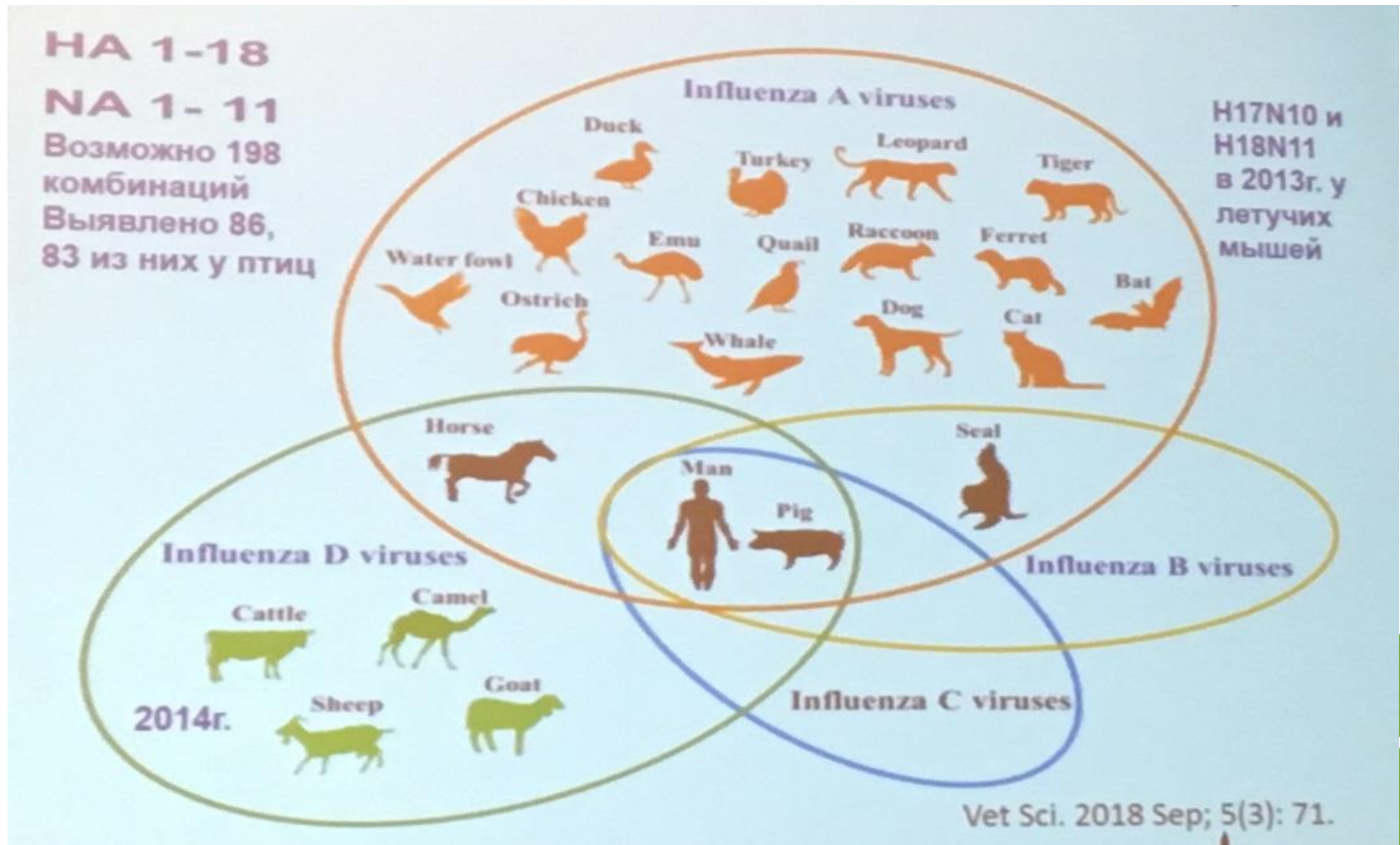
- Происходит в период между пандемиями у всех типов вирусов
- Это незначительные изменения в структуре поверхностных антигенов (гемагглютинаина и нейраминидазы), вызываемые точечными мутациями в генах, которые их кодируют
- Изменения происходят ежегодно
- Результат - эпидемия



Антигенный шифт

- Через нерегулярные интервалы времени (10-40 лет) появляются вирусы с сильными отличиями
- Изменяется антигенная структура гемагглютнина и реже нейраминидазы
- Происходит рекомбинация генов вируса гриппа животных и человека – образование реассортантов
- Вирус гриппа содержит 8 молекул РНК и если в одном организме встречаются два разных вируса гриппа, то происходит обмен фрагментами нуклеиновых кислот

Спектр потенциальных хозяев вирусов гриппа





Вирус гриппа А

- Известно 18 подтипов гемагглютинаина (НА) и 11 подтипов нейраминидазы (НА), всего возможно 198 вариантов вируса
- Естественным резервуаром вируса гриппа «А» являются водоплавающие птицы. Иногда он передаётся другим птицам, в результате может заразить домашних птиц, от них — домашних животных и затем людей
- Обладает высокой антигенной изменчивостью (дрейф и шифт)
- Вызывает заболевание средней тяжести и тяжелые формы
- Поражает человека и животных (лошадь, свинья, хорек, птицы)
- Вызывает пандемии и тяжелые эпидемии



Вирусы гриппа А – возбудители «птичьего» гриппа

- При прямом контакте с зараженной домашней и дикой птицей заболевание человека вызывает вирус гриппа А субтипов:
- H5N1, H7N9 и H9N2 – часто вызывают заболевания человека
- H7N3, H7N7, H4N8, H6N1, H10N7 – редкие случаи.
- В 2021-23 гг. выявлено более 30 млекопитающих, инфицированных вирусом птичьего гриппа H5N1
- В 2024 году в США случаи необъяснимого снижения надоя молока у коров, у которых в молоке была обнаружена РНК А(H5N1). Зафиксирована вспышка среди фермеров через доильные аппараты.



Вирус гриппа В

- Имеет гемагглютинин и нейраминидазу
- Обладает антигенной изменчивостью (дрейф)
- Естественным резервуаром Influenza В является человек.
- Не вызывает пандемию и является причиной локальных вспышек и эпидемий
- Вспышки гриппа В совпадают со вспышками вируса гриппа А, либо предшествуют ему
- Циркулирует преимущественно в человеческой популяции (чаще болеют дети)



Вирус гриппа С

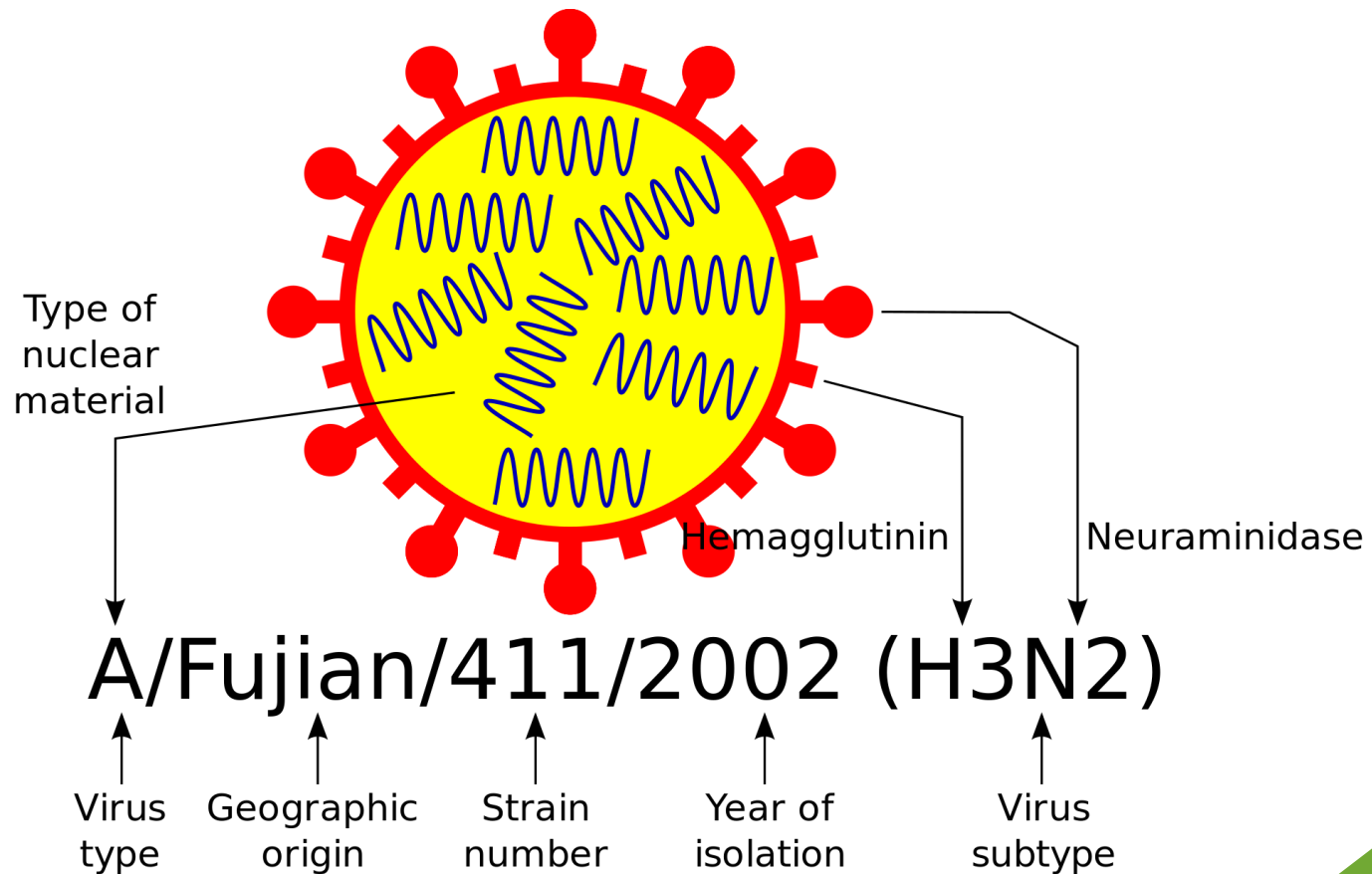
- Содержит только 7 фрагментов нуклеиновой кислоты
- Имеет только один оболочечный (проникающий через стенку клетки хозяина) гликопротеин HEF (англ. *hemagglutinin esterase fusion* – слияние гемагглютинаина и эстеразы), выполняющий роль обоих гликопротеинов (НА и NA) вирусов типов А и В
- Вирусу типа «С» не свойственен антигенный шифт и он слабо изменяется
- Естественным резервуаром *Influenza C* является человек, он заражает также свиней
- Течение болезни легкое
- Не вызывает эпидемий и тяжелых последствий
- Причина спорадических заболеваний
- Заболевания часто совпадают с эпидемией вируса гриппа А



Вирус гриппа D

- Вирусы типа D, в основном, инфицируют крупный рогатый скот.
- *Influenza D* поражает коров, которые являются естественным резервуаром, и свиней. Встречается у мелкого рогатого скота (овец и коз)
- Есть серологические признаки передачи вируса типа D от коров человеку, но не доказаны случаи заболеваний у человека
- Структурно похож на вирус типа C
- *Influenza D* содержит 7 фрагментов одноцепочечной РНК и один оболочечный (проникающий через стенку клетки хозяина) гликопротеин HEF

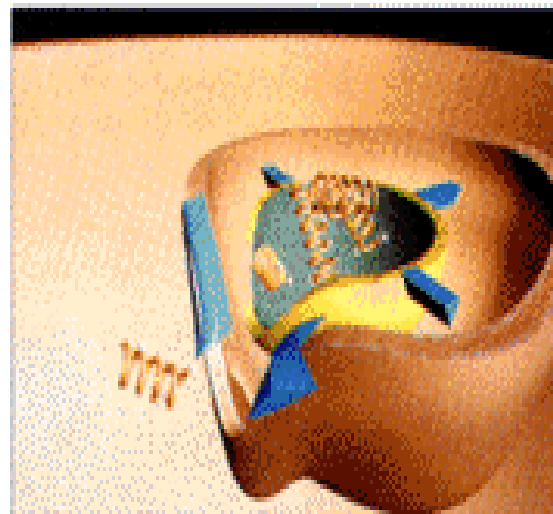
Спецификация наименования штамма вируса гриппа



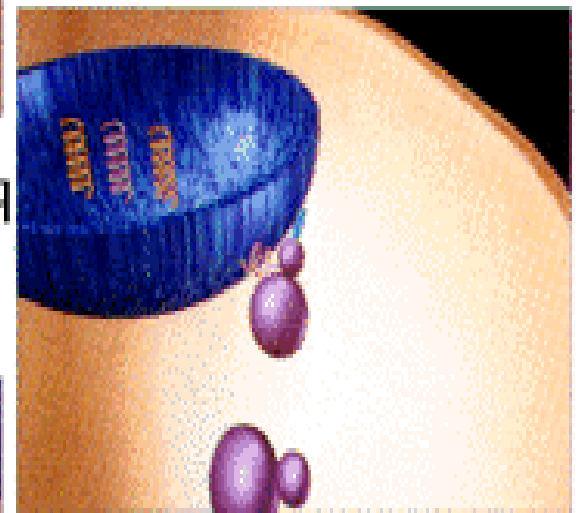


Репродукция вируса

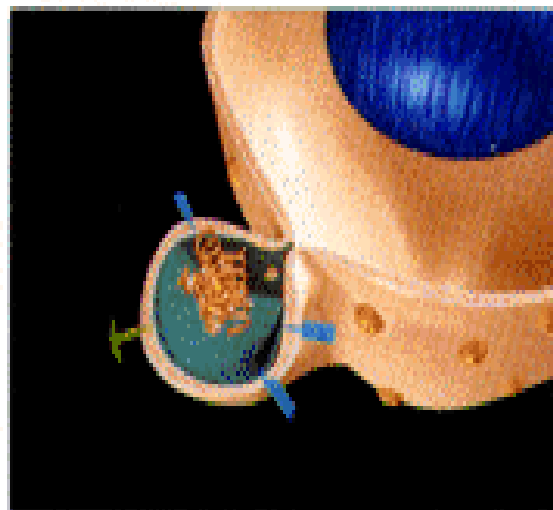
- В дыхательных путях – адгезия на клетке с помощью гемагглютинаина
- Разрушение клеточной мембраны слизистой оболочки нейраминидазой вируса
- Эндоцитоз – проникновение внутрь клетки
- Проникновение вирусной РНК в клеточное ядро; Производство вирусной РНК,
- Синтез вирусных белков на рибосомах (цитоплазма), сборка нуклеокапсида (в ядре)
- Формирование вирусных частиц на мембране (куда встроены Н и N), выход вирусов из клетки



Высвобождение генома вируса



Разрушение клетки,
внутриклеточное
размножение
вирусов



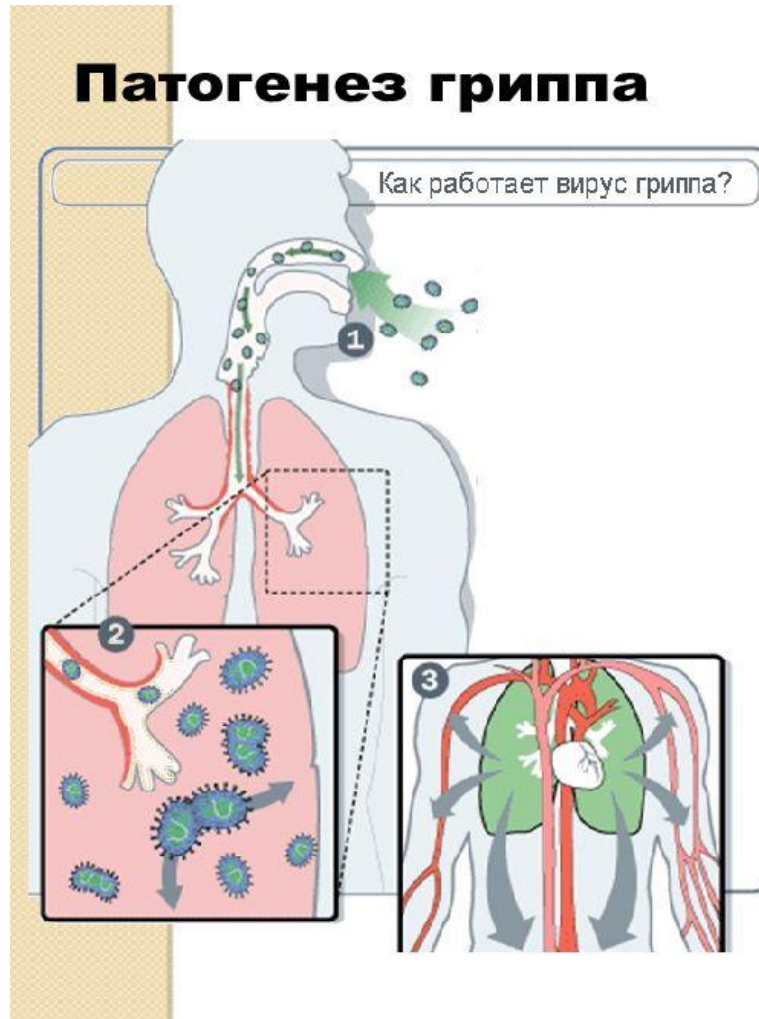
Высвобождение новых вирионов



Проникновение
вируса в клетку

Цикл размножения вируса гриппа

Патогенез гриппа

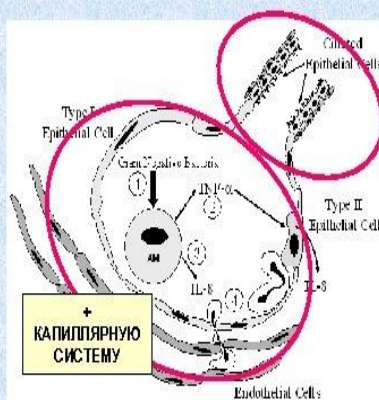


- Вирус попадает в респираторный тракт → в кровь → поражает другие клетки → появляются симптомы
- Через 8 часов количество вирусных частиц достигает 10^3 , а концу первых суток – 10^{23} . Высокую скорость размножения объясняет короткий инкубационный период – 1-2 суток
- Вирус прикрепляется к клетке при помощи гемагглютинаина
- Клеточная мембрана разрушается под действием нейраминидазы, вирусная РНК проникает в клеточное ядро и клетка начинает производить вирусные белки
- Вирус активирует систему протеолиза, повреждает эндотелий капилляров, повышается проницаемость сосудов
- Вирус угнетает кроветворение, иммунную систему → развивается лейкопения → присоединяются осложнения

Молекулярно-генетические особенности вируса гриппа A(H1N1)pdm09

Особенности вируса A (H1N1) pdm09

- Способность к репликации в клетках бронхиол и альвеол
- Развитие бронхолита, альвеолита и тяжелой первичной вирусной пневмонии, приводящих к дыхательной недостаточности, острому респираторному дистресс-синдрому и возможной смерти.
- Наиболее частое осложнение гриппа A (H1N1)pdm09 - пневмония.



Вирус поражает ВЕРХНИЕ (сиалозиды альфа2-6) и НИЖНИЕ ДЫХАТЕЛЬНЫЕ ПУТИ (сиалозиды альфа 2-3)

- Двойная рецепторная специфичность к рецепторам верхних и нижних отделов дыхательных путей повышает вероятность первичной вирусной пневмонии
- Индукция чрезмерного синтеза цитокинов и хемокинов в дендритных клетках, макрофагах, эпителии бронхов приводит к развитию «цитокинового» шторма – генерализованный провоспалительный синдром, инфекционно-токсический шок.



Устойчивость вируса

- Устойчив при низких температурах
- Сохраняется при температуре 4°C в течение 2-3 недель
- Прогревание при температуре 50-60°C вызывает инактивацию вируса в течение нескольких минут
- При действии дезинфектантов – гибель



Эпидемиология

- Ежегодно в мире 10-18% заболевает гриппом, из которых 3-5 млн в тяжелой форме, 700 тысяч погибает
- Источник инфекции – больной человек
- Путь передачи – воздушно-капельный, возможен контактно-бытовой (через руки, носовые платки и т.п.)
- Сохраняется в организме человека – спорадическая заболеваемость
- Постинфекционный иммунитет прочный и длительный, но типоспецифический



История пандемий

- 1889-1891год - пандемия средней тяжести, вызванная вирусом типа H3N2
- 1918-1920гг. – «Испанка», вирус типа H1N1
- 1957-1958 гг. – пандемия «Азиатский грипп» - вирус H2N2
- 1968-1969гг. – «Гонконгский грипп» - вирус H3N2
- 1977-1978 гг. – «Русский грипп» вирус H1N1



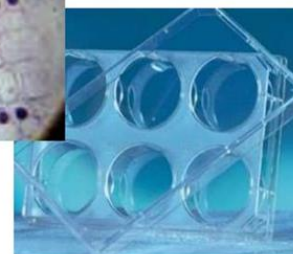
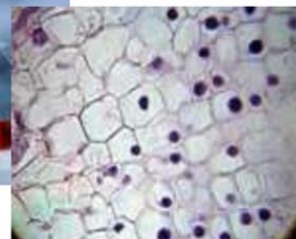
Лабораторная диагностика

- Материал: смывы и мазки из носоглотки в течение 3 дней после начала заболевания
- **Вирусологический метод**
 - Культивирование на 10 дневных куриных эмбрионах в течение 48 часов. Индикация в реакции гемагглютинации
 - Культивирование на культуре клеток. Индикация в реакции гемадсорбции, по бляшкообразованию, по цитопатическому действию (ЦПД), в цветной пробе

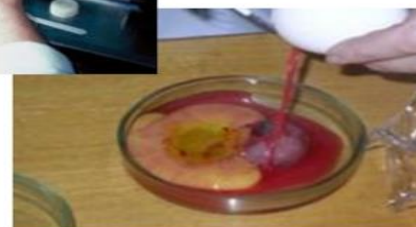
Культивирование вирусов



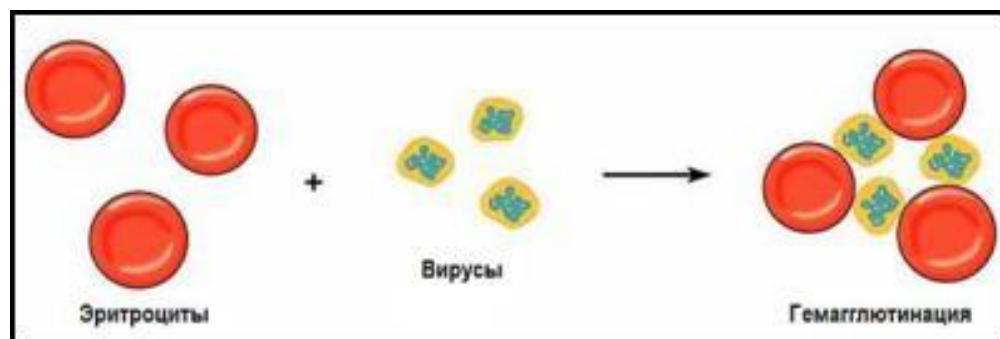
Культивирование вирусов в культуре ткани



