

## Сучасні перспективи лабораторної діагностики гострих респіраторних захворювань і грипу

**Резюме.** У статті поданий аналіз доступних джерел наукової літератури, присвячених сучасним аспектам лабораторної діагностики гострих респіраторних захворювань і грипу.

**Ключові слова:** гострі респіраторні захворювання; грип; гострі респіраторні вірусні інфекції; лабораторна діагностика

Захворювання верхніх дихальних шляхів, їх діагностика й лікування є однією з найактуальніших проблем сучасної системи охорони здоров'я. Поширеність цих хвороб на земній кулі, залучення в епідемічний процес великої кількості людей, інколи тяжкі наслідки, значні економічні збитки зумовлюють актуальність респіраторних інфекцій для людства. Серед причин тимчасової втрати працездатності вони посідають перше місце — навіть у міжепідемічний період на них хворіє шоста частина населення планети. В Україні щорічно на гострі респіраторні захворювання (ГРЗ) хворіє від 10 до 14 млн осіб, їх частка становить 25–30 % від усієї захворюваності в країні і близько 75–90 % — від інфекційної [1].

Гострі респіраторні захворювання — збірна група захворювань, спричинених різними збудниками, що об'єднані на основі спільності особливостей епідеміології, патогенезу й клінічних проявів.

Етіологічними чинниками ГРЗ можуть бути різні віруси, яких нині налічується до 300, а також легіонели, менінгококи, стрептококи, стафілококи, рикетсії, мікоплазми, хламідії тощо. Дані захворювання мають багато спільних клінічних проявів, тому етіологічне диференціювання в багатьох випадках утруднене, а часом і неможливе. Тому в зарубіжній медичній літературі часто застосовується таке поняття, як «застуда» (англ. common cold) — гостре інфекційне запалення будь-якої ділянки дихального тракту з підвищенням рівнем контагіозності хворого. Такий підхід є абсолютно виправданим, оскільки (при величезній кількості збудників і схожості

спричинюваних ними клінічних проявів, розмаїтті клінічних форм) далеко не завжди, навіть за умови найдетальнішого обстеження хворого, вдається встановити етіологію збудника, який зумовив респіраторний синдром [2].

У випадку вірусної етіології захворювання використовується термін «гострі респіраторні вірусні інфекції» (ГРВІ).

Грипу належить значна роль у структурі ГРВІ. У період епідемії цей вірус вражає 5–20 % населення. Підраховано, що в середньому щорічно на грип хворіє кожен 10-й дорослий і кожна 3-тя дитина. Крім значної поширеності, грип характеризується досить високою летальністю. Так, смертність від грипу в період епідемії коливається від десятків до сотень випадків на 100 тис. населення.

У міжепідемічний період грипу сезонне підвищення захворюваності на гострі респіраторні захворювання має зовсім іншу структуру, переважають збудники інших ГРВІ і ГРЗ. Визначення етіологічної структури сезонної захворюваності на ГРЗ має надзвичайно важливе значення, адже вона визначає лікувальну й профілактичну тактику [3].

Протягом року кожна людина може перехворіти на респіраторне захворювання щонайменше 3–5 разів, у більшості випадків забуваючи про короточасний неприємний епізод відразу, як тільки настає одужання.

Основними ознаками зараження є:

— помірно виражені симптоми загальної інтоксикації;

- слабкість, млявість, погіршення самопочуття;
- сильні виділення з носа, різкий біль у горлі;
- кашель і нежить з першого дня хвороби;
- почервоніння очних яблук;
- періодичний або постійний головний біль.

Різні збудники вражають більшою мірою певні відділи дихальних шляхів: риновіруси й коронавіруси — переважно слизову оболонку носа, реовіруси — носа й глотки, парагрипозні віруси — гортані, вірус грипу — трахеї, РС-вірус — бронхів і бронхіол, аденовіруси — лімфоїдну тканину глотки й кон'юнктиви [3].

Риніт — це запалення слизової оболонки носа, що суб'єктивно проявляється відчуттям закладеності носових ходів і утрудненим диханням через ніс, чханням, виділеннями з носа (нежить). При об'єктивному обстеженні відзначають серозні, слизисті, слизисто-гнійні або кров'янисті виділення, слизова оболонка гіперемована, набрякла, іноді вкрита кірочками.

Фарингіт — це запалення слизової оболонки глотки, яке суб'єктивно проявляється відчуттям помірного болю при ковтанні, рідше — печінням. При прямій фарингоскопії спостерігається гіперемія і набряк слизової оболонки задньої стінки глотки, своєрідна зернистість, інколи — дрібні крововиливи.

Ларингіт — це запалення слизової оболонки гортані, що може виникнути за умови дії не лише інфекційних агентів, але й інших факторів — переохолодження, подразнення парами хімічних речовин, димом при тютюнопалінні, зловживання алкоголем, у разі голосового навантаження. Суб'єктивно хворий відчуває дряпання, садніння або помірний біль у горлі, кашель. Об'єктивно спостерігається зміна тембру голосу (сиплий, навіть до афонії), сухий, «гавкаючий» кашель. При ларингоскопії виявляють гіперемію і набряк слизової оболонки гортані, потовщення й гіперемію істинних голосових зв'язок. У дорослих ускладнення гострого ларингіту у вигляді несправжнього крупу (часте в дітей) відзначається вкрай рідко, тому розвиток крупу в дорослого на тлі якогось ГРЗ потребує негайного виключення дифтерії гортані. Так само наявність типового гострого тонзиліту (лакунарна чи фолікулярна ангіна клінічно) у поєднанні з симптомами ларингіту перш за все потребує виключення дифтерії, яка все ще залишається патологією, актуальною для України.

Трахеїт — це запалення слизової оболонки трахеї. Хворі скаржаться на дряпання й біль за грудниною, сухий кашель. При цьому біль за грудниною набуває ниючого характеру, посилюється при кашлі, не усувається жодними анальгетиками чи спазмолітиками. Навