Вирусные кишечные инфекции

Острые кишечные инфекции – группа инфекционных заболеваний с фекально-оральным механизмом заражения, вызываемых патогенными и условно-патогенными бактериями, вирусами и простейшими.

Острые кишечные инфекции (ОКИ) представляют одну из серьезнейших проблем здравоохранения, актуальную для всех стран Земного шара

По данным ВОЗ в мире ежегодно регистрируют до 1-1,2 млрд. диарейных заболеваний

~5 млн. детей ежегодно умирают от кишечных инфекций и их осложнений

В России заболеваемость ОКИ устойчиво занимает второе место после ОРВИ в инфекционной патологии

- По данным Роспотребнадзора в Российской Федерации в последние годы:

- заболеваемость ОКИ составляла в среднем около 280,0 на 100 тысяч населения,

- заболеваемость ОРВИ

от 11000,0 до 13000,0 на 100 тысяч населения.

Этиология ОКИ

Возбудители ОКИ

Бактерии:

Salmonella

Campylobacteriosis Shigella

E.coli

Clostridium

Простейшие:

Lamblia Giardia

Kriptosporidium

Amoeba

Trichinella

Вирусы:

70% ОКИ

Rotavirus

Norovirus

Astrovirus

Adenovirus

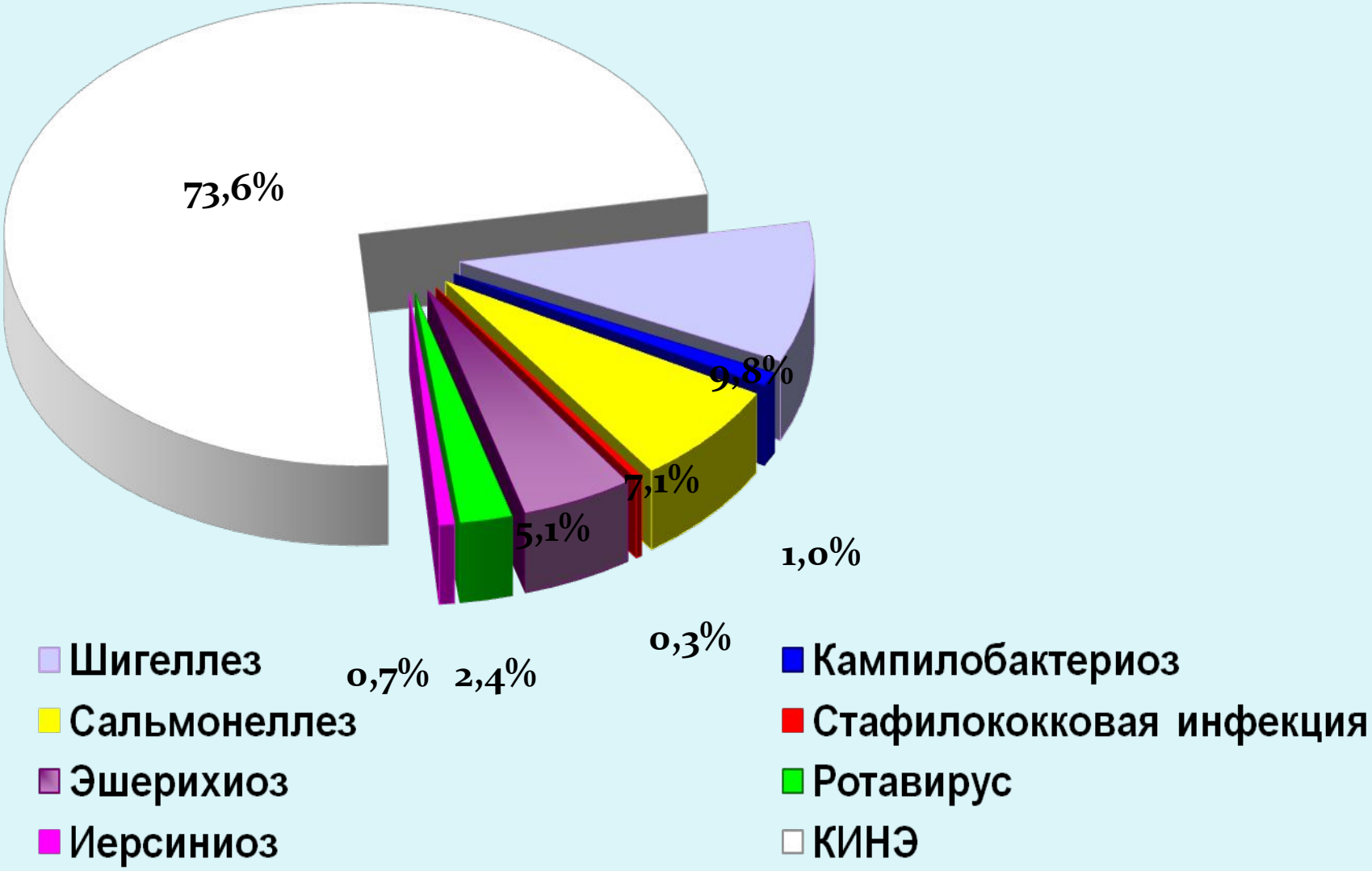
Enterovirus

Sapovirus

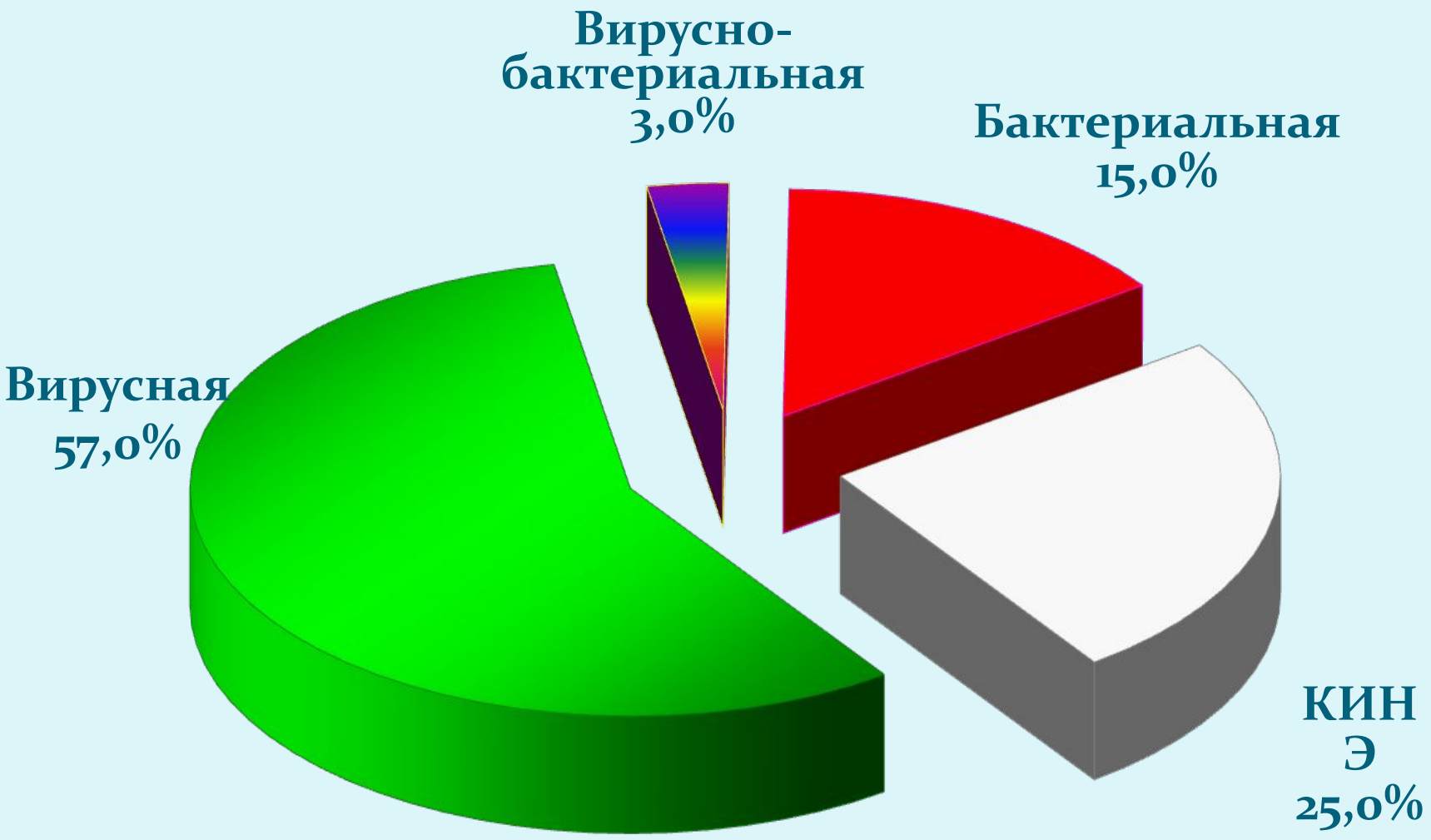
Coronavirus

Несмотря на достигнутые успехи в изучении ОКИ их этиология в 70-80% случаев остается <u>не установленной</u>, что связано с преобладанием вирусного поражения кишечника в 50-80% случаев

Этиология ОКИ у детей (у амбулаторных больных)



Этиология острых кишечных инфекций у детей (в стационаре)



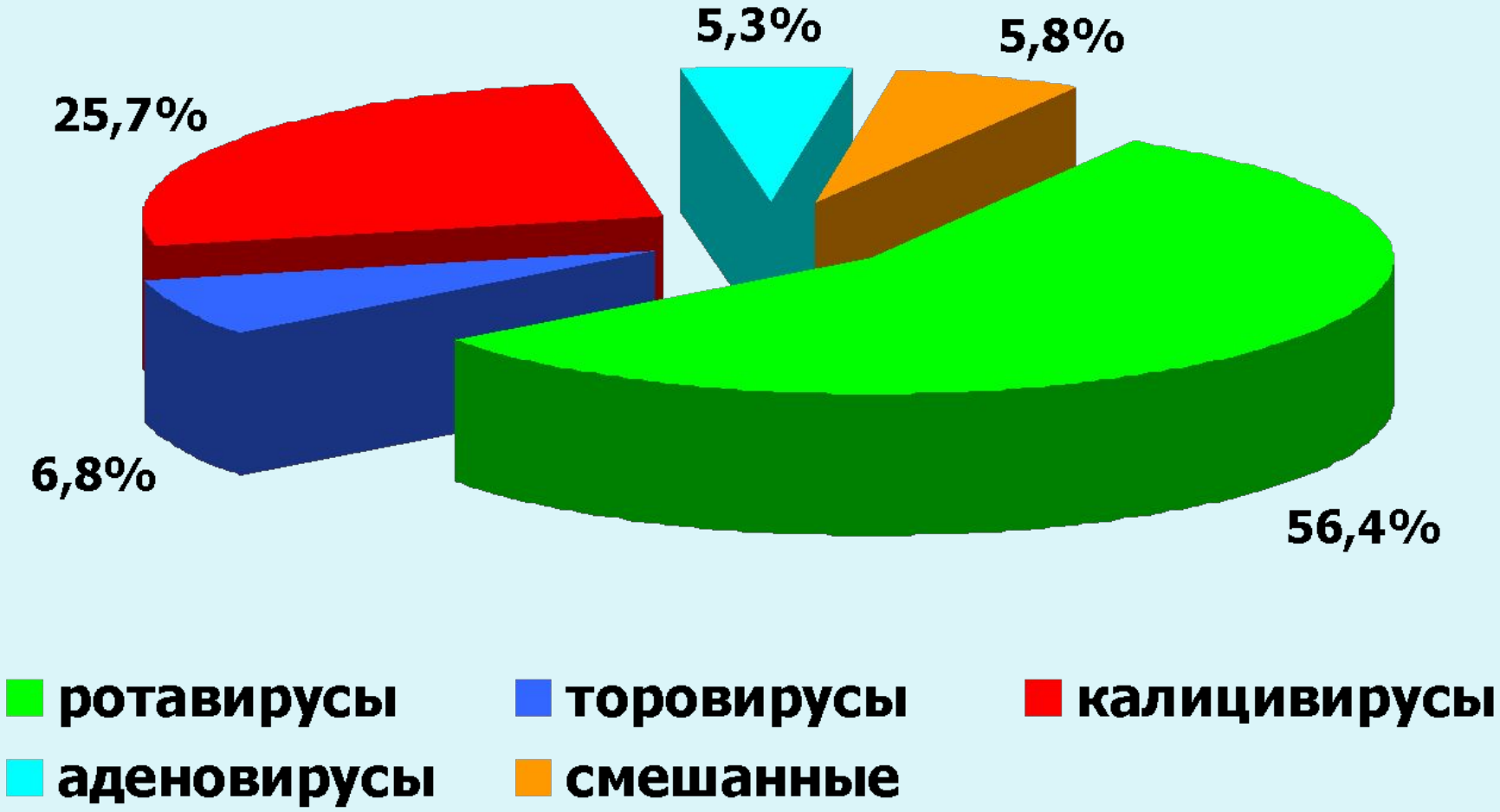
Мнение о том, что вирусы вызывают гастроэнтерит, было высказано в 40-х годах XX века, но впервые вирус в фекалиях был идентифицирован лишь в 1972 году Kapikian после вспышки диареи

Возбудители вирусных гастроэнтеритов

- ротавирусы (6,0–83,0%),
- калицивирусы (8,6-45,0%),
- аденовирусы (1,9–27,0%),
- астровирусы (2,1-7,9%),
- торовирусы (6,8%),
- коронавирусы (1,6%),
- энтеровирусы (2,5–32,4%) и др.

Список вирусных агентов, вызывающих кишечные расстройства, постоянно растет (обнаружено, что пикобирнавирусы и пестивирусы, вызывающие диарею у животных, являются возбудителями вирусного гастроэнтерита у людей)

Распространенность различных вирусных возбудителей ОКИ



Тихомирова О.В. ФГУ НИИ детских инфекций

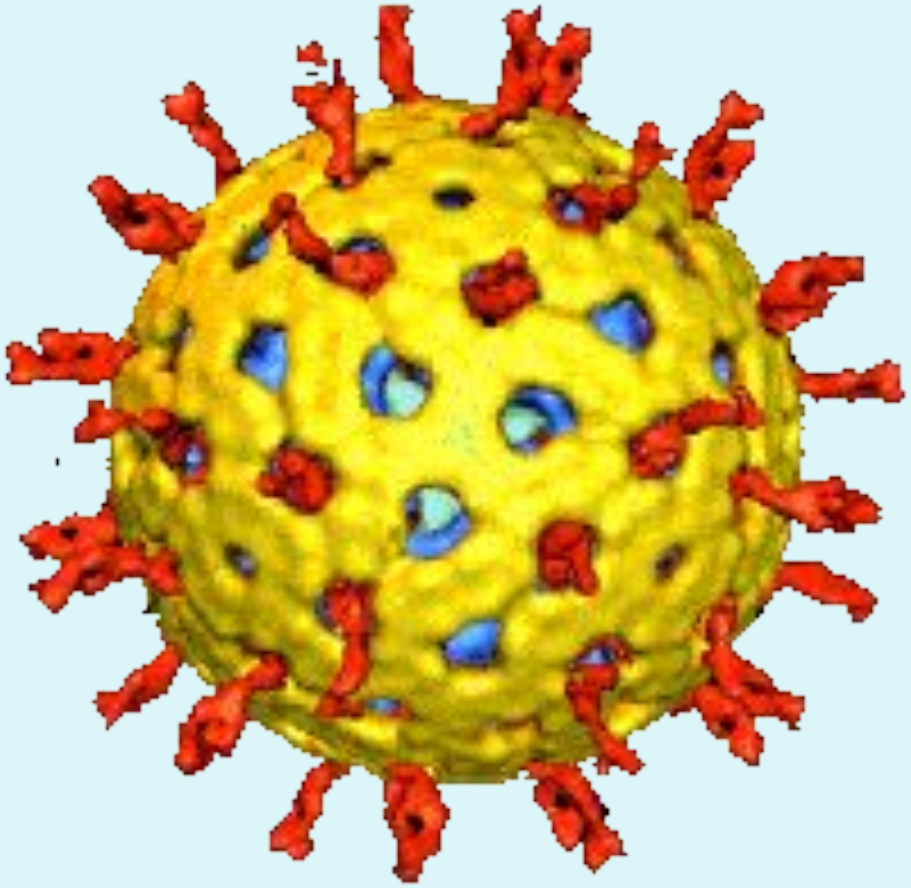
Структура вирусных гастроэнтеритов

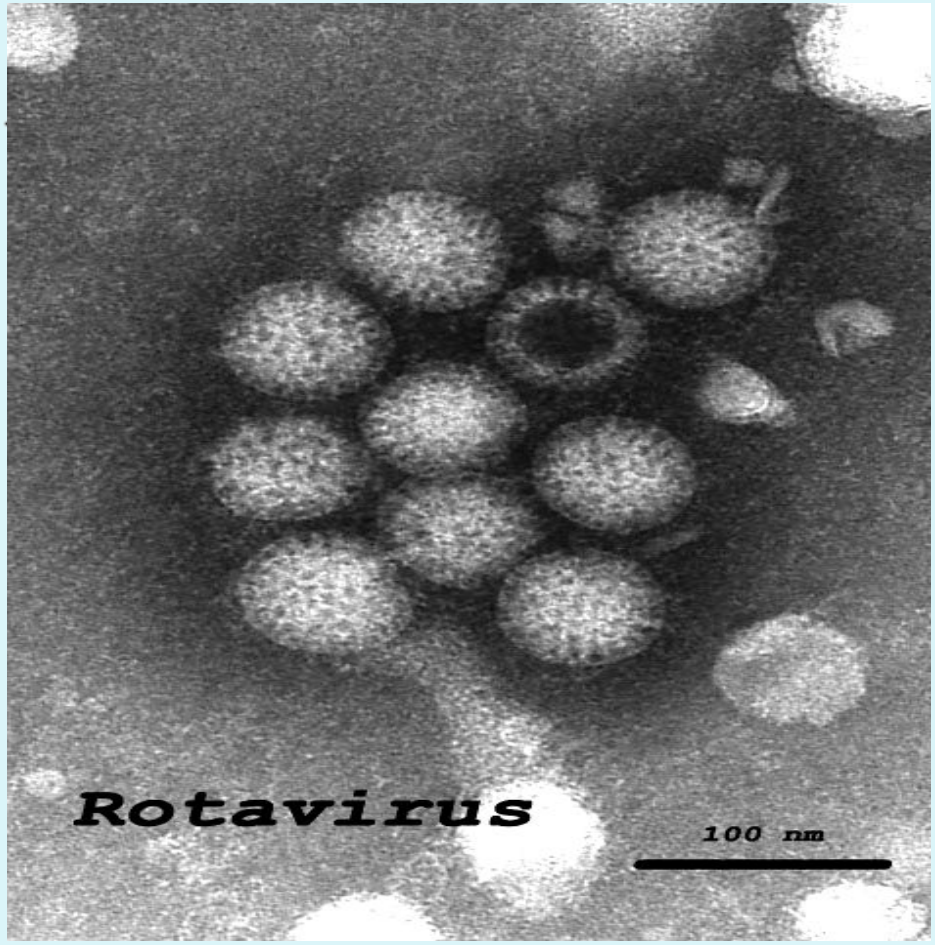
Ротавирусы	**40% у детей,** Тикунова Н.В. с соавт., 2007г. **14% у взрослых ,** Грачева Н.М.с соавт., 2004г.
Калицивирусы (норовирусы)	**17%,** Тикунова Н.В. с соавт., 2007г.
Энтеровирусы (Коксаки, Echo)	**25%,** Калашникова Е.А., 2000г
Аденовирусы 40 и 41 серотипа	**5,4%, у детей до 17%** Козина Г. А., 2010г
Астровирусы	**2,2%,** Епифанова Н. В., 2004г
Коронавирусы	**0,1%,** Блохина Т.А., 2000г

Ротавирусы

Выделен в 1973 г. Bishop из слизистой двенадцатиперстной кишки у детей с гастроэнтеритом

Вирусная частица напоминает колесо с широкой ступицей, короткими спицами и четко очерченным ободом, отсюда название рода (от лат. rota – колесо).