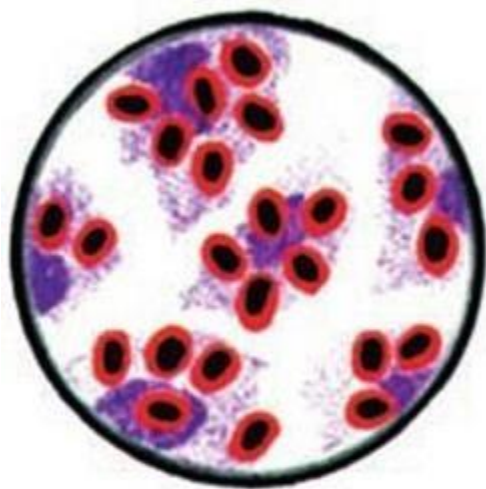
Способы заражения куриного эмбриона



Индикация вируса гриппа в реакции гемагглютинации (при культивировании на КЭ)



**Индикация вируса гриппа в реакции
гемадсорбции, бляшкообразовании (при
культивировании на КК)**



1



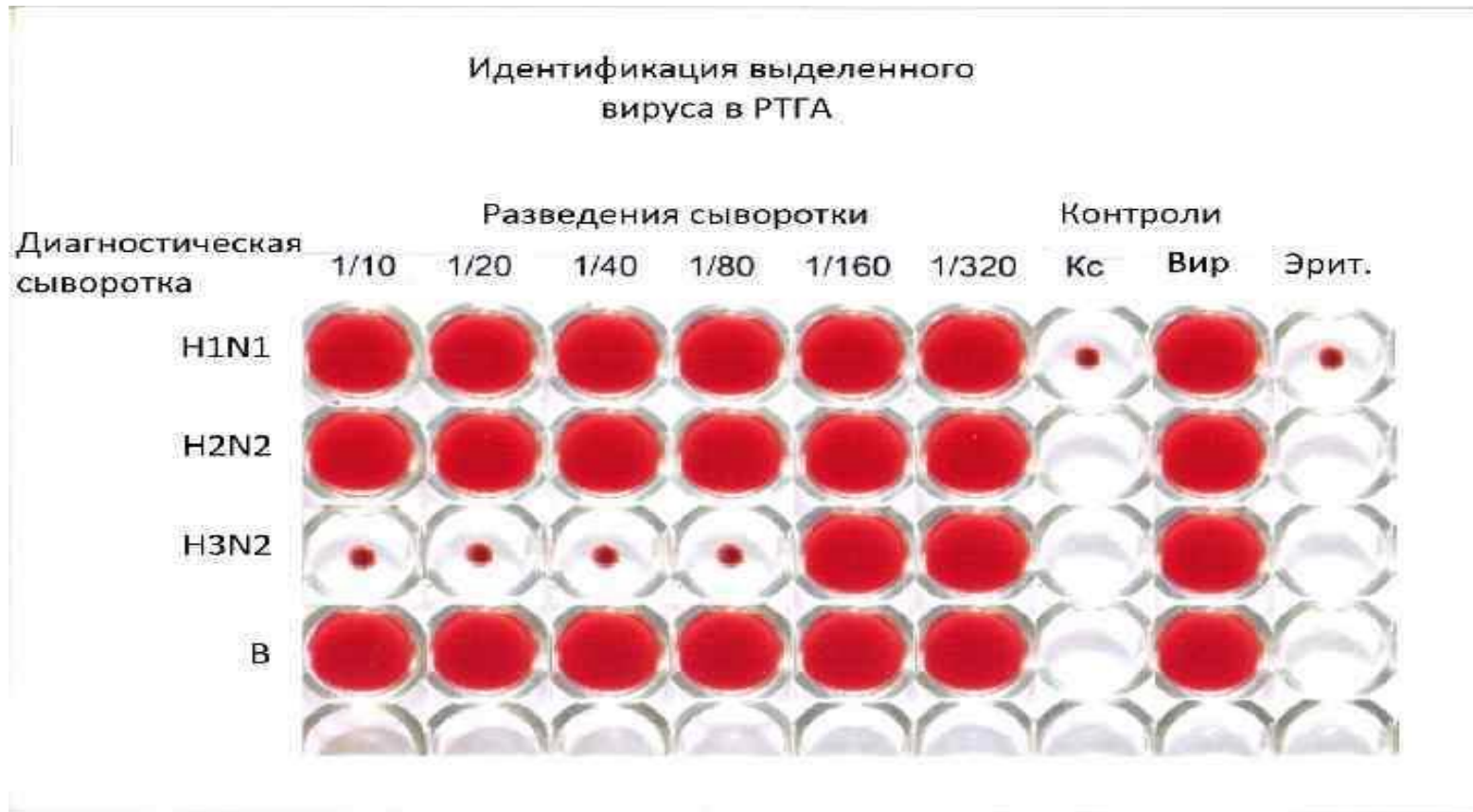
2



Идентификация вируса

- **Реакция связывания комплемента :**
 - Выявление различия между S-антигенами и позволяет узнать тип вируса
- **Реакция торможения гемагглютинации:**
 - определение подтипа вируса. Вирус гриппа агглютинирует человеческие эритроциты, а специфические антитела ингибируют этот процесс
- **Реакция ингибирования нейраминидазы**
- ИФА, РБН