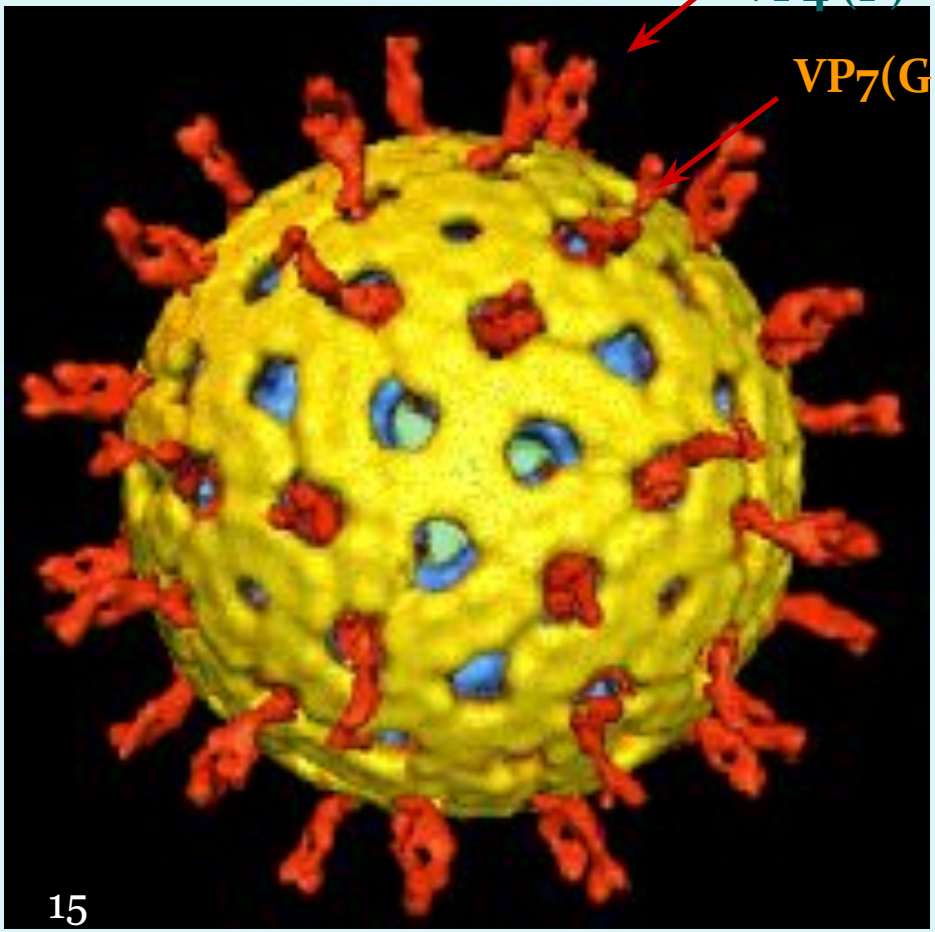


Семейство Reoviridae - от английского respiratory enteric orphan viruses (семейство вирусов человека, животных и растений)

- Род Orthoreovirus
- Род Orbivirus
- **Род Rotavirus**
- Род Coltivirus
- Род Aquareovirus
- Род Cypovirus
- Род Fijivirus
- Род Phytoreovirus
- Род Oryzavirus

Ротавирус

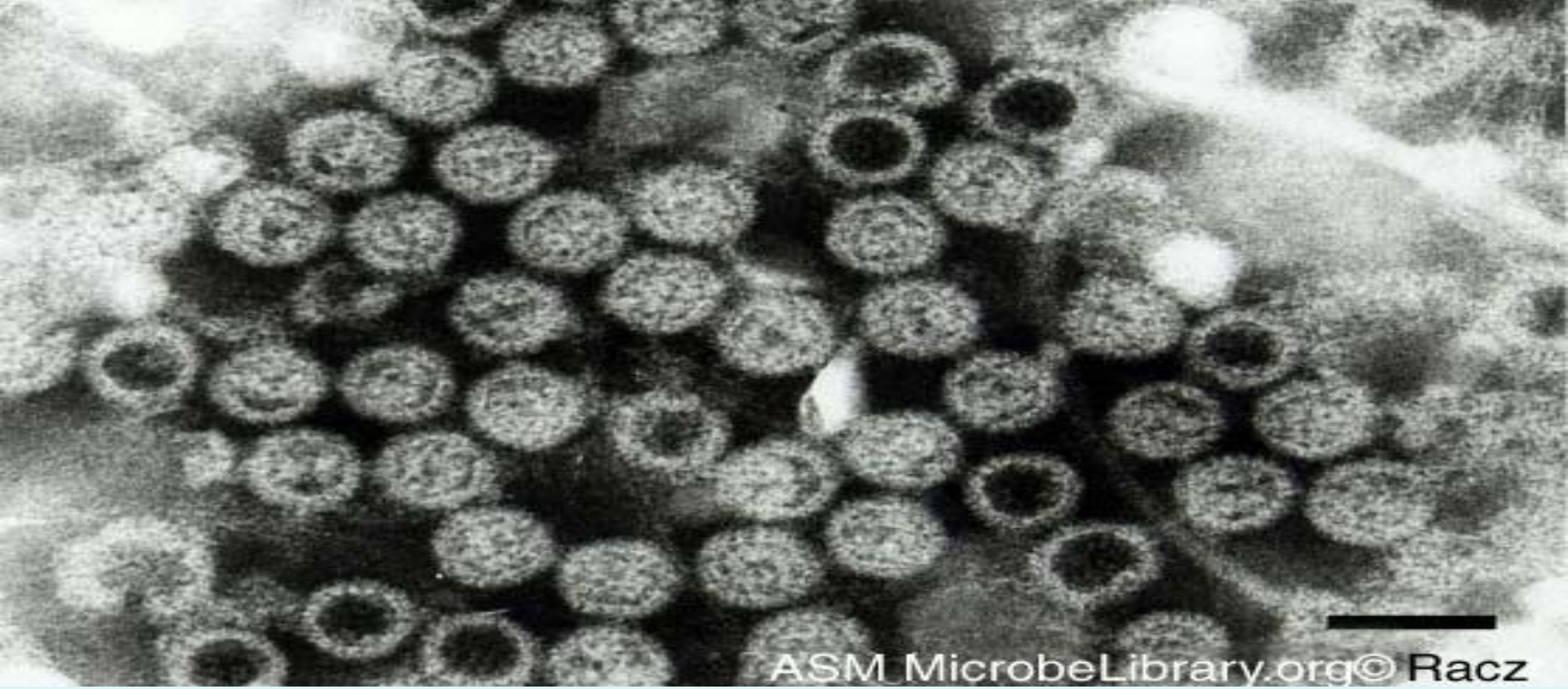
- Ротавирус подразделяется на 7 групп: A, B, C, D, E, F, G
- Ротавирусы группы **A** – вызывают 90% случаев заболевания у людей
- Белки внешней оболочки **VP4 и VP7** определяют принадлежность вируса к серотипу **P** или **G**
- Белки **VP4** и **VP7** вызывают выработку нейтрализующих антител



Parashar UD, *et al. Emerg Infect Dis* 1998; 4: 561–70.

Классификация ротавирусов (по Beards I.M., 1992; Molyneaux P.J., 1995)

Группа (VP6)	A (90,0%) B C D E F G
Подгруппы ротавирусов А	I, II ; I+ II, ни I ни II
1. G серотип (VP7) 2. P серотип (VP4)	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11



Вирусные частицы обладают определенным полиморфизмом, поэтому в копроматериалах при использовании криоэлектронной микроскопии выявляются несколько видов частиц:

зрелые (“полные”) вирионы, обладающие ядром и полным набором оболочек;

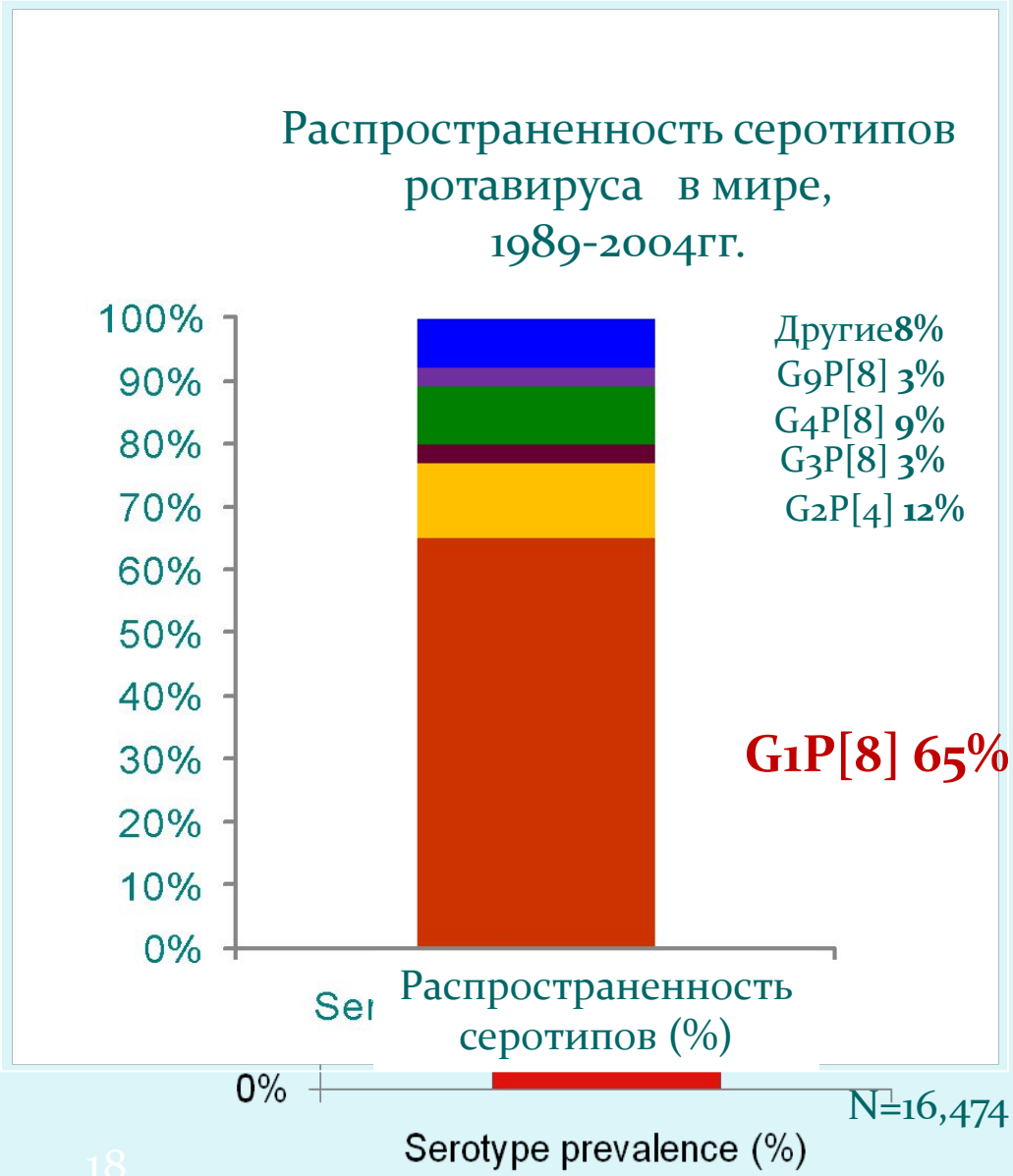
пустые или “неполные” вирионы - одно- или двухоболочечные, а также ядра без оболочек и тубулярные образования.

Распределение штаммов ротавируса в мире

- **G1P[8]** вызывает **65%** ротавирусных гастроэнтеритов в мире[1]

- 5 штаммов ротавируса – причина >90% случаев ротавирусного гастроэнтерита[1]
  - G1P[8]
  - G2P[4]
  - G3P[8]
  - G4P[8]
  - G9P[8]

- Ежегодно соотношения штаммов в географических регионах мира изменяется[1]



1. Santos N and Hoshino Y. *Rev Med Virol* 2005; **15**: 29–56.

Физико-химические свойства ротавирусов

- Инфекционная активность ротавируса стабильна при pH 3.0 - 11,0.
- **Устойчивы к факторам внешней среды, дезинфицирующим растворам, хлороформу, эфиру, кислой среде, длительно сохраняются в фекалиях.**
- **При повторном замораживании сохраняют жизнеспособность в течение многих месяцев, но погибают при кипячении.**
- Эффективный дезинфектант – 50-70% спиртовой раствор этанола.

Культуральные свойства ротавирусов человека

- В **отличие от ротавирусов животных, плохо культивируются в клеточных системах, их адаптация к культуре клеток чрезвычайно сложна.**

- **Используются различные способы усиления вирусной репродукции в культуре клеток с <u>использованием физических и химических факторов (центрифугирование, покачивание, тепловое воздействие, влияние протеолитических ферментов и диметил-сульфоксида и др.).</u>**

Изменчивость ротавирусов

- В человеческой популяции одновременно циркулирует огромное число различных вариантов ротавирусов, что обусловлено их генетической пластичностью, изначально присущей РНК-геномным вирусам.
- Социркуляция ротавирусов различных штаммов и типов создает основу для формирования смешанных популяций и реассортантных штаммов, характеризующихся различными сочетаниями генов.
- Ротавирусы обладают двумя типами изменчивости: **дрейф и шифт**, которые происходят повсеместно, но наиболее часто в странах с интенсивным эпидемическим процессом (Юго-Восточной Азии, Африке и Южной Америке).

Эпидемиология

Источник инфекции

Больной | Вирусоноситель

Механизм

Фекально-оральный

Пути

Водный | Пищевой | Контактный | Аэрогенный

Восприимчивый организм

Ротавирус инфицирует 95% детей до 5 лет в мире

- Ротавирус **высококонтагиозный** – только 10-100 вирусов необходимо для инфицирования
- Путь распространения: **фекально-оральный – контактно - бытовой**

(допускается воздушно-капельный)

выделяется 10 триллионов вирусов в 1 грамме²

НОСИТЕЛЬСТВО !

- **Очень устойчив во внешней среде**

(особенно в питьевой воде)

- Санитарно-гигиенические мероприятия **частично влияют** на распространение инфекции

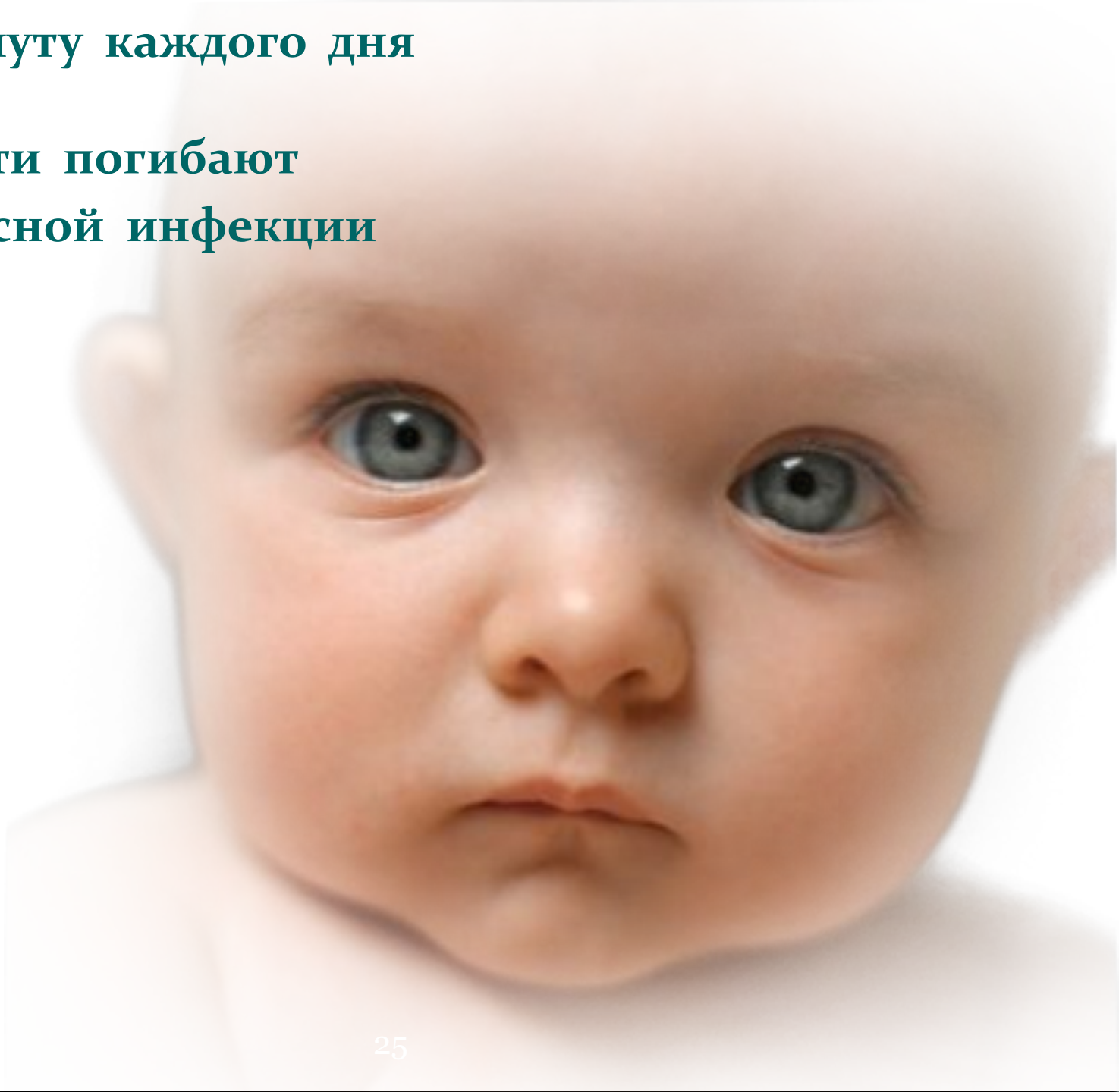
Восприимчивость всеобщая

- **Дети первых 5 лет жизни наиболее часто болеют RV гастроэнтеритами, выполняя роль "пускового механизма" различных проявлений эпидемического процесса.**
- **На втором месте по заболеваемости - взрослые старше 60 лет.**
- **Практически каждый человек переболевает RV инфекцией, что подтверждается обнаружением специфических противоротавирусных антител – иммуноголобулинов G (IgG) у 60-90% детей уже в 6-летнем возрасте.**
- **Заражающая доза (в пределах 10 вирусных частиц).**

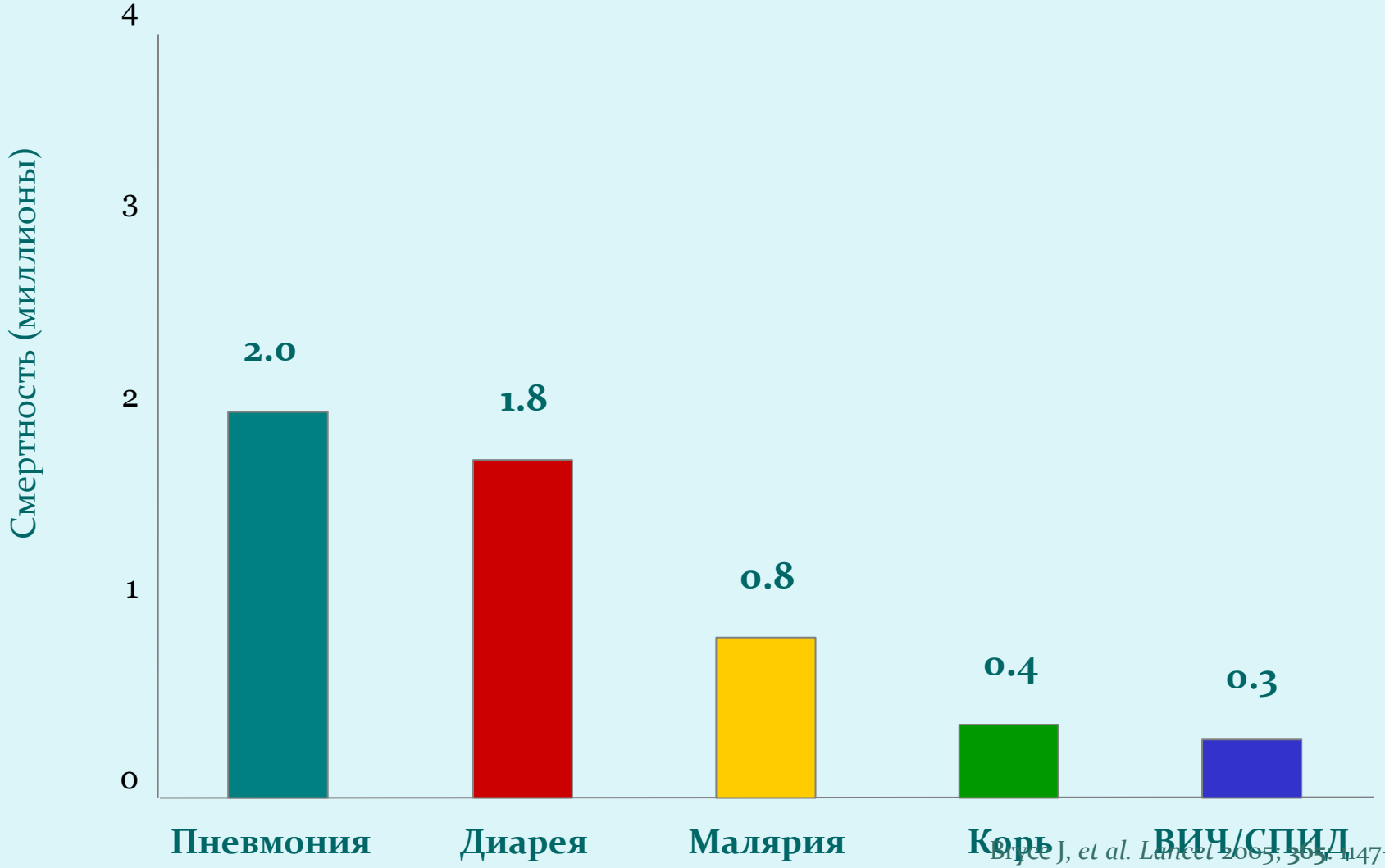
В 1 грамме фекалий обнаруживают до 10 миллиардов вирусов.

Каждую минуту каждого дня

... в мире дети погибают от ротавирусной инфекции



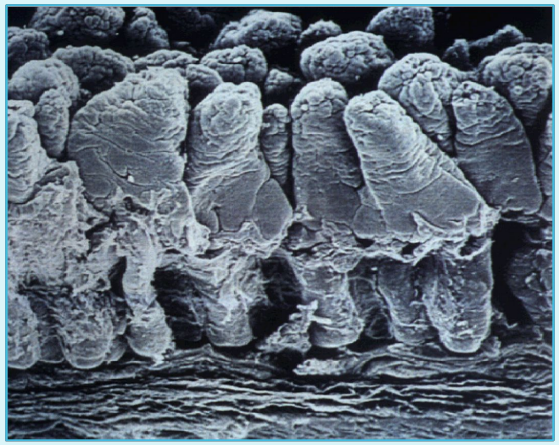
Диарея - вторая по частоте причина смерти детей <5 лет в мире



Bryce J, *et al. Lancet* 2005; 365: 1147–52.

Ротавирусный гастроэнтерит: патогенез

Ротавирус проникает в эпителий 12-перстной кишки



Повреждение ворсинок тонкого кишечника

Выделение вирусного энтеротоксина

Активация нервной системы кишечника

Уменьшение площади всасывания

Потеря воды и электролитов

ДИАРЕЯ
ТОШНОТА
РВОТА

*

Ротавирус

- Выделение возбудителя длится **до 21 дня**
- Инкубационный период ≈ **2 дней**
- Длительность симптомов **2- 6 дней**

Симптомы

✔Диарея водянистая, без примеси крови
✔ Тошнота, рвота
✔ Дегидратация
✔ ↑ Температуры тела
✔Боль в эпигастральной области
✔ Общая интоксикация

Ротавирусный гастроэнтерит - причина госпитализаций

Осложнения

- *Тяжелая дегидратация*
- *Вторичная бактериальная инфекция*

Ротавирусный гастроэнтерит - лабораторная диагностика

- Иммуноферментные методы (определение антигена в образцах стула)
- ПЦР (определение ДНК вируса в образцах стула) -
- серологический (определение антител в крови, IgM)
- *Иммуно-хроматографические полоски (для скрининг – диагностики)*

Диагностика РВИ

Обнаружение антигена РВ методом ИФА обеспечивает быструю, высокочувствительную диагностику данных инфекций.

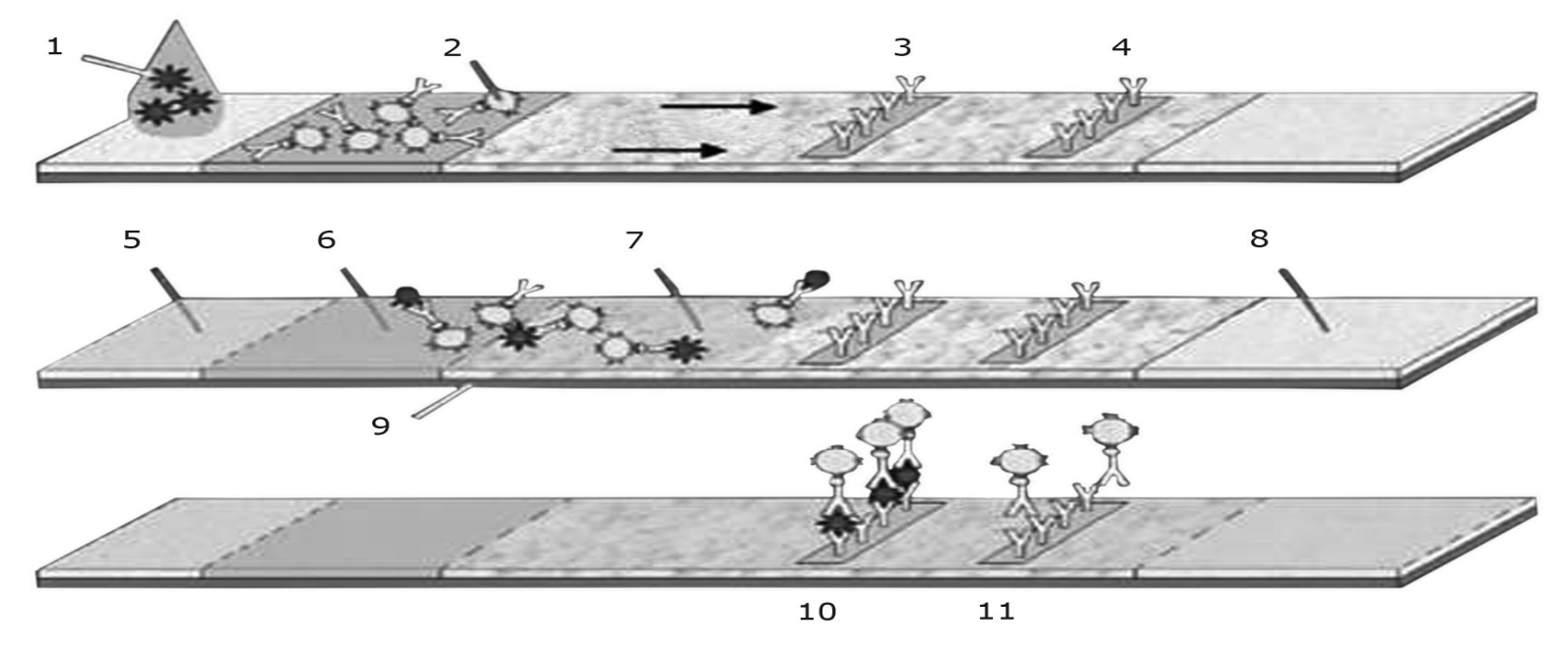
- ПЦР (полимеразная цепная реакция)

ИФА- диагностика РВИ

- У детей выявление АГ ротавируса возможно с 1-го дня инфекции до 10-60 дней заболевания
- Антиген у взрослых определяется в копроматериале с 1 дня заболевания до 7-10 дня болезни.

Предназначен для выявления АГ ротавируса группы А: в фекалиях больных, контактных лиц; в воде.

Рис. . Принцип работы иммунохроматографического экспресс-теста. 1 – образец, содержащий аналит; 2 – конъюгат; 3,4 – иммобилизованные антитела (тестовая и контрольная полосы); 5 – подушечка для образца; 6 – подушечка для конъюгата; 7 – мембрана; 8 – подушечка для абсорбции реагентов; 9 – подложка для мембраны; 10 – тестовая полоса: положительный результат; 11 – контрольная полоса: достоверный результат теста.



combi

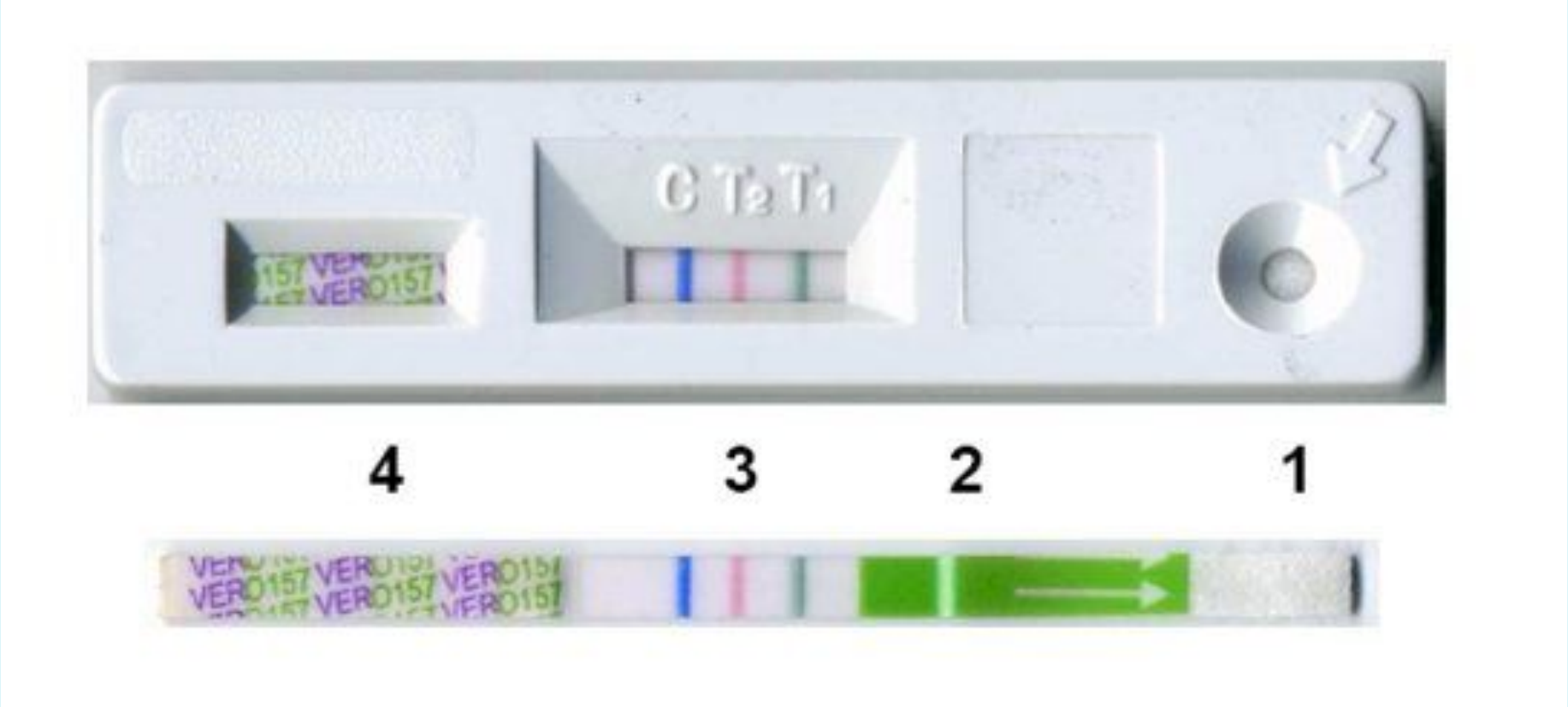
Формат теста: вверху – тест-кассета, внизу – тест-полоска.

1 – участок внесения образца.

2 – участок расположения конъюгата.

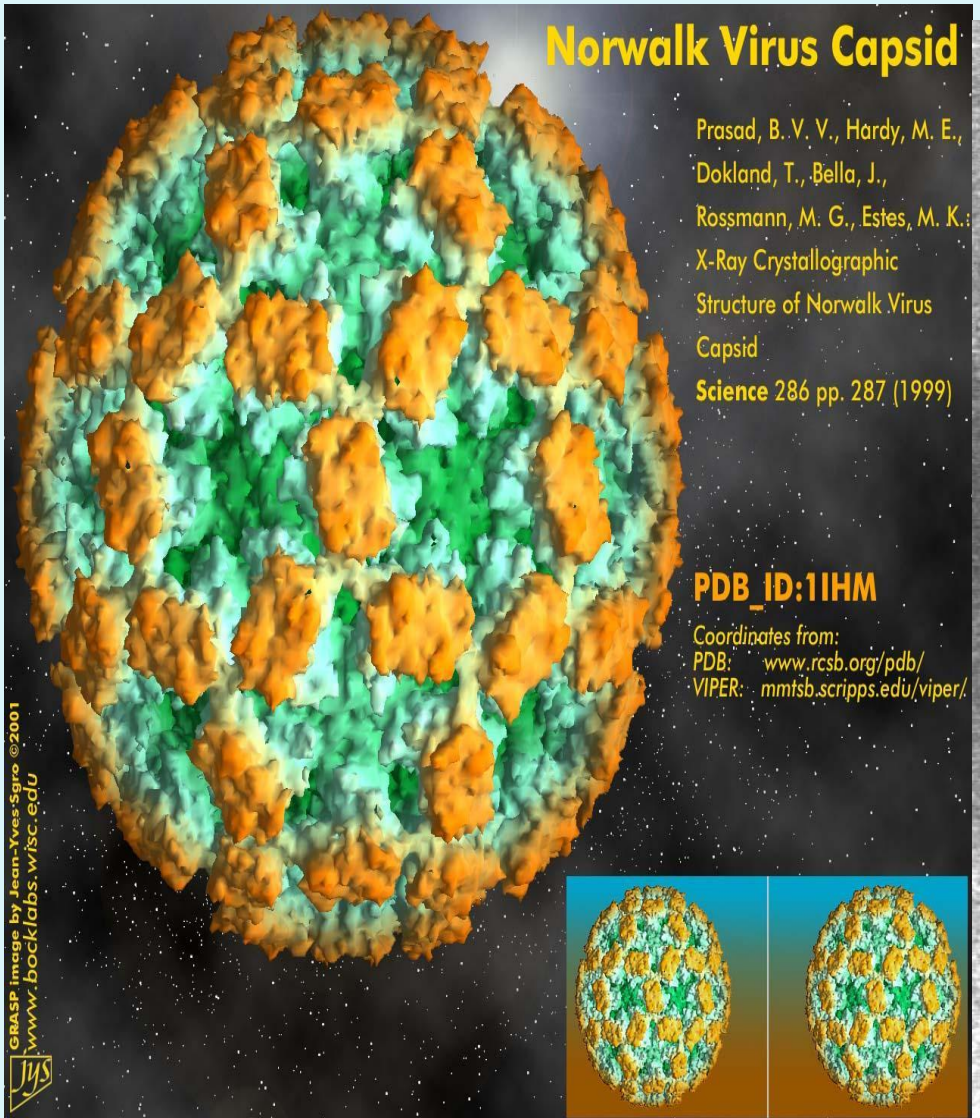
3 – реакционная зона; слева направо – контрольная полоса (С); тестовая полоса, свидетельствующая о наличии в образце веротоксина (Т2); тестовая полоса, свидетельствующая о наличии антигенов штамма О157 (Т1).

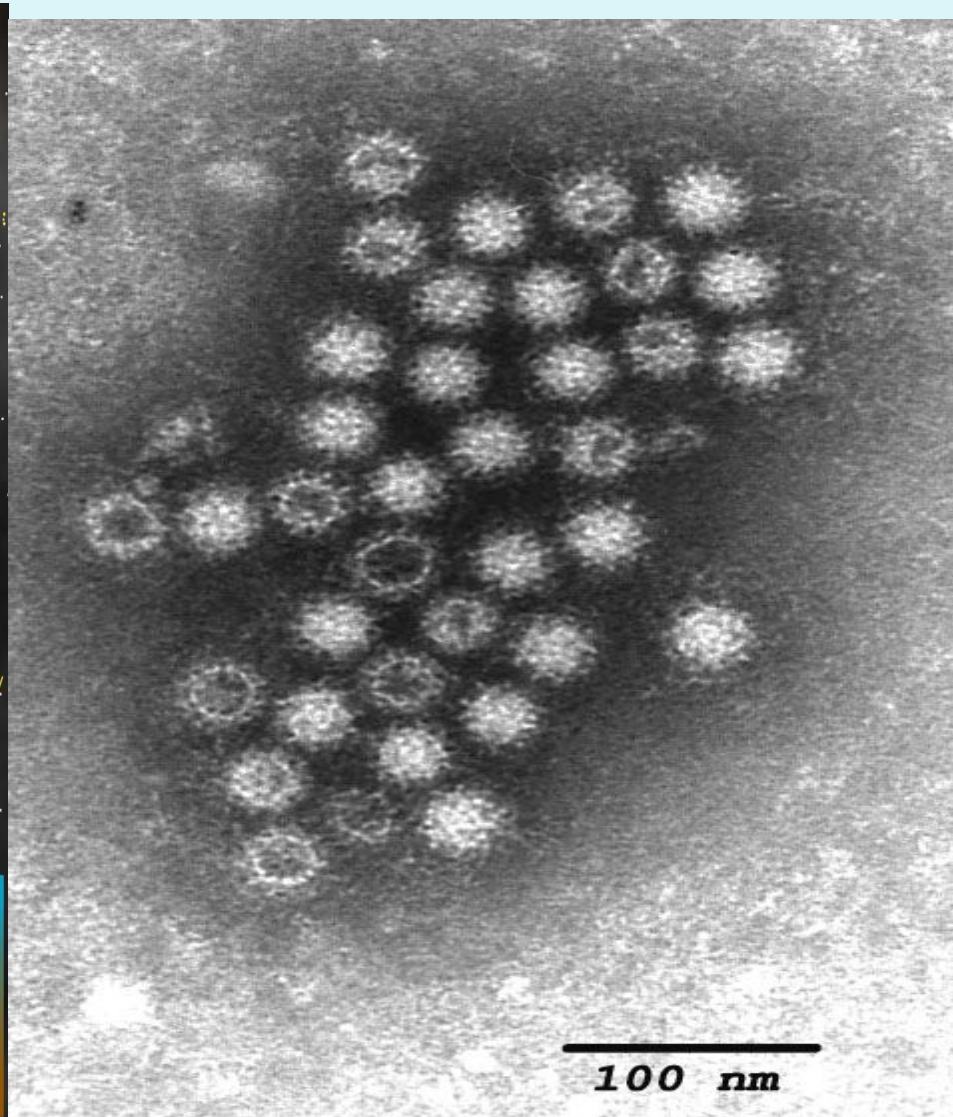
4 – участок абсорбции реагентов (закрыт пленкой с названием теста).



Калицивирусы

Норовирусы были первыми вирусами, идентифицированными как возбудители ОКИ (в 1972 году Kapikian)





Классификация

Семейство Калицивирусов

Норовирусы

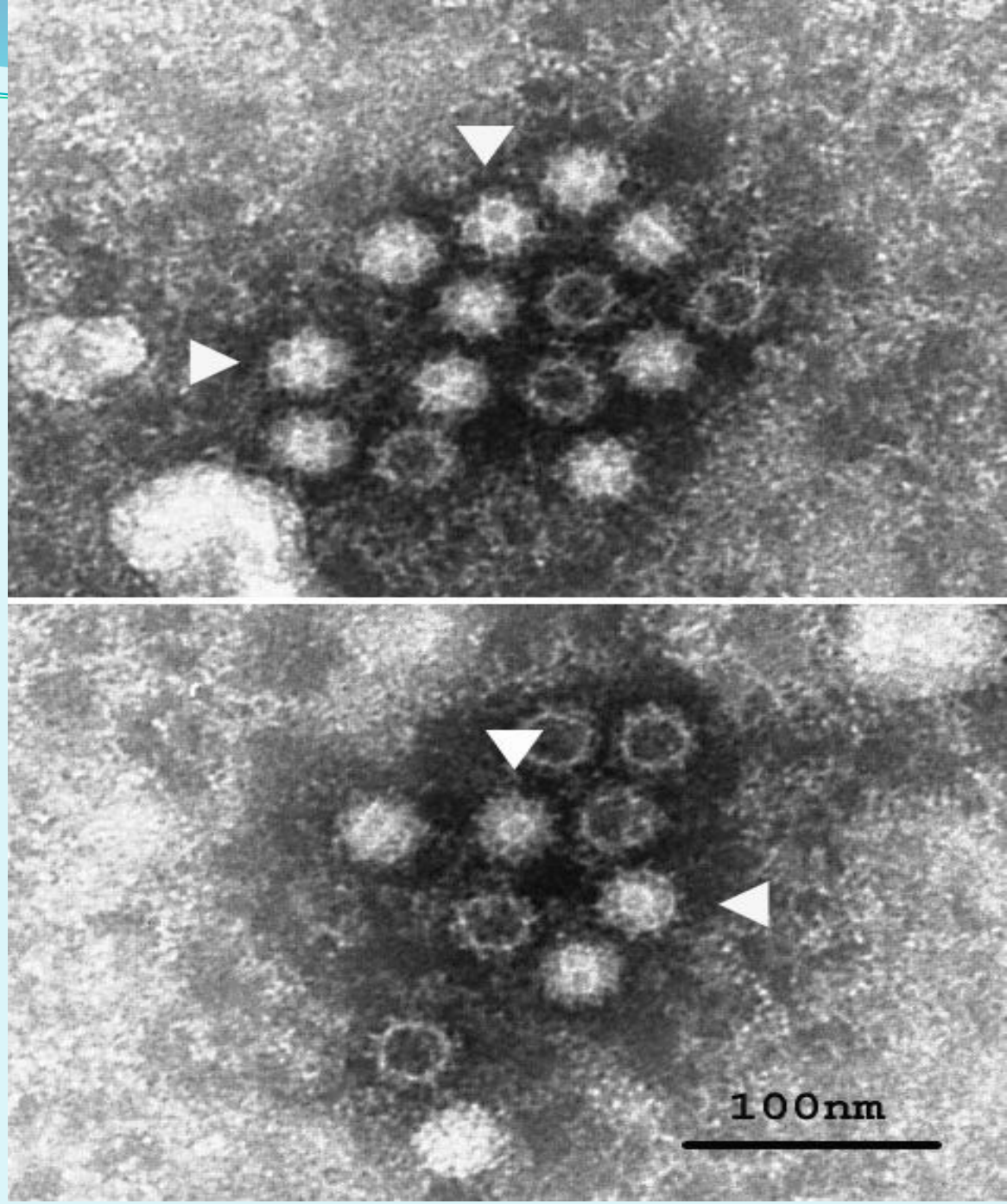
Саповирусы

Лаговирус

Везивирус

Патогенны для человека

Саповирусы
выделены в отдельный род в 1997 году
до 2002 года назывались Sapo-like viruses (SLV)
размер 35-39 нм (разделены на 3 генетические группы)



Норовирусы

- были первыми вирусами, идентифицированными как возбудители ОКИ (в 1972 году Kapikian) в результате иммуноэлектронной микроскопии консервированных проб фекалий от пациентов во время вспышки острого гастроэнтерита среди школьников начальной школы в ноябре 1968 г.