Реакция торможения гемагглютинации





Серологический метод

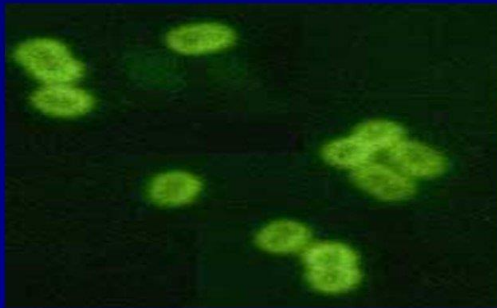
Материал: парные сыворотки

- Наличие анти-гриппозных антител в РСК, РТГА, ИФА в парных сыворотках
- Образец берется в течение 5 дней после начала заболевания
- Образцы выздоравливающего берутся на 10-14 или 21 день после начала заболевания
- Определение титра и роста титра антител в 4 раза и более

Экспресс-методы. Реакция иммунофлюоресценции

МЕТОД ФЛЮОРЕСЦИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ (МФА) или РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ (РИФ)

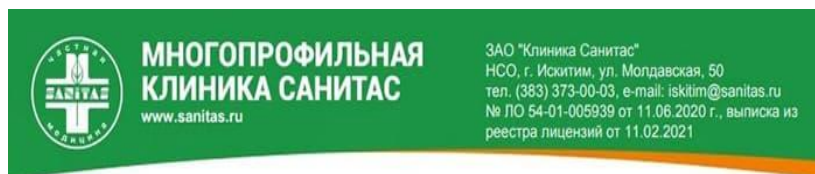
Данный метод является экспрессным и высокочувствительным. При прямом методе к исследуемой взвеси микробов, фиксированной на стекле, добавляют сыворотку, меченную флуорохромом. Образующийся комплекс антиген-антитело при освещении ультрафиолетовыми (сине-фиолетовыми) лучами дает **ярко-зеленое** свечение. Светящийся комплекс выявляют при люминесцентной микроскопии



- Прямое определение антигена: реакция прямой и непрямой иммунофлюоресценции:

Выявление вирусных антигенов в клетках верхних дыхательных путей после их взаимодействия со специфическими антителами

Экспресс-методы. Молекулярно-генетический метод



ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ МЕТОДОМ ПЦР

ПАЦИЕНТ
ИВАНОВ Константин Петрович
ЭМК: 000000

ПОЛ
М

ДАТА РОЖДЕНИЯ
29.02.1987

ВОЗРАСТ
34

ДАТА ИССЛЕДОВАНИЯ
01.12.2021

Параметр	Результат	Ед. измерения	Реф. интервалы
Коронавирус SARS-CoV-2	отрицательный		
Аденовирусы	отрицательный		
Вирус гриппа А	отрицательный		
Вирус гриппа В	отрицательный		
Вирус парагриппа тип 1	отрицательный		
Вирус парагриппа тип 2	отрицательный		
Вирус парагриппа тип 3	отрицательный		
Вирус парагриппа тип 4	отрицательный		
Коронавирус 229Е	отрицательный		
Коронавирус HKU1	отрицательный		
Коронавирус NL63	отрицательный		
Коронавирус OC43	отрицательный		
Металневмовирус (MPV)	отрицательный		
Респираторно-синцитиальный вирус (RSV)	отрицательный		
Риновирусы (HRV)	отрицательный		

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫПОЛНИЛ
Романов В.В



Результат исследования не является диагнозом.
Воздержитесь от самостоятельной трактовки
результата.
Обратитесь к вашему лечащему врачу -
терапевту, хирургу, педиатру, гинекологу и др.

- ПЦР с обратной транскрипцией.
Выявление нуклеотидных последовательностей :
- Грипп А/В,
- ОРВИ Скрин (16 возбудителей ОРВИ)
- SARS-CoV-2/Грипп А/В/RSV
- SARS-CoV-2/Грипп А/В

Экспресс-методы.