-Первоначально назывался по местности Норволк, штата Огайо.

-Клонирование и секвенирование генома вируса Норволк показало, что эти вирусы имеют такую же геномную организацию как семейств Caliciviridae.

-Название норовирус (род - Норовирус) было утверждено Международным комитетом по таксономии лишь в 2002 году.

Норовирусы

Норовирусы делят на две геногруппы:

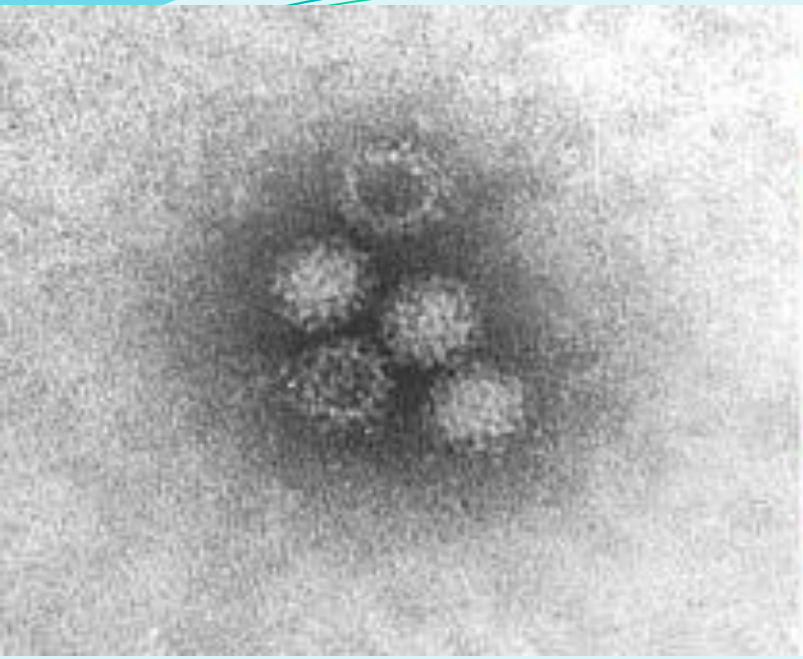
Геногруппа I (GI) включает:

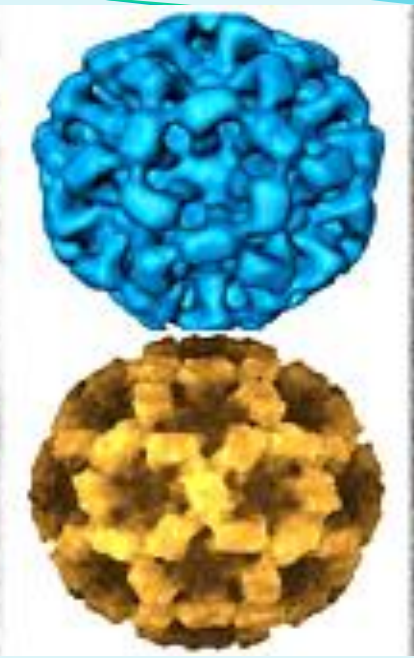
- **вирус Норволк** (Norwalk virus) [M87661] (Hu/NLV/NV/1968/US)
- **вирус Пустыни Шилд** (Desert Shield virus) [U04469] (Hu/NLV/DSV395/1990/SR)
- **вирус Саут-хэмптон** (Southampton virus) [L07418] (Hu/NLV/SHV/1991/UK)

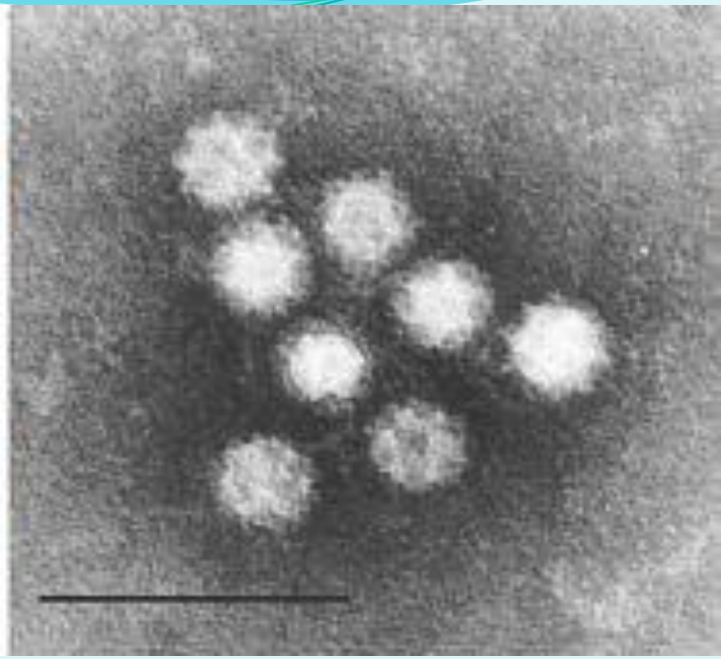
Геногруппа II (GII) включает:

- **Вирус Бристоль**,
- **вирус Лордсдейл** (Lordsdale virus) [X86557] (Hu/NLV/LD/1993/UK), вирус Торонто
- **вирус Мексико** (Mexico virus)[U22498] (Hu/NLV/MX/1989/MX)
- **вирус Гавайи** (Hawaii virus) [U07611] (Hu/NLV/HV/1971/US)
- вирус Снежных гор (Snow Mountain virus)[L23831] (Hu/NLV/SMV/1976/US)

Морфология норовирусов







- Вирион имеет форму икосаэдра диаметром 27-40 нм, т.е. в 2 раза меньше RV, суперкапсида нет.
- Ключевая характеристика калицивирусов - наличие на их оболочке характерных углублений – 32 чашевидных впадин (отсюда название «calyx» – по-гречески чаша).
- Геном состоит из одноцепочечной спирали +РНК, которая кодирует РНК полимеразу, хеликазу, структурные белки капсида и малый белок, функция которого неизвестна.

Физико-химические свойства норовирусов

- Вирус устойчив к эфиру и детергентам
- Более устойчив к хлоридам, чем ротавирус
- Чувствителен к низкому значению pH
- Инактивируется прогреванием при температуре 56°С.
- **Культуральные свойства норовирусов человека**

-

В настоящее время все попытки культивирования норовирусов оказались неудачными.

Основными путями передачи норовируса являются:

пищевой, т.е. человек может заразиться, например, употребив в пищу немытые овощи и фрукты;

водный, когда человек заражается, выпив некоторое количество жидкости, содержащей вирус;

контактно-бытовой, когда вирус попадает в организм через немытые руки, предметы обихода, посуду и т.д.

Клиническая картина норовирусной инфекции

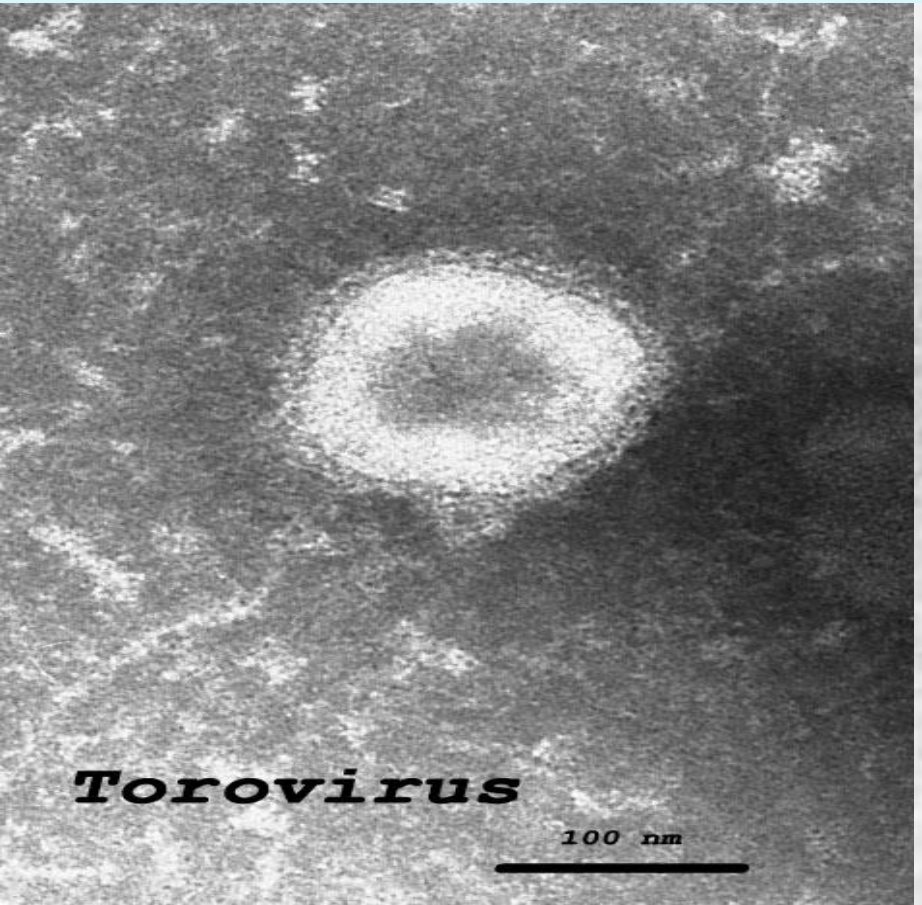
- Острое начало в 93,2% случаев;
- Рвота – в 84,1% случае, многократная 2-3 дня;
- Диарея – в 51,1%, чаще кашицеобразный стул;
- Эксикоз – в 37,5% случаев;
- Интоксикация – в 23,8% случаев, выражена 1-2 дня;
- Лихорадка – в 84,1%, 1-2 дня;
- Боли в животе – в 43,2% случаев;
- Катаральные явления в носоглотке - в 71,4% случаев.

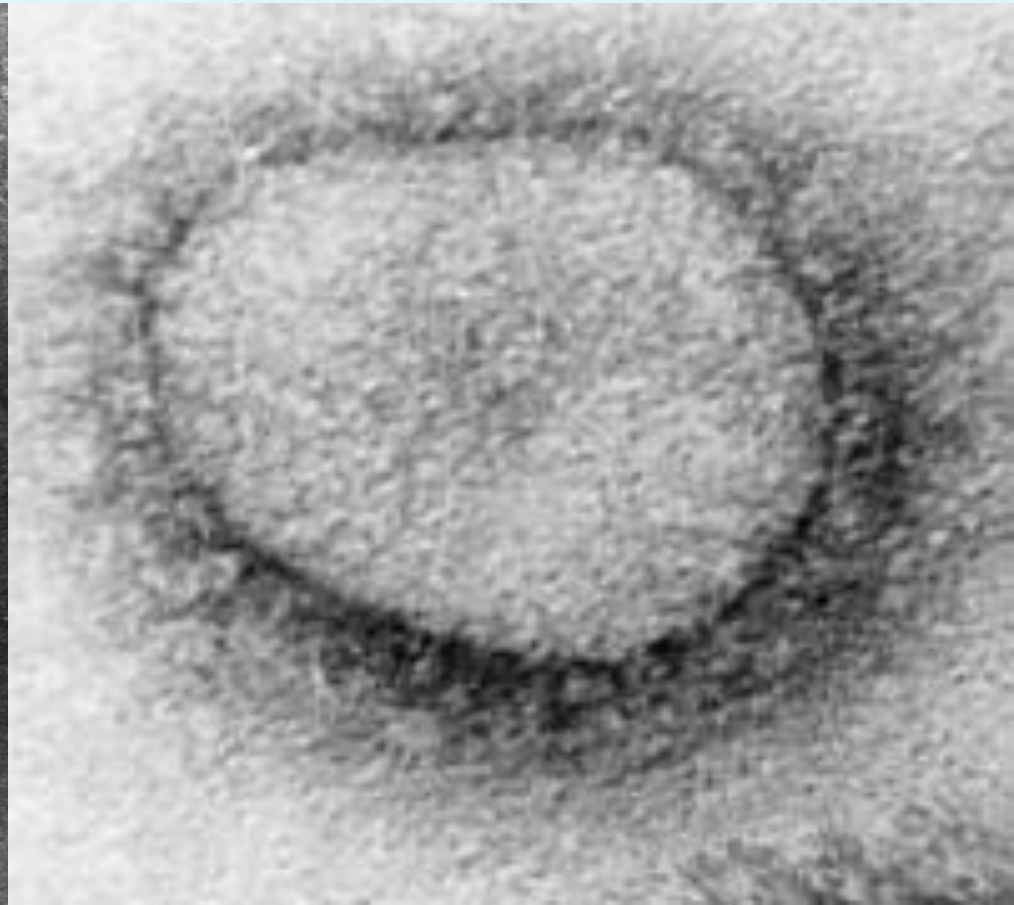
Коронавирусы

Семейство Coronaviridae

Род **Torovirus**

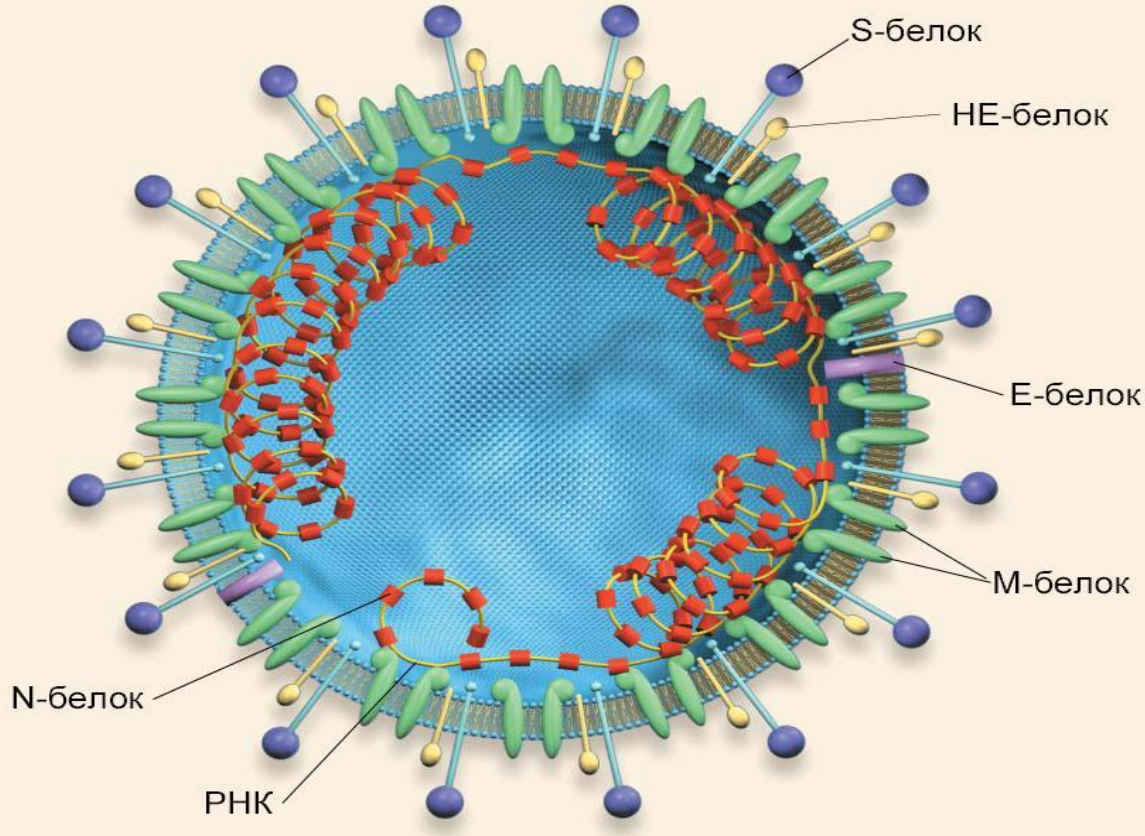
Род **Coronavirus**

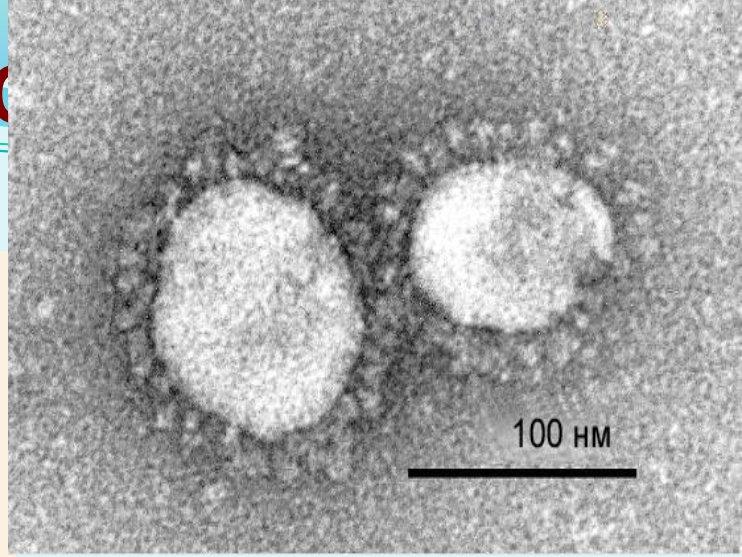




МОРФОЛОГИЯ КОРОНАВИРУС

(по Holmes K.V., 2003)



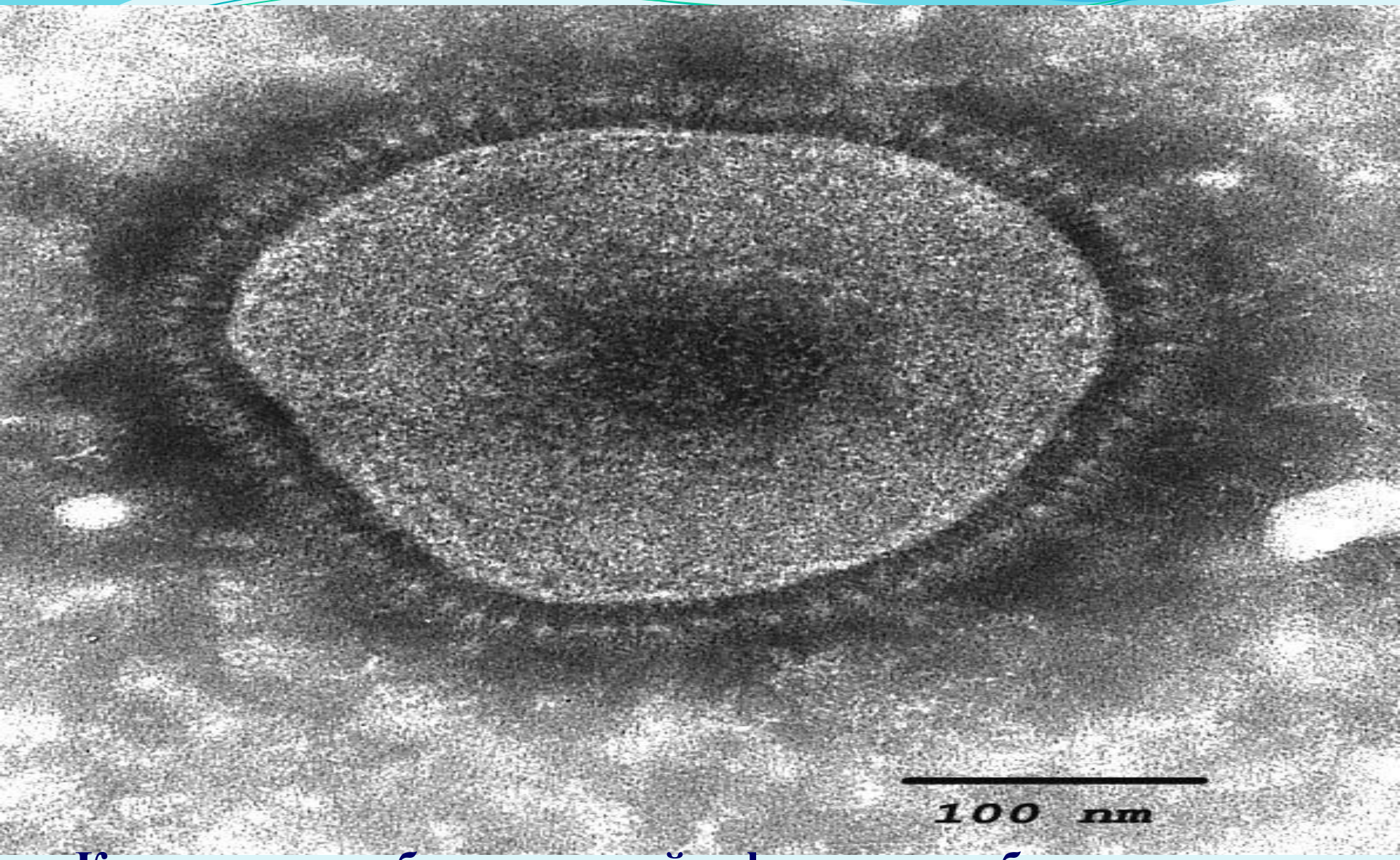


диаметр 80 - 240 нм.
в 3 раза больше вируса гриппа.

S – рецепторный белок,
HE – гемагглютинин-эстераза,
E - малый мембранный белок,
M – матриксный белок,
RNA+N - нуклеокапсид, РНК в комплексе с N-белком.

Вирионы содержат плюс –цепь полиаденилированной РНК длиной 16-30 kb обладающей инфекционностью

Электронномикроскопический метод



Коронавирус, обнаруженный в фекалиях ребенка с острым гастроэнтеритом

Классификация коронавирусов

группа	Наименование вируса	Хозяин
1	Коронавирус человека, штамм 229E (HcoV-229E)	Человек
	Вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней (TGEV)	Свиньи
	Респираторный вирус свиней (PRCoV)	Свиньи
	Коронавирус собак (CcoV)	Собаки
	Вирус энтерита кошек (FECoV)	Кошки
	Вирус инфекционного перитонита кошек (FIPV)	Кошки
	Коронавирус кроликов (RbCoV)	Кролики
2	Коронавирус человека, штамм OC43 (HcoV- OC43)	Человек
	Вирус гепатита мышей (MHV)	Мыши
	Вирус сиалодакриоаденита крыс (SDAV-RTCoV)	Крысы
	Гемагглютинирующий вирус энцефаломиелита свиней (HEV)	Свиньи
	Бычий коронавирус (BcoV)	Крупный рогатый скот
	Коронавирус ТОРС(SARS-CoV)	Человек
3	Вирусы инфекционного бронхита птиц (IBV)	Курицы
	Коронавирус индюков (TcoV)	Индюки

Физико-химические свойства коронавирусов

- Чувствительны к воздействию физических и химических факторов.

Вследствие содержания в вирусной оболочке липидов чувствительны к эфиру, этанолу, формалину, пропиолактону, хлороформу.

Инактивирующее действие на коронавирусы оказывает резко кислая и резко щелочная среда (pH < 3,0 и pH > 12,0), УФ излучение.

Культуральные свойства коронавирусов человека

- Культивирование кишечных коронавирусов осуществляется на культурах клеток кишечника плода, первичных культурах почки эмбриона человека и на культуре клеток опухоли прямой кишки человека (HRT-18).

Эпидемиология коронавирусов

- Циркуляция КВ обнаружена на всех континентах Земного шара;
- Сезонность КВ инфекций – зимне-весенняя (чаще декабрь- март);
- Удельный вес КВИ в респираторной патологии человека составляет в среднем 10% (5-19%).
- *Каждый третий год отмечается тенденция к формированию пиков активности КВИ;
- Механизм передачи КВИ – аэрозольный, фекально-оральный, контактный;
- Пути передачи – воздушно-капельный и воздушно-пылевой, возбудитель выделяется с респираторными секретами, слюной, мочой, испражнениями;
- Возможно повторное инфицирование КВ, что связано с антигенным разнообразием вирусов даже внутри одной группы и кратковременным иммунитетом к гетеротипичным возбудителям;

Эпидемиология

Источник инфекции

Больной	Вирусоноситель

↓

Механизм

Фекально-оральный

↓

Пути

Водный	Пищевой	Контактный	Аэрогенный

↓

Восприимчивый организм

Восприимчивость

- **заболеваемость корона- и торовирусными** инфекциями наиболее характерна для детей раннего возраста и иммуноскомпроментированных лиц, страдающих теми или иными нарушениями иммунитета .

Клиническая картина коронавирусной инфекции

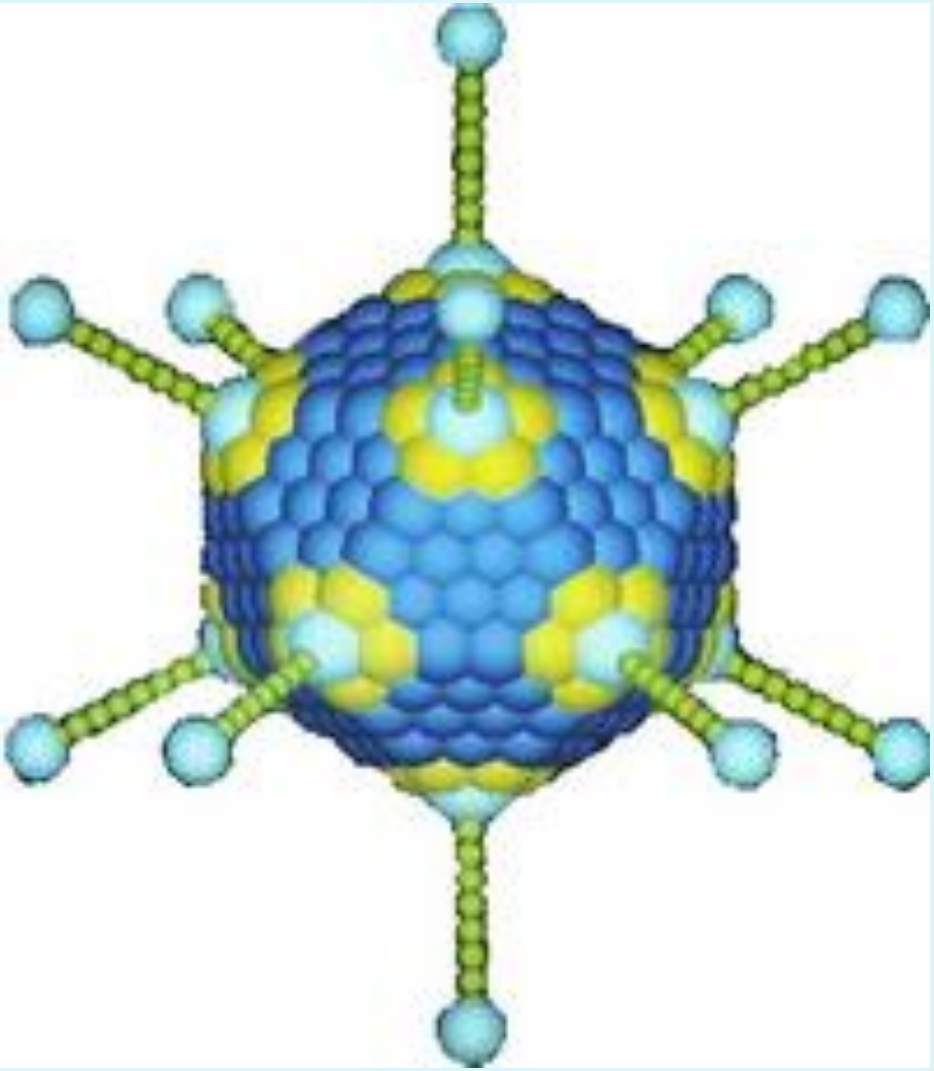
- Острое начало в 75,0% случаев;
- Поражение желудочно-кишечного тракта – в 89,8% случаев: рвота чаще повторная, жидкий необильный стул 2-5 дней;
- Интоксикация умеренная – в 68,2% случаев;
- Лихорадка – около 80,0%;
- Боли в животе – в 18,2% случаев;
- Катаральные явления в носоглотке - около 90,0% случаев.

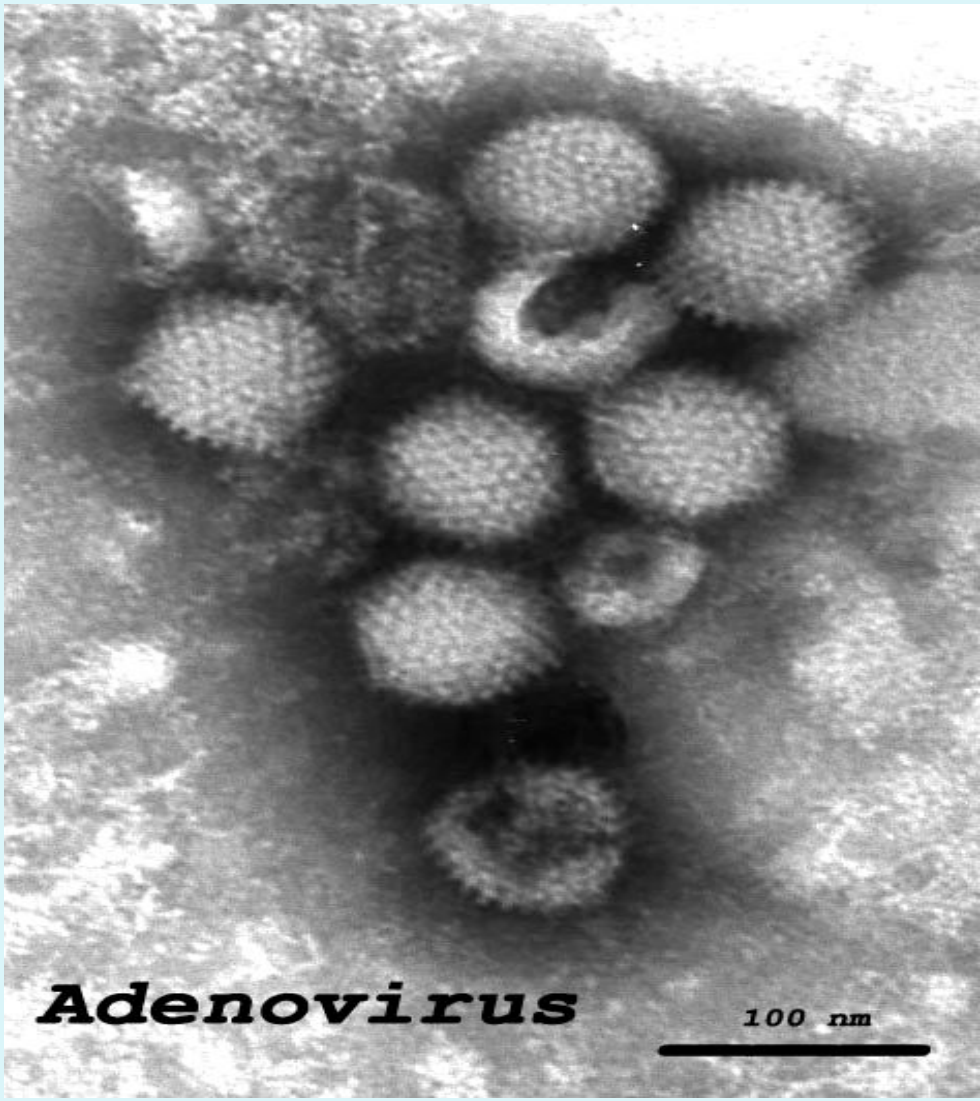
Роль коронавирусов в патологии человека

- ОРВИ (острый ринит, ринофарингит, трахеит)
- Участие в этиологии бронхитов, пневмоний, тяжелого ОРДС
- Сочетанное поражение респираторного и ЖК трактов
- Острый энтерит (у новорожденных и лиц со сниженной иммунологической реактивностью)
- Неврологическая патология (полирадикулит, острый диссеминированный энцефаломиелит с демиелинизацией, множественный склероз, энцефаломенингит)
- Отит, конъюнктивит
- Гепатит, миокардит
- Полиорганные поражения (у иммунокомпроме-тированных лиц)

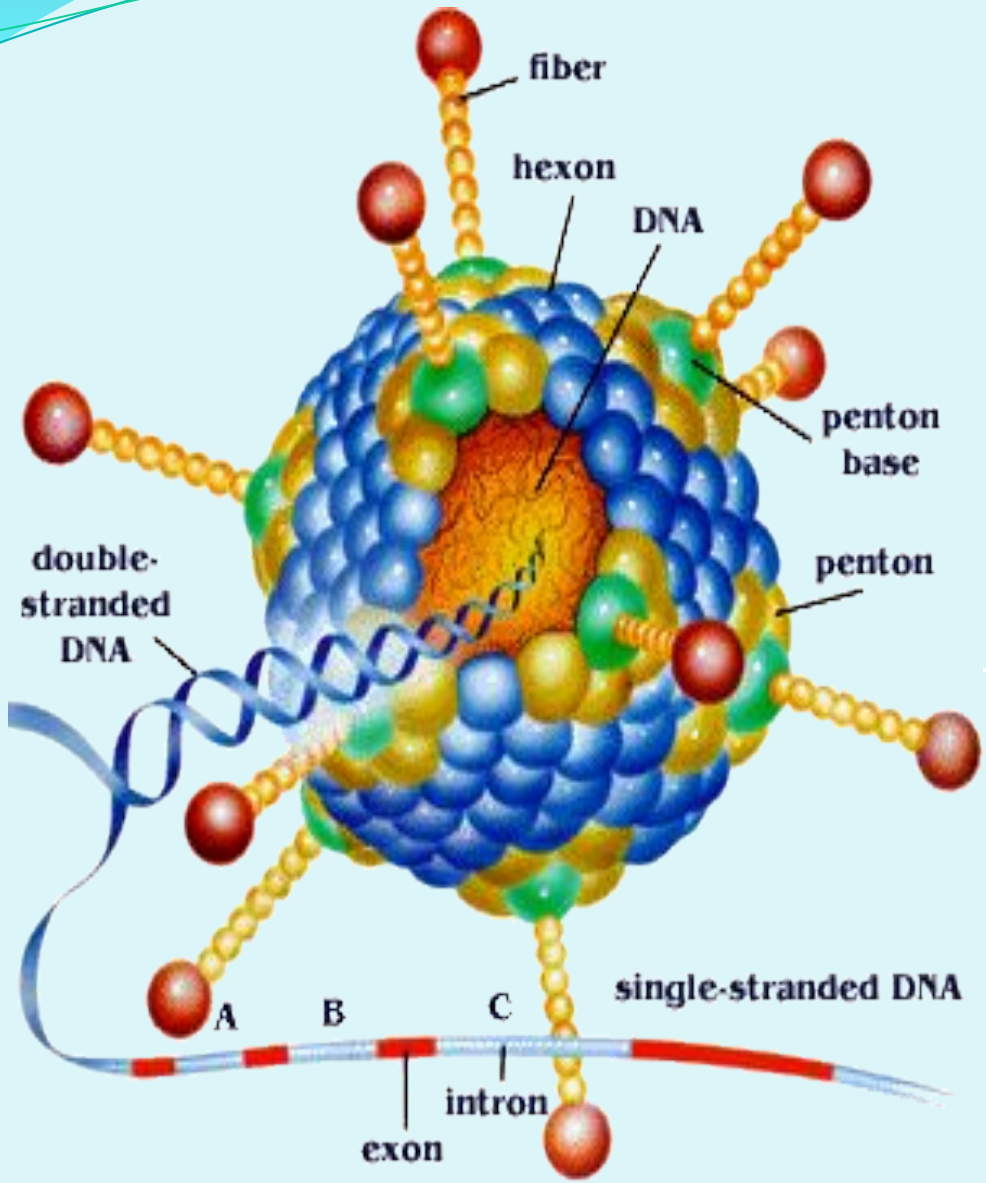
Аденовирусы

Единственные ДНК-содержащие кишечные вирусы, не имеющие оболочки.





Морфология аденовирусов



-Вирион состоит из капсида, фибрилл и сердцевины (core) и связанных белков.

-**Капсид** диаметром 70-90 нм имеет форму икосаэдра (кубический тип симметрии), от 12 вершин которого отходят нити (**фибры**), различающиеся по длине у аденовирусов разных подгрупп, выполняющих функцию рецепторов;

-Капсид построен из **252** капсомеров.

-Вирион имеет антигены:

Антиген А (гексон) - одинаковый для всех АД (группоспецифический),

Антиген В (основание пентона),

Антиген С (нити, фибры) – типоспеци-фический.

Семейство Adenoviridae

Род Mastadenovirus

Подгруппа	Серотип	Тропизм
A	12, 18, 31	кишечный тракт
B1	3, 7, 16, 21, 50	респираторный тракт
B2	11, 14, 34, 35	мочевыводящая система
C	1, 2, 5, 6	респираторный и кишечный тракт
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49, 51	ткани глаза и др.
E	4	респираторный тракт
F	40, 41	кишечный тракт

Физико-химические свойства аденовирусов

- Относительно устойчивы к факторам внешней среды: при температуре 56°С погибают за 30 мин, при 36°С – через 7 дней, 23°С – 14 дней.

- хорошо переносят низкие температуры и высушивание, устойчивы к изменениям pH и органическим растворителям (эфиру, хлороформу и др.) .

- **Культуральные свойства аденовирусов человека**
- Не размножаются на куриных эмбрионах, но хорошо размножаются на первично-трипсинизированных и перевиваемых культурах клеток.

Клиническая картина аденовирусной инфекции

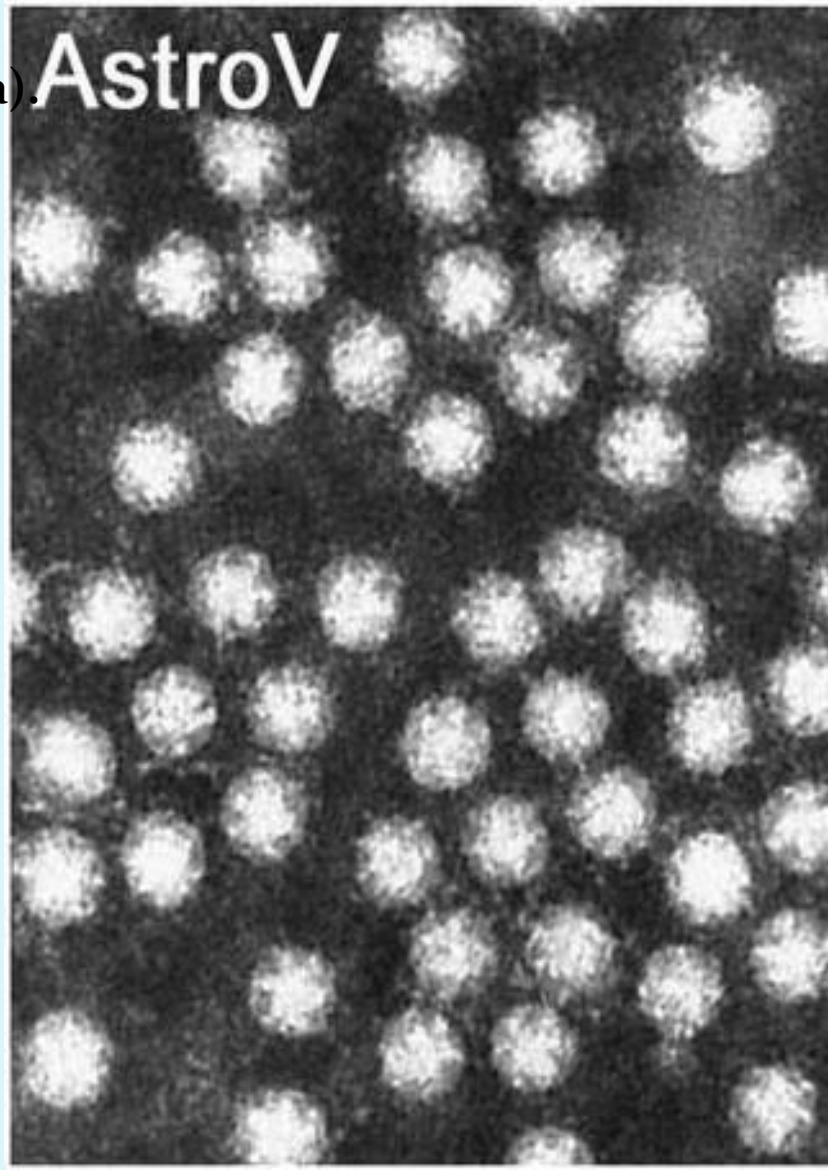
- Интоксикация выраженная – около 100,0% случаев;
- Лихорадка – 100,0%, 75%>39,0°;
- Диарея – 80,0%, до 10-12 раз в сутки;
- Рвота – 40,0%, чаще повторная;
- Боль в животе – 60,0% случаев;
- Эксикоз – 40,0% случаев;
- Катаральные явления в носоглотке - около 100,0% случаев.