Иммунохроматографический метод

- определение антигенов вирусов гриппа (А и В) в носоглоточных выделениях

РЕЗУЛЬТАТЫ ИХА-ТЕСТА





Этиотропная терапия. Механизм действия противовирусных препаратов

- **Ингибиторы слияния вируса с клеткой:** ингибирование специфического белка гемагглютинина- умифеновир (Арбидол); влияние на структуру и рецепторсвязывающие функции гемагглютинина – Энисамия йодид (Нобазид)
- **Ингибитор репликации** (кап-зависимой эндонуклеазы) – Балоксавир марбоксил (Ксофлюза)
- **Ингибиторы репликации**, повышения экспрессии рецептора интерферона 1 типа, увеличение плотности рецепторов к интерферону – Имидазолинэтинамид (Ингавирин)
- **Ингибиторы ионных каналов белка M2**, ингибиторы репродукции вируса – ремантадин, амантадин
- **Ингибиторы нейраминидазы** – Осельтамивир (Тамифлю), Занамивир (Реленза)



Иммунотропные препараты и иммуноглобулины

- Альфа- Интерферон – 2b (природный (лейкоцитарный) и рекомбинантный (гриппферон, виферон и др.). Механизм: Неспецифическое угнетение репродукции вируса и активация естественных киллеров
- Индукторы эндогенного интерферона (амиксин, циклоферон, неовир, кагоцел)
- Технологически обработанные антитела к гамма-интерферону, гистамину, CD4 (анаферон, эргоферон, рифамин) –Запускает каскад реакций гуморального противовирусного иммунитета, включает клеточный противовирусный иммунный ответ, оказывает выраженное противовоспалительное действие
- Противогриппозный донорский иммуноглобулин и нормальный человеческий иммуноглобулин



Профилактика специфическая

- **Живая** вакцина (содержит ослабленные вирусы) для интраназального применения (Ультеравак, Россия)
- **Инактивированные** вакцины подразделяются на
 - **цельновирсионные, расщеплённые и субъединичные.**
- **Цельновирсионные** вакцины содержат инактивированные высокоочищенные неразрушенные (цельные) вирионы вируса гриппа.
- Сплит-вакцины или расщеплённые содержат разрушенные инактивированные вирионы вируса гриппа — в её состав входят все вирионные белки вируса, не только поверхностные, но и внутренние антигены. За счёт высокой очистки в ней отсутствуют вирусные липиды и белки куриного эмбриона (Ультрикс, Россия).
- **Субъединичные** вакцины состоят лишь из двух поверхностных вирусных белков, гемагглютинина и нейраминидазы, которые наиболее важны для индукции иммунного ответа против гриппа (Гриппол, Россия).

Остальные белки вириона и куриного эмбриона удаляются при очистке.

Типы вакцин





Вакцинация от гриппа 2023-2024

Состав 4-валентной вакцины

- вирус, подобный A/Victoria/4897/2022 (H1N1)pdm09;
- вирус, подобный A/Darwin/9/2021 (H3N2);
- вирус, подобный B/Austria/1359417/2021 (линия B/Victoria); и
- вирус, подобный B/Phuket/3073/2013 (линия B/Yamagata).

Профилактика неспецифическая

- Препараты, способствующие выработке эндогенного интерферона и повышающие иммунитет
- Занятие спортом
- Закаливающие процедуры
- Ношение масок
- Дезинфекция
- Мытье рук





Профилактика «птичьего» гриппа

- Уничтожение больных птиц
- Дезинфекция
- Термическая обработка мяса птиц и яиц
- Вакцинация домашней птицы
- Разработка вакцины для человека



Вопросы для самоподготовки

1. Основные возбудители ОРВИ?
2. Опишите структуру парамиксовирусов.
3. Таксономия вирусов гриппа.
4. Антигенная структура вирусов гриппа А, В, С.
5. Устойчивость вирусов гриппа во внешней среде.
6. Принцип международной системы кодировки вирусов гриппа.
7. Опишите механизм антигенной изменчивости: антигенный дрейф, антигенный шифт.
8. Эпидемиология гриппа.
9. Патогенез гриппа.
10. Вирусологическая и экспресс диагностика гриппа.
11. Серологическая диагностика гриппа.
12. Лечение и профилактика гриппа.



Литература:

ОСНОВНАЯ:

- **Медицинская микробиология, вирусология и иммунология** : в 2 т. : учебник / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022.
- **Микробиология, вирусология. Руководство к практическим занятиям** : учебное пособие / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ:

Микробиология, вирусология: учеб.-метод. пособие для студентов, обучающихся по специальности 31.05.01 Лечебное дело / авт.-сост. Г.Ш.Исаева, А.Н.Савинова, Л.Т. Баязитова, С.А. Лисовская, П.Е.Гуляев, Р.И. Валиева, Н.М. Хакимов - Казань: КГМУ, 2019

Клинические рекомендации «Грипп у взрослых» (МЗ РФ, 2022)

Методические рекомендации "Грипп и другие ОРВИ в период продолжающейся пандемии COVID-19: профилактика и лечение" (ФМБА, 2022)

Методические рекомендации МР 3.1.2.0304-22 "Лабораторная диагностика острых респираторных инфекций, в том числе гриппа и COVID-19 в условиях их смешанной циркуляции" (Роспотребнадзор, 2022)



Интернет ресурсы

<https://grippol.ru/flu/influenza-b/>

<https://www.influenza.spb.ru/>

<https://microbius.ru>



Благодарю
за внимание!