Астровирусы

Впервые идентифицированы в фекалиях детей с острой диареей в 1975 году

- **РНК-содержащие, безоболочечные вирусы семейства Astroviridae (греч astron - звезда).**
- **Семейство включает 2 рода:**
  Mamastrovirus (Астровирусы млекопитающих) и
  Avastrovirus (Астровирусы птиц).
- **В настоящее время известно 8 серотипов AstV, патогенных для человека (AstV 1–8), из которых наиболее широко распространен первый (Oxford strain).**

- **Вирусная частица диаметром 23-33 нм имеет звездчатую форму за счет 5-6 выступов**
  (вершин), от поверхности отходят 12 маленьких
  шипов, делающих поверхность неровной.
  вид симметрии – икосаэдрический.



Клиническая картина астровирусной инфекции

- Астровирусы чаще ассоциируют с легкой и непродолжительной диареей преимущественно у детей до пяти лет.
- В раннем детском возрасте заболевание может иметь такое же течение, как при ротавирусной инфекции.
- Наиболее тяжело и длительно инфекция протекает у иммуноскомпрометированных и престарелых лиц.

Диагностика вирусных диарей

1. ***Методы обнаружения вирионов и вирусных антигенов***
   - электронная микроскопия,
   - выделение ротавирусов в культуре клеток,
   - иммуноферментный анализ,
   - иммунохроматография,
   - твердообразная реакция коагглютинации,
   - диффузная преципитация,
   - латекс-агглютинация,
   - реакция пассивной гемагглютинации,
   - иммунофлюоресценция,
   - иммуноэлектрофорез,
   - радиоиммунный анализ.
2. ***Методы обнаружения вирусной РНК***
   - полимеразная цепная реакция,
   - электрофорез ротавирусной РНК в полиакриламидном геле,
   - метод точечной гибридизации,.
3. ***Методы обнаружения специфических антител***
   - твердофазная реакция коагглютинации для определения специфичных к ротавирусу IgM,
   - реакция пассивной гемагглютинации,
   - реакция связывания комплемента,
   - реакция нейтрализации.

Диагностика вирусных диарей

ПЭМ (просвечивающая электронная микроскопия) все вирусы

Выявление *вирусные частиц* в фекалиях

ИФА (иммуноферментный анализ)

Выявление *антигенов вирусов (RV, AD)*

ПЦР (полимеразная цепная реакция)Выявление *специфических участков РНК, ДНК (RV, NV, AD, SV, AstV)*

Иммунохроматография

Выявление *антигенов вирусов (RV, AD)*

ИФА (иммуноферментный анализ)
Выявление *антигенов вирусов (RV, AD)*

предназначен для выявления антигенов аденовируса 40 и 41 типа в копроматериале больных для дифференциальной диагностики острых кишечных инфекций

ПЦР (полимеразная цепная реакция)
Выявление ***<u>специфических участков РНК, ДНК</u>*** ***(RV, NV, AD, SV, AstV)***

дифференциальной диагностики кишечных вирусных инфекций

- О методе ПЦР

- Полимеразная цепная реакция (англ. — PCR — polymerase chain reaction) была открыта Кэри Б. Мюллисом в 1983 году, за что он был удостоен Нобелевской премии.

- **Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — это метод, который позволяет найти в исследуемом клиническом материале небольшой участок генетической информации (ДНК/РНК) инфекционного возбудителя, многократно его размножить и выявить с помощью различных современных технологий (гибридизационно-флюоресцентная детекция в режиме «реального времени» и «по конечной точке»).**

- В настоящее время ПЦР является одним из высокочувствительных методов диагностики инфекционных заболеваний, который позволяет выявлять единичные вирусные частицы или бактериальные клетки.

Преимущества метода ПЦР:

- Возможность выявлять самого возбудителя, а не антител к нему.
- Обладает высокой специфичностью, поскольку детектирует уникальный, характерный.
- Только для данного возбудителя фрагмент ДНК.
- Имеет высокую чувствительность по сравнению с известными методами диагностики.
- Автоматизирован.
- Позволяет проводить массовые исследования.
- Возможно выполнение анализов в течение 1-3 суток.
- Метод универсален, т.к. из одной пробы клинического материала можно выполнить.
- Исследования на наличие возбудителей целого ряда заболеваний.

- ***Набор реагентов для выявления и дифференциации*** ДНК (РНК) микроорганизмов
- рода Шигелла и энтероинвазивных T. coli (EIEC),
- Сальмонелла,
- термофильных Кампилобактерий,
- аденовирусов группыF,
- ротавирусов группы А,
- норовирусов 2 генотипа,
- астровирусов в объектах окружающей среды и клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией

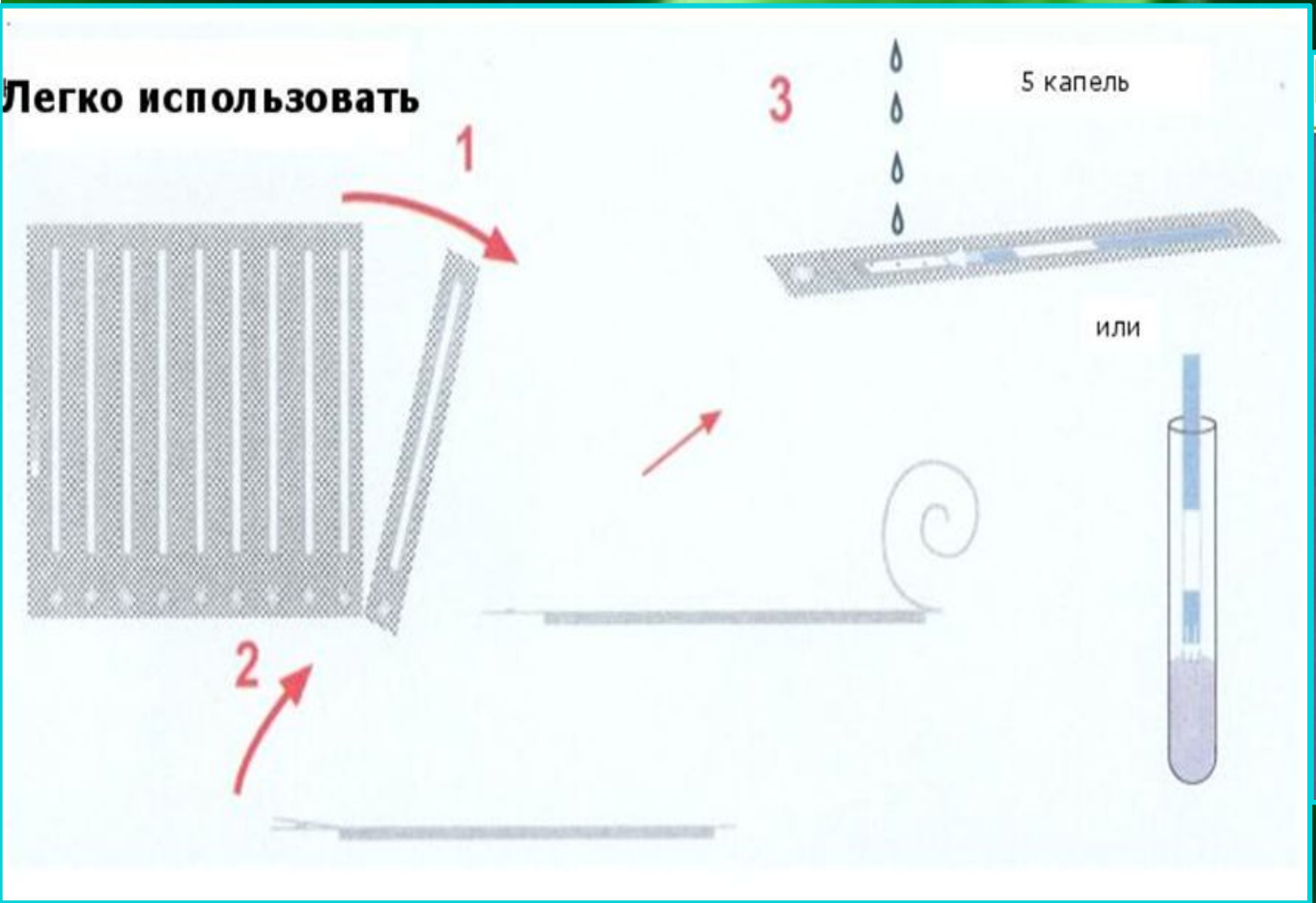
Цито-тест- быстрый иммунохроматографический тест для качественного определения ротавирусной инфекции в образцах кала.

Чувствительность- 100%

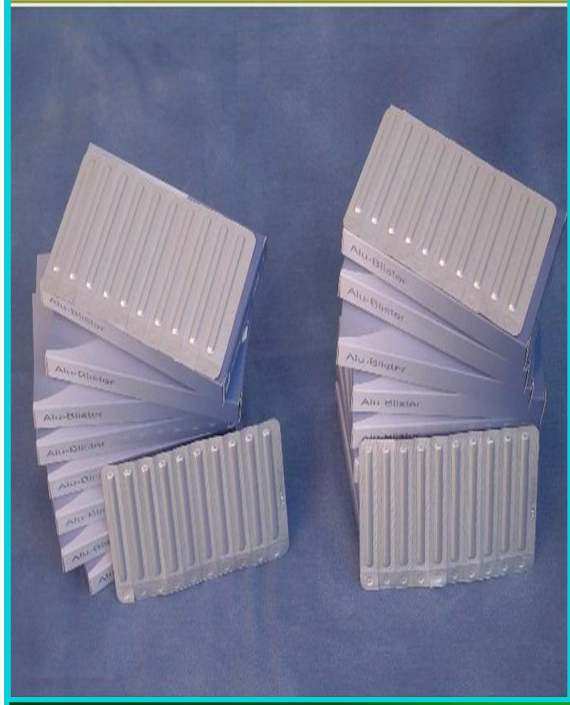
Специфичность- 98%

Условия хранения- 2-30 градусов

Срок хранения - 2 года с момента производства



Блистер-кассета. Внешний вид.



Профилактика вирусных кишечных инфекций

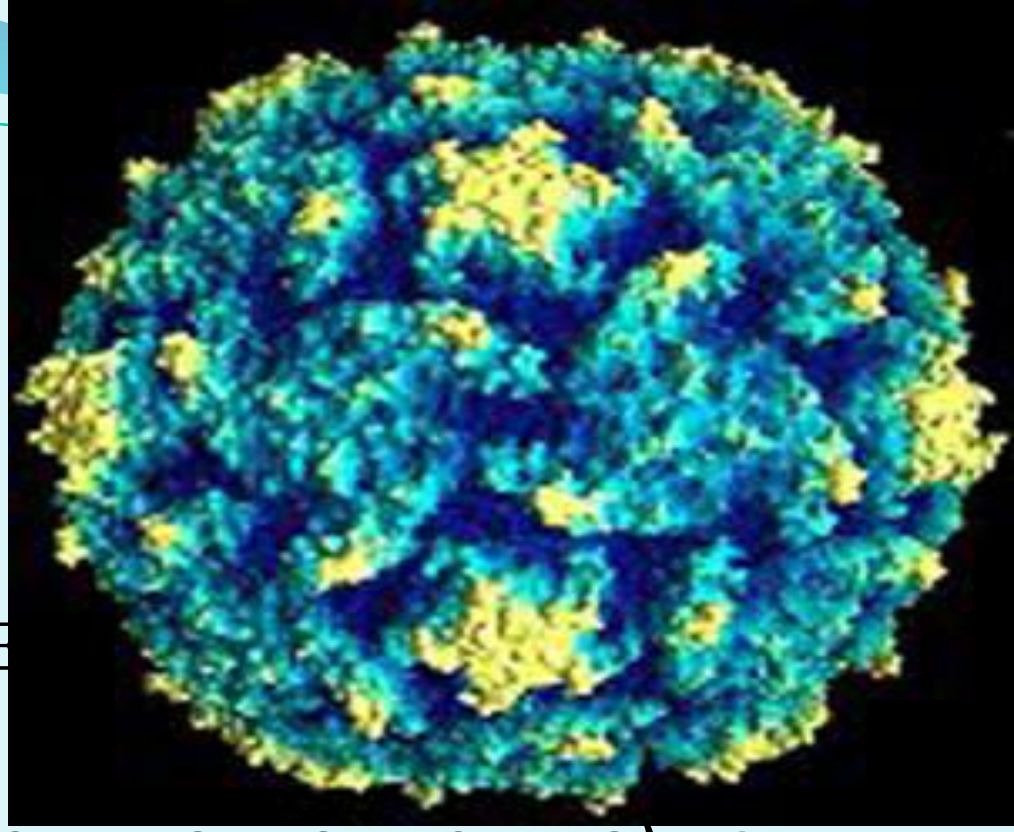
Неспецифическая профилактика
- соблюдение санитарно-гигиенических правил (мытьё рук, использование для питья только кипячёной воды),
- очистка и хлорирование водопроводной воды,
- достаточная термическая обработка пищи,
-изоляция больного с обеспечением личной посудой.

Специфическая профилактика ротавирусной инфекции существует две живые ослабленные вакцины для перорального применения:

РОТАРИКС™ (моновалентная, на основе человеческого штамма G1P8) профилактика ротавирусной инфекции серотипа G1, а также G2, G3, G4, G9. Курс - 2 дозы. Первая с 6 нед. Вторая не менее, чем через 4 нед. Следует завершить до возраста 24 нед.

РотаТек® пятивалентная (человечье-бычья: G1, G2, G3, G4 – человеческие, G6 – бычий). У детей от 6 до 32 недель. Курс 3 дозы с 6-12 недель, интервалы между приемами от 4 до 10 недель. Последний - не позднее 32нед. возраста.

ENTEROVIRUSES



- Family **PICORNAVIRIDAE**
- Enterovirus
- **полиовирусы (возбудители полиомиелита) – 3 серотипа**

- вирусы Коксаки А – 24 серотипа

- вирусы Коксаки В – 6 серотипов

- вирусы ЕСНО – 34 серотипа

- энтеровирусы серотипов 68 - 71 Rhinovirus

энтеровирусов

- Простой вирус диаметром 22-30нм
- Капсид построен по икосаэдрическому типу симметрии
- Состоит из 60 протомеров, сгруппированных в 12 пентамеров (пятиугольников)
- Каждый капсомер состоит из 4 белков – VP1, VP2, VP3, VP4
- Наружную поверхность капсида формируют белки VP1, VP2, VP3
- Белок VP4 находится внутри капсида и тесно связан с геномной РНК

Геном энтеровирусов

- Геном представлен линейной нефрагментированной однонитевой плюс-РНК
- На 5` конце геномной РНК находится ковалентно связанный с ней геномный белок VPg

Антигены энтеровирусов

- **Антигенность связана с белком капсидаVP1**
- **У энтеровирусов содержится группоспецифический (родоспецифический) антиген, общий для рода Энтеровирус способен связывать комплемент**
- **Типоспецифический антиген – индивидуальный для каждого серотипа (серовара), обладает гемагглютинирующими свойствами. Всего патогенными для человека являются 71 серотип**

Эпидемиология энтеровирусных инфекций

- Источники – больные и практически здоровые вирусоносители. Вирусы выделяются главным образом с фекалиями

- Основной механизм передачи – фекально-оральный (очень редко воздушно-капельный)

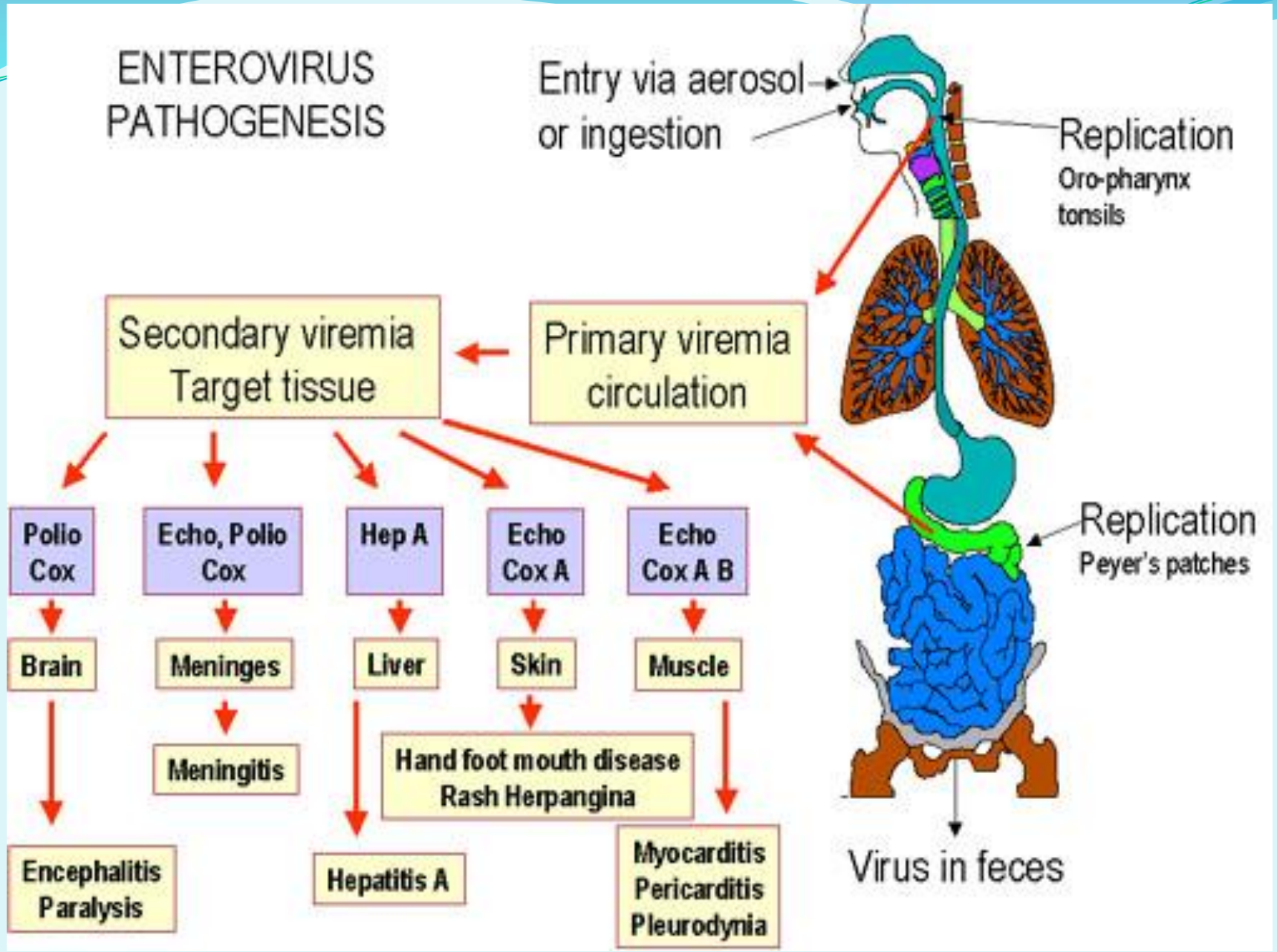
- Факторы передачи – вода (некипяченая вода, купание в открытых водоемах), немытые овощи и фрукты, молочные продукты (не прошедшие термическую обработку), предметы обихода, мухи

Патогенез энтеровирусных инфекций

- **Входные ворота – слизистые оболочки носоглотки и пищеварительного тракта**
- **Инкубационный период составляет 2-7 дней**
- **Вирусы репродуцируются в эпителиальных клетках и клетках лимфоидной ткани глоточного кольца и лимфоидных структурах тонкого кишечника**
- **При достаточной сопротивляемости организма репродукция вирусов происходит ограничено, в месте входных ворот, и протекает бессимптомно или с поражением только слизистых оболочек.**
- **Низкая сопротивляемость организма, большая инфицирующая доза, высокая вирулентность возбудителя приводит к генерализации инфекции**

Патогенез (продолжение)

- Вирусы проникают в кровяное русло и с кровью разносятся в различные органы, вызывая поражения в зависимости от тканевого тропизма.
- После размножения в органах вирусы вновь могут попадать в кровь, вызвая повторную вирусемию.
- Поэтому энтеровирусные инфекции часто имеют волнообразный характер.
- Вирусемия прекращается после появления специфических антител


ENTEROVIRUS PATHOGENESIS
Entry via aerosol or ingestion
Replication
Oro-pharynx
tonsils
Secondary viremia
Target tissue
Primary viremia
circulation
Replication
Peyer's patches
Polio
Cox
Echo, Polio
Cox
Hep A
Echo
Cox A
Echo
Cox A B
Brain
Meninges
Liver
Skin
Muscle
Meningitis
Hand foot mouth disease
Rash Herpangina
Encephalitis
Paralysis
Hepatitis A
Myocarditis
Pericarditis
Pleurodynia
Virus in feces

Органы-мишени для энтеровирусов

- Вирусы Коксаки кардиотропны и часто поражают сердце в виде миокардитов, а также поджелудочную железу, вызывая панкреатит с последующим развитием диабета
- Вирусы ЕСНО обладают высоким тропизмом к лимфоидной ткани
- Энтеровирусы в отличие от полиовирусов поражают мозговые оболочки, иногда мозг и очень редко передние рога спинного мозга

Клинические формы энтеровирусных инфекций

- **Типичными формами являются**

- Герпетическая ангина

- Серозный менингит

- Эпидемическая миалгия

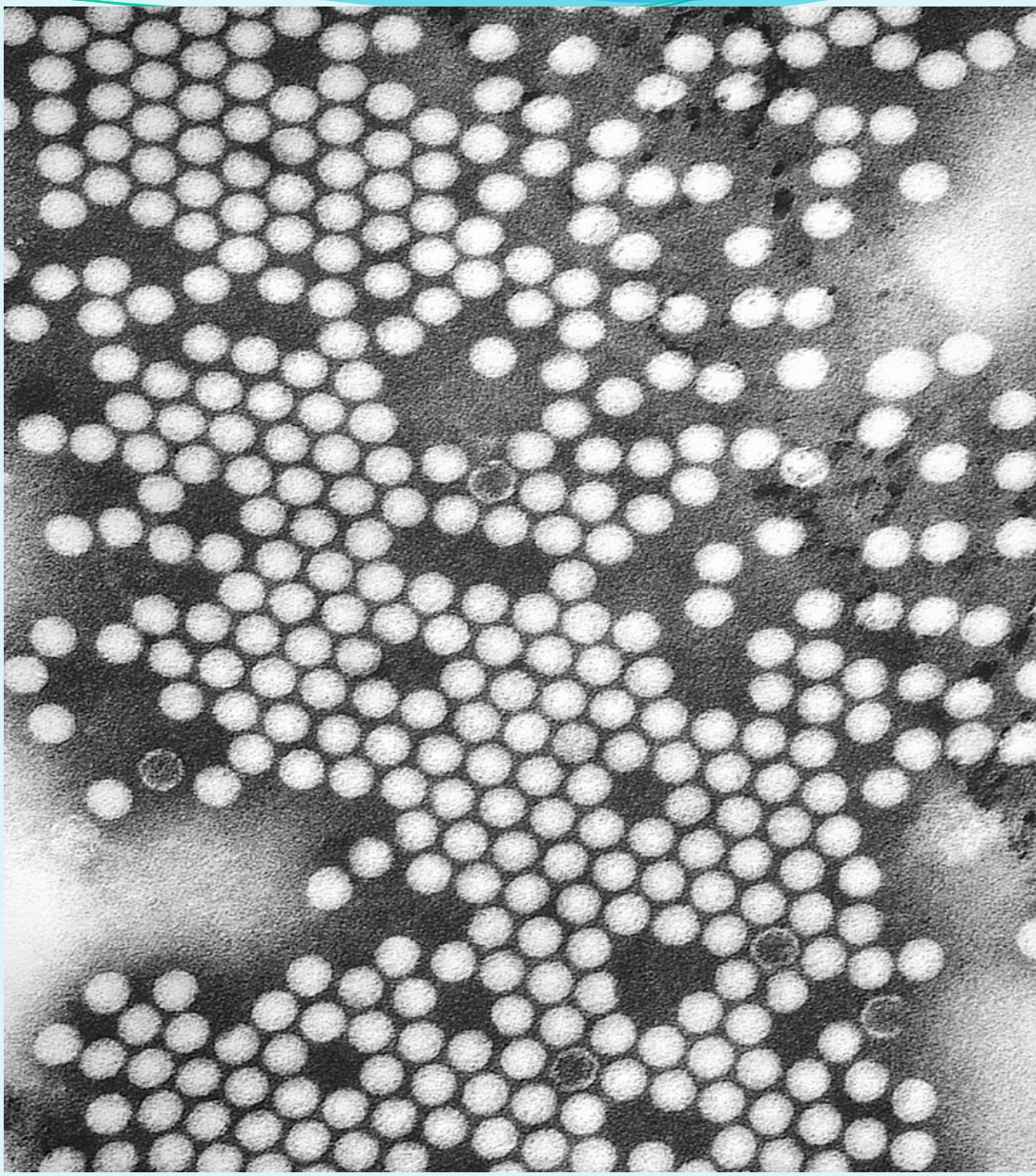
- Энтеровирусная экзантема

Редкие формы: ОРВИ, гастроэнтерит, поражения ЦНС (энцефалит или полиомиелитоподобная форма), поражения отдельных органов (миокардит, панкреатит, нефрит, гепатит, орхит, увеит и др.), энтеровирусная лихорадка

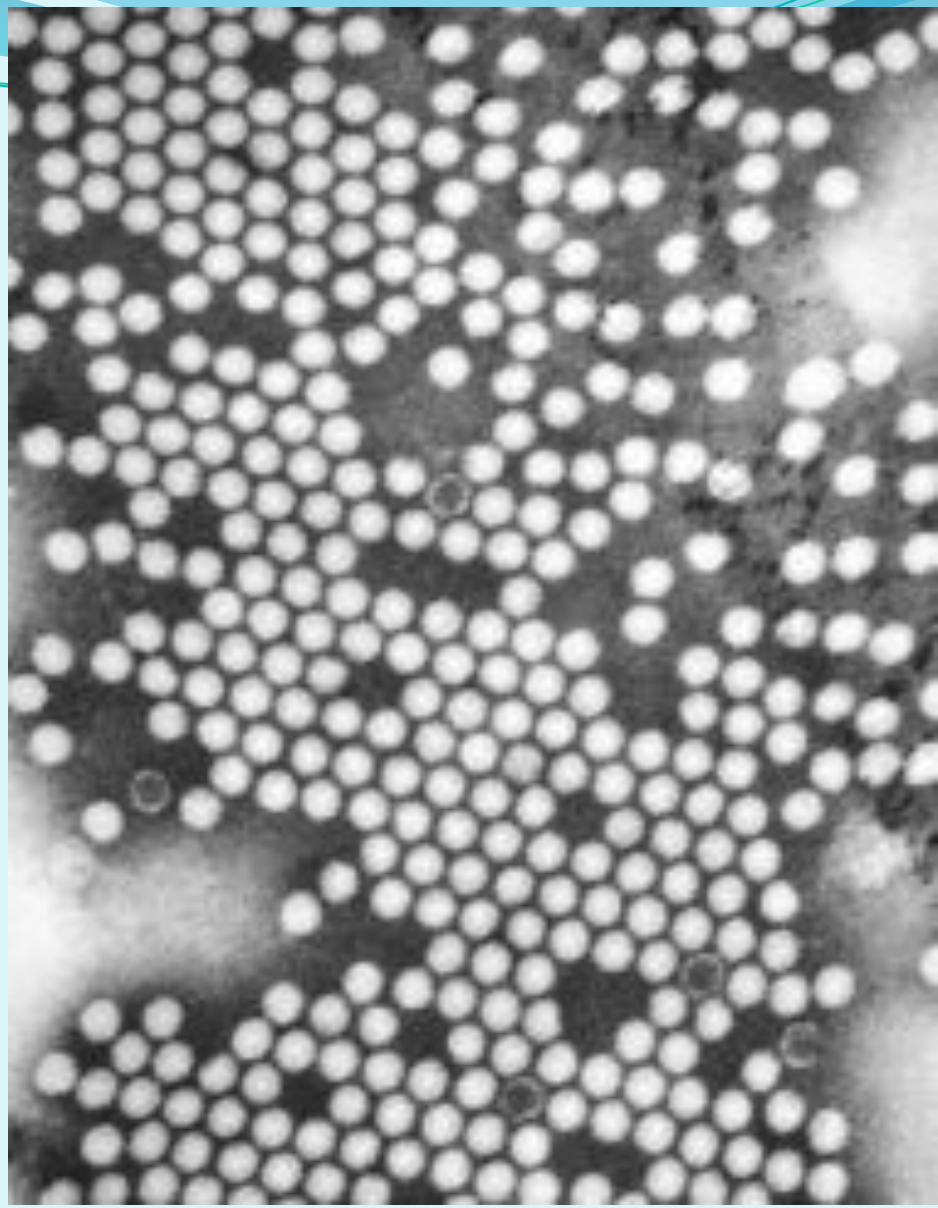
Вирус полиомиелита

Полиовирусы относятся к семейству Picornaviridae (от *pico* - малый и *rna* - содержащий РНК), к роду *Enterovirus*.

Существует три серотипа полиовирусов – тип 1, тип 2 и тип 3. Типовым представителем рода *Enterovirus* и семейства Picornaviridae является вирус полиомиелита - штамм Mahoney полиовируса типа 1.



- Слово полиомиелит (Poliomyelitis) в переводе на русский язык означает воспаление серого вещества мозга (греч. Polios — серый, myelitis— воспаление спинного мозга). Дело в том, что важнейшим биологическим свойством полиовирусов является их тропизм к нервной ткани, они поражают двигательные клетки серого вещества спинного мозга.



Эпидемиология полиомиелита

Источник инфекции - больные и вирусоносители, выделяющие вирус с фекалиями.

Основной механизм передачи - фекально-оральный (грязные руки, предметы, игрушки, инфицированные продукты).

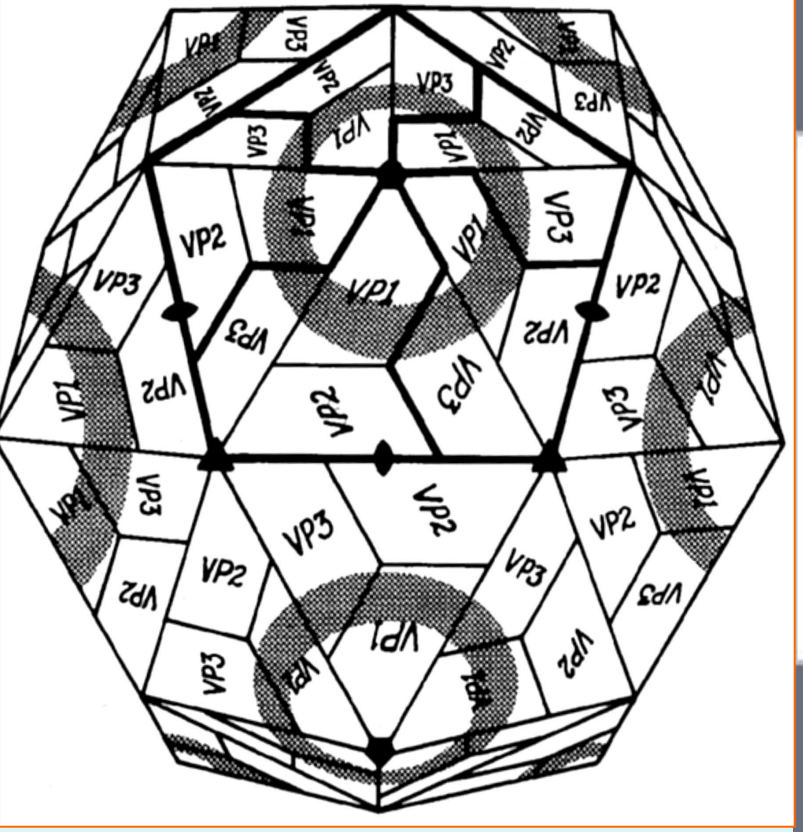
Воздушно-капельный путь инфицирования не отрицается, но нет особого значения и реализуется преимущественно во время эпидемических вспышек.

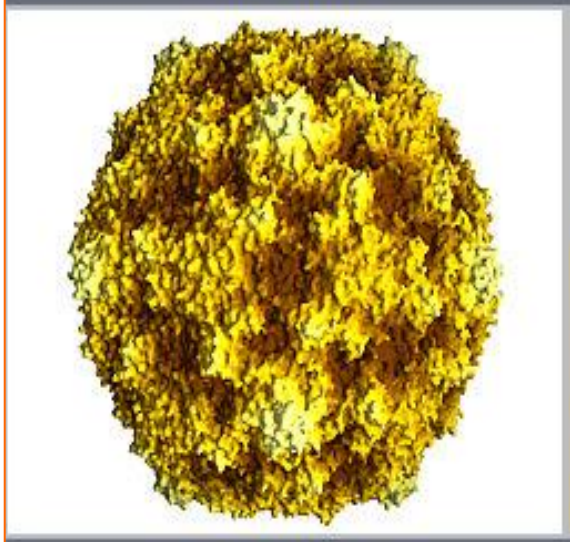
В связи с высокой инвазийнистю и устойчивым иммунитетом полиомиелит имеет все признаки детской инфекции:

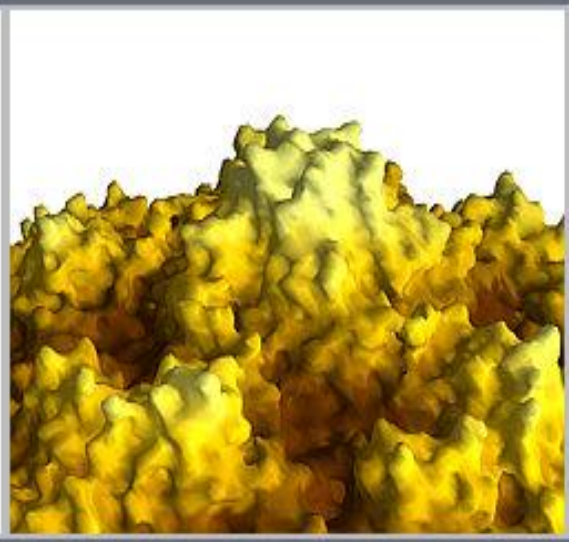
75-90% случаев заболевания наблюдается у детей до 7 лет, но и заболеваемость взрослых не является редкой.

Вспышки полиомиелита в странах с умеренным климатом имеют летне-осеннюю сезонность.

Иммунитет после перенесенной болезни стойкий, практически пожизненный, хоть три вида вируса полиомиелита не предопределяют образование перекрестных антител, но повторных манифестных форм полиомиелита не наблюдается.



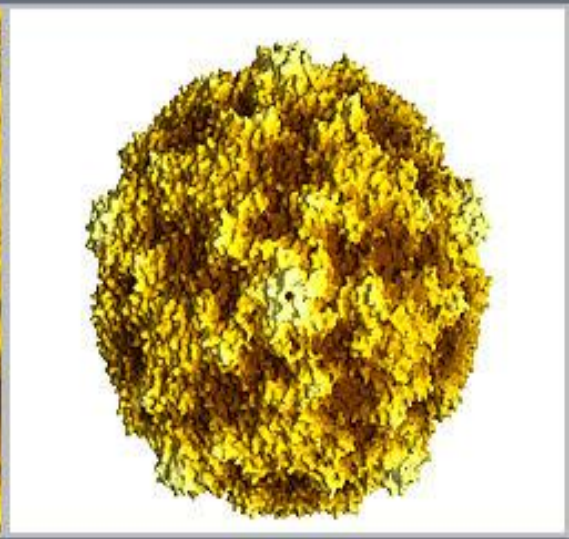

cb3-big-yellow.rgb


cb3-canyon-close.rgb

Икосаэдрическая симметрия

- 60 субъединиц
- 4 полипептида VP1- VP4

cb3-y-5f-close.rgb


cb3-yellow-5fold.rgb

Патогенез полиомиелита

Входными воротами инфекции является слизистая оболочка пищеварительного канала.

Первичная репродукция вируса происходит в лимфоидной ткани, эпителии слизистой оболочки глотки и кишечника, что приводит выделение вируса в первые дни болезни в очень большом количестве и делает больного особенно опасным для окружающих именно в этот период.

Далее происходит генерализация инфекции - вирусемия.

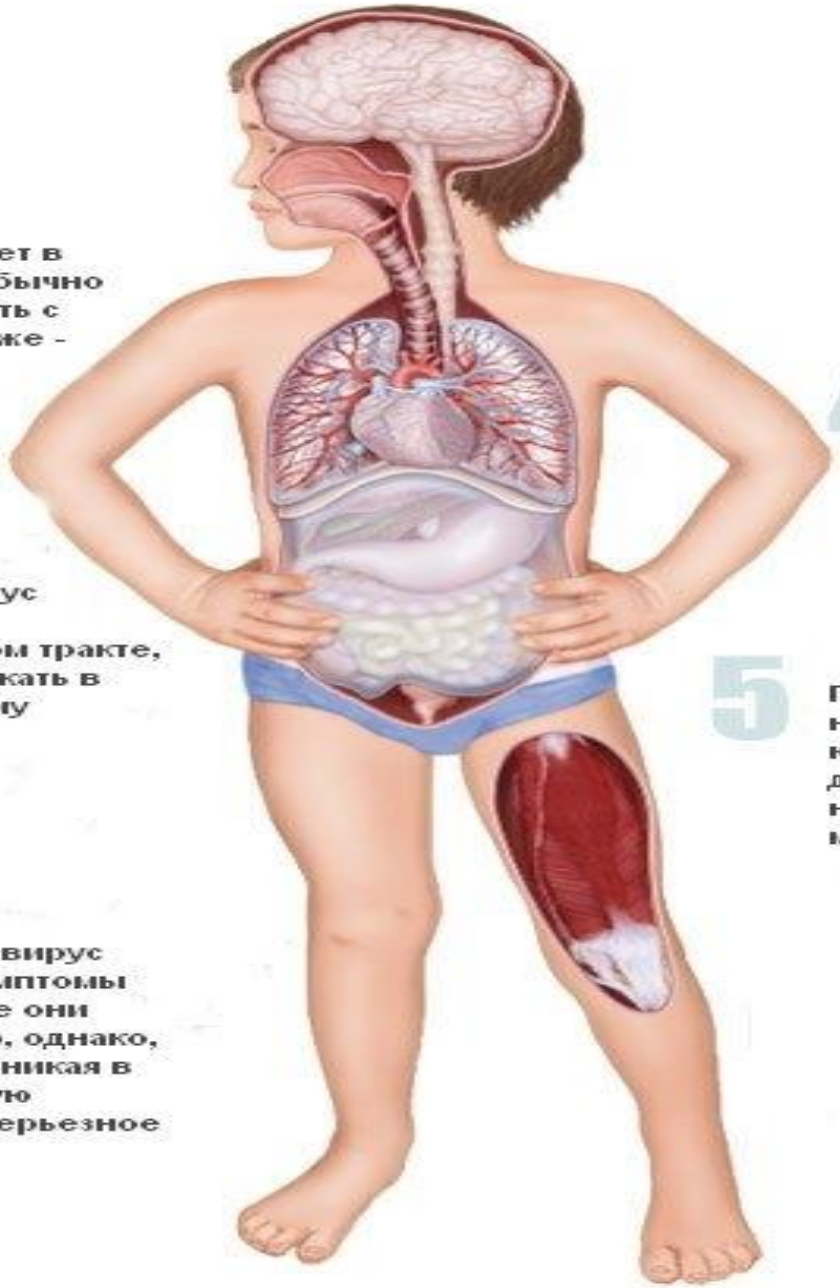
Если возбудитель не нейтрализуется клетками системы мононуклеарных фагоцитов, наступает поражение нервной системы.

Вирус проникает в центральную нервную систему не более чем у 1% инфицированных, в других развивающихся непаралитической формы болезни или вирусоносительство.

1 Полиовирус проникает в организм человека обычно через ротовую полость с загрязненных рук, реже - пищи или воды

2 Первично полиовирус находится в желудочно-кишечном тракте, откуда может проникать в кровеносную систему

3 В 99% случаев полиовирус вызывает легкие симптомы недомогания (или же они отсутствуют вообще), однако, в 1% случаев он, проникая в центральную нервную систему, вызывает серьезное заболевание



4 Полиовирус атакует клетки центральной нервной системы, расположенные в спинном мозге, разрушая их

5 Полиовирус может поражать нервные клетки, в функцию которых входит иннервация дыхательных мышц (тяжелые нарушения дыхания) или мышц конечностей (паралич)

ПОЛИОМИЕЛИТ

Развитие заболевания:

Вирус попадает в организм через рот

Вирус размножается в кишечнике

Инкубационный период продолжается в среднем

5-12 дней

Вирус поражает нервную систему и в течение нескольких часов может вызвать полный паралич

Симптомы:

Головная боль
Высокая температура

Сильное напряжение мышц шеи

Тошнота

Усталость

Боль в конечностях

Полиомиелит поражает, в основном, детей до **5** лет.
Для взрослых в большинстве случаев не опасен.

Клинические формы полиомиелита

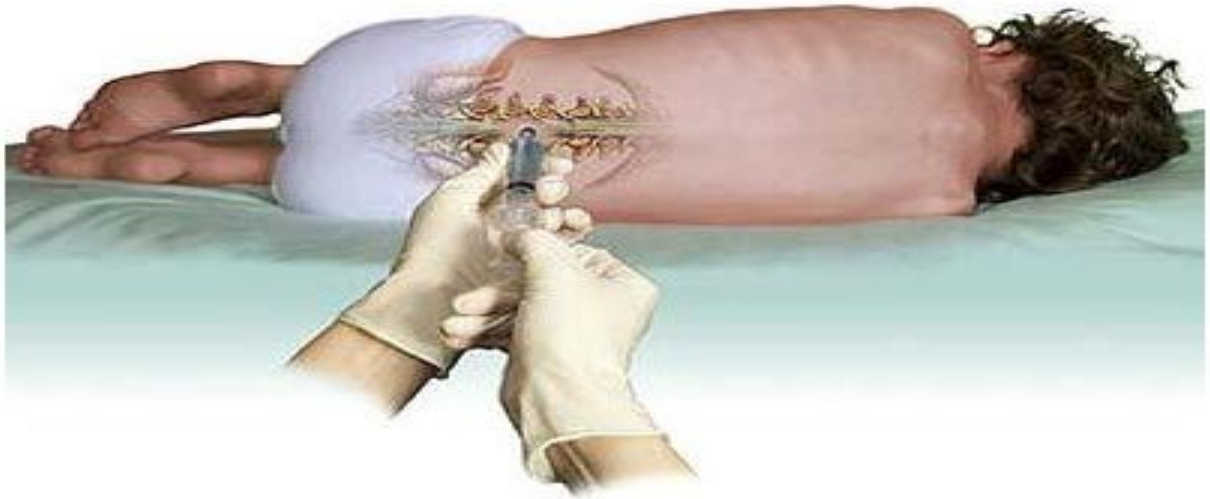
- Бессимптомная форма – встречается у 90% инфицированных
- Абортивная форма (малая болезнь) протекает по типу ОРВИ или гастроэнтерита
- Менингеальная форма (непаралитический полиомиелит)
- Паралитическая форма (большая болезнь)
- Прогрессирующая постполиомиелитная миопатия

Человек с атрофированой правой ногой из-за полиомиелита

Диагностика

- Диагностика полиомиелита основана на выделении вируса из фекалий, спинномозговой жидкости, смывов из носоглотки и крови на 3—7-й день заболевания.
- Материалы для исследований — кровь и спиномозговая жидкость.
- В 1 - 3 день в ликворе преобладают нейтрофилы, со 2 - 4 дня их заменяют лимфоциты. Содержание белка в норме или слегка повышено. В раннем периоде полиомиелита клеточно-белковая диссоциация, к концу 2-ой недели отмечается белково-клеточная диссоциация.

Забор образца спинномозговой жидкости проводится с помощью прокола между двумя поясничными позвонками



Лабораторная диагностика

Чтобы выделить вирус, берут тампоном кал и после предварительной очистки и обработки его антибиотиками инфицируют культуры клеток. В случае получения ГПД и соответствующих пассажей типируют выделенный штамм вируса в РН ГПД с помощью иммунных сывороток.

Применяют **методы прямой иммунофлюоресценции** и **электронной микроскопии**.

В последнее время широко внедряется применение диагностикумов на основе **ИФА** и моноклональных антител, **ПЦР**, что значительно повышает чувствительность и достоверность серологической диагностики.

Успехи в ликвидации полиомиелита 1988 – 2005 гг.

1988 г.

350 000 детей

125 стран

2005 г.

2026 человек

21 страна

Последний факт передачи дикого полиовируса типа 2 - 1999 г.

Четыре страны остаются эндемичными по полиомиелиту. Это Афганистан, Пакистан, Индия и Нигерия.

В конце 2003г. в штате Кано мероприятия по иммунизации против полиомиелита были прекращены по причине необоснованных слухов об опасности полиомиелитной вакцины.

В результате прекращения иммунизации в штате Кано и неоптимального качества работы по ликвидации полиомиелита в других северных штатах болезнь быстро распространилась по Нигерии, к середине сентября 2004 года было зарегистрировано более 500 случаев полиомиелита.

Инфекция была импортирована более чем в 20 соседних стран, в которых ранее полиомиелит был ликвидирован.

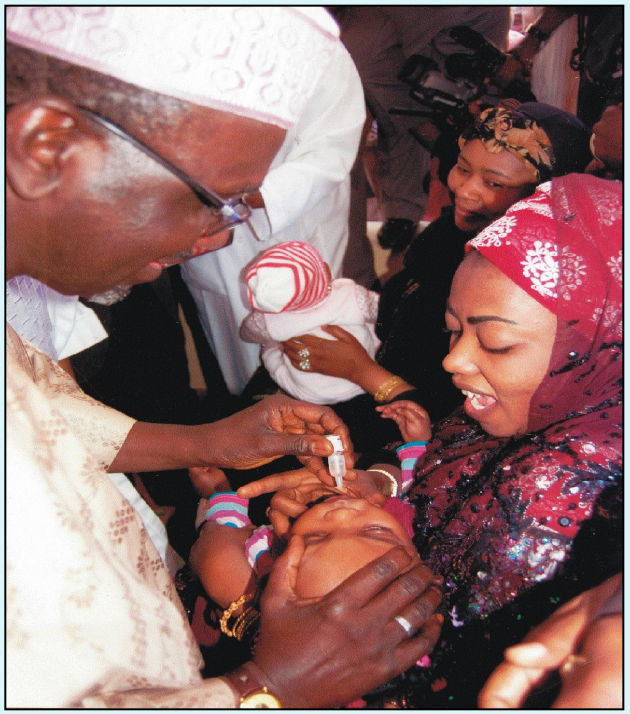
В 2010 году число заболеваний полиомиелитом в Нигерии уменьшилось на 98% по сравнению тем же периодом 2009г.

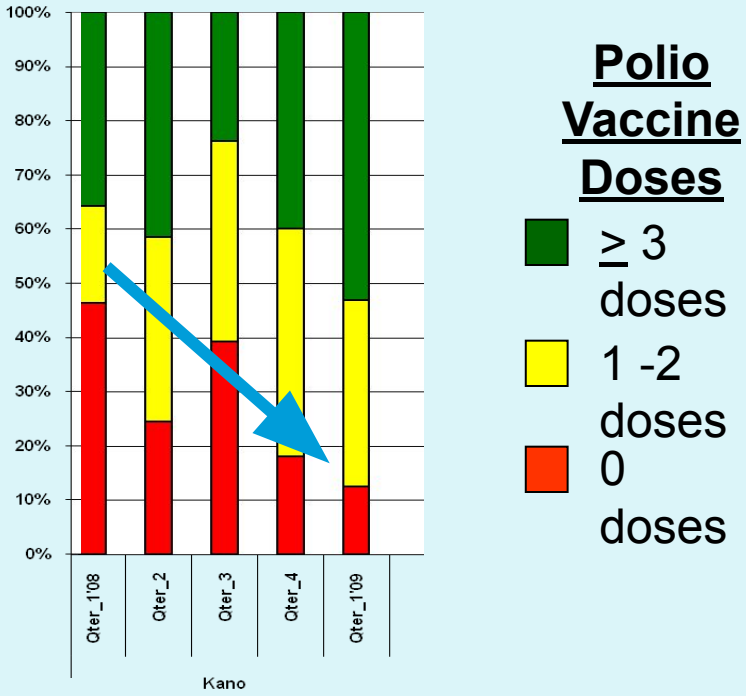
Главное достижение 2009 г в Нигерии – усиление политической воли

Вовлеченность в программу высшего руководства страны

Губернатор Кано вакцинирует свою дочь

Впервые в Кано провакцинировали 85% детей





Вирусы Коксаки и ЕСНО

Энтеровирусы характеризуются небольшими размерами вириона (28 нм — вирус Коксаки, 10—15 нм — ЕСНО), кубической симметрией, способностью образовывать кристаллы внутри пораженных клеток.

РНК однонитчатая, составляет 20—30% вириона, капсид голый.

Устойчивы к эфиру.

Некоторые типы энтеровирусов агглютинируют эритроциты человека 0-группы или эритроциты кур.

Вирусы Коксаки по антигенной структуре делят на две группы: А и В.

Группа А содержит 26,

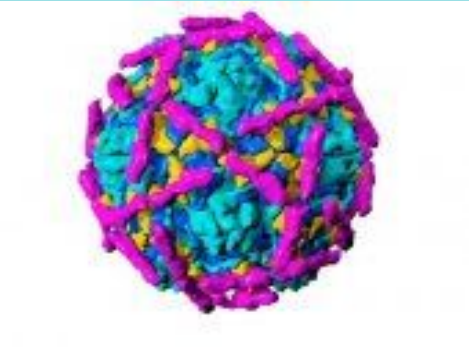
а группа В — 6 серологических типов.

Вирусы Коксаки А вызывают у новорожденных мышей диффузный миозит, вирусы Коксаки В (не все) — заболевание с судорогами,

ЕСНО тип 9 — паралитические формы.

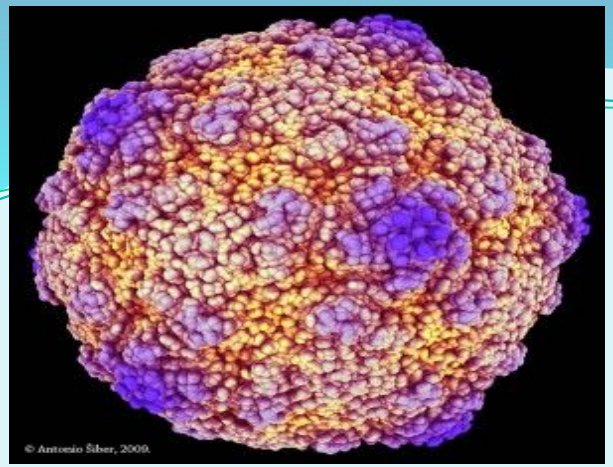
Другие вирусы ЕСНО непатогенны для лабораторных животных. Вирусы Коксаки тип А7 вызывают полиомиелитоподобные заболевания у обезьян и взрослых хлопковых крыс.

Вирусы устойчивы к действию известных антибиотиков и лекарственных препаратов, 70% спирту, 5% лизолу, в течение многих лет хранятся в замороженном состоянии. Инактивируются нагреванием (50°С в течение 30 мин), высушиванием, ультрафиолетовым облучением. Чувствительны к формалину и хлористоводородной кислоте.



Вирусы ECHO

- В 1951 г. были обнаружены другие вирусы, сходные с полиовирусами и вирусами Коксаки, но отличающиеся отсутствием патогенности для обезьян и новорожденных мышей. В связи с тем что впервые обнаруженные вирусы этой группы были выделены из кишечника человека и обладали цитопатическим действием, но не были связаны ни с какими заболеваниями, их назвали вирусами-сиротками или сокращенно вирусами ECHO, что означает: E — enteric; C — cytopathogenik; H — human; O — orphan — сиротка.



- В настоящее время группа ЕСНО насчитывает 32 серовариантa. Значительная часть из них обладает гемагглютинирующими свойствами, и все они хорошо рамножаются в культуре клеток обезьян. Некоторые серотипы вирусов ЕСНО (11,18, 19) относятся к числу наиболее частых возбудителей кишечных диспепсий человека.

Патогенез

Вирус внедряется через слизистую оболочку глотки и другие отделы пищеварительного тракта, проникает в кровь; при явлениях менингита его выделяют из ликвора.

Изменения тканей находят в пораженных мышцах сердца, в мозге. Вирусы Коксаки и ЕСНО вызывают острые энтеровирусные инфекции, которые характеризуются полиморфизмом клинического течения:

- полиомиелитоподобные заболевания,
- желудочно-кишечные расстройства,
- обще лихорадочные заболевания с сыпью и без нее.

Чаще вирусы Коксаки А вызывают *паралитические формы*, сходные с полное миелитом, заболевания дыхательных путей, перикардиты, Коксаки В — асептические миокардиты у детей, лихорадочные заболевания.

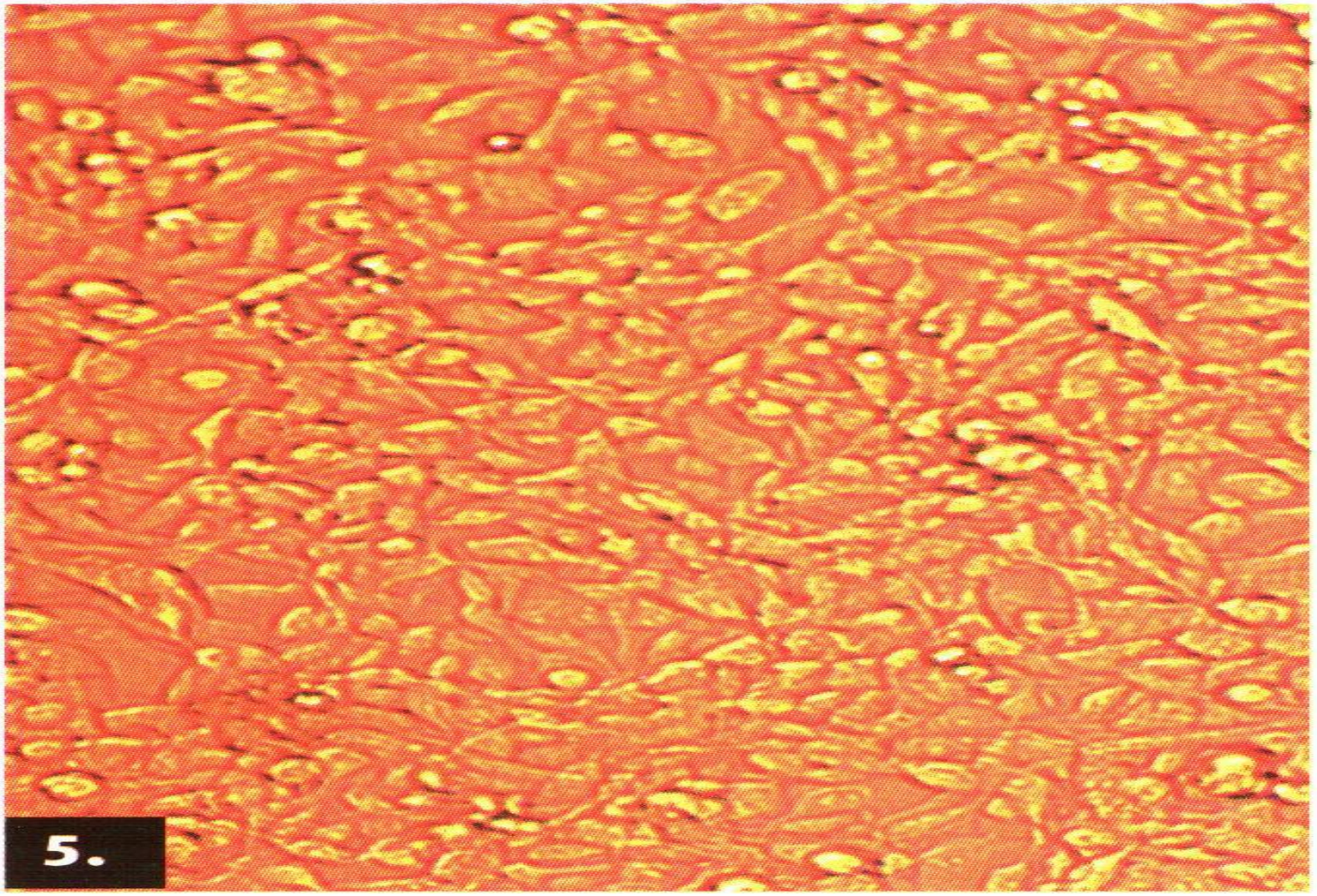
Для энтеровирусных инфекций характерно наличие стертых и бессимптомных форм болезни, а также кишечное вирусоносительство

Лабораторная диагностика

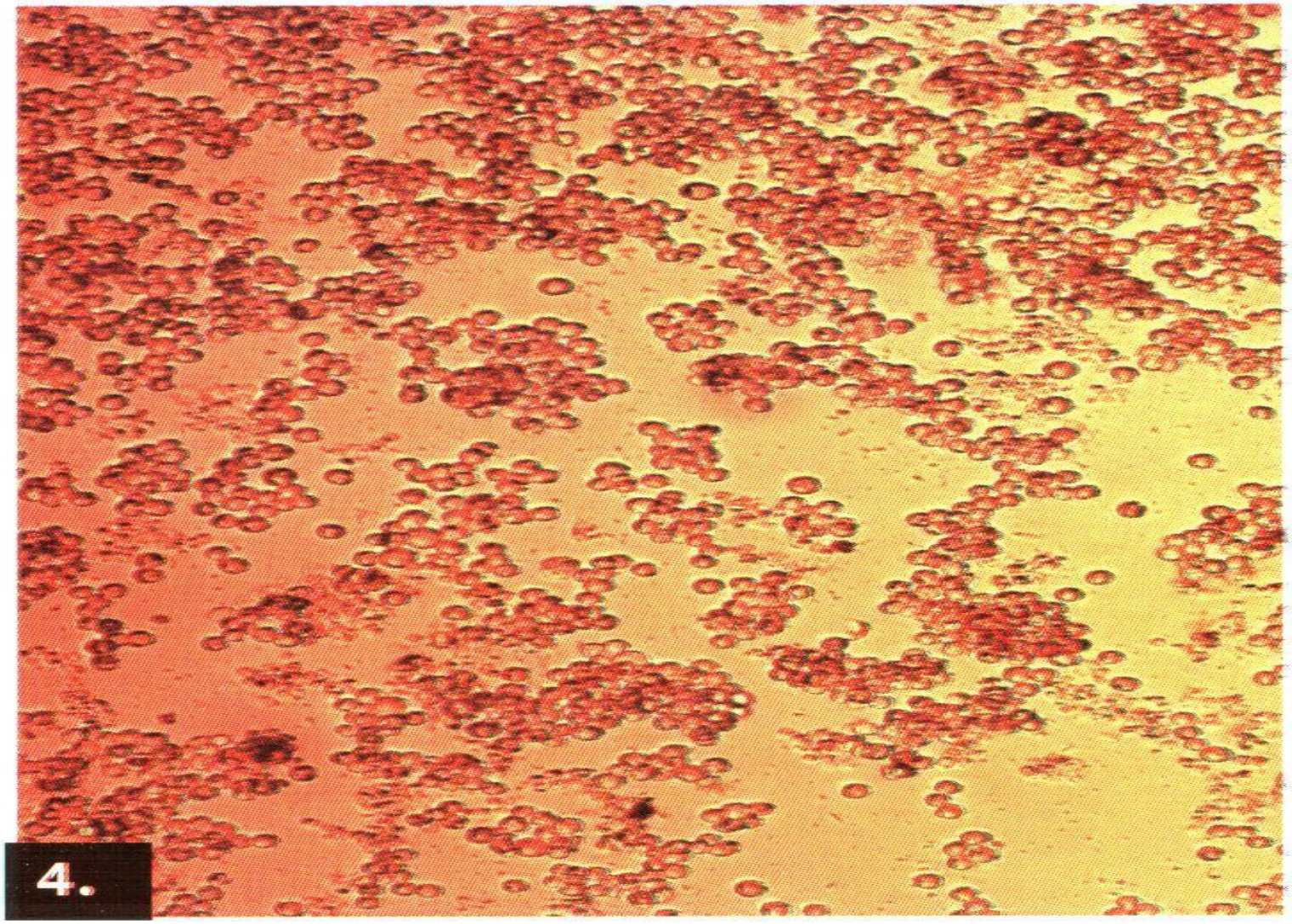
Материалом для исследования служат пробы фекалий, кровь, ликвор, мозг, органы.

Большинство цитопатогенных вирусов выделяют в первичных культурах тканей обезьян и человека, а некоторые — в культурах перевиваемых клеток Нер-2, FL, HLS или Детройт-6. Вирусы Коксаки А с трудом адаптируются к культуре тканей.

Наиболее часто используют **ПЦР** и **ИФА** для диагноза энтеровирусной инфекции путем прямого выявления последовательностей геномной РНК вируса в клинических пробах.



RD: uninoculated



L20B: CPE = 4+

Спасибо за внимание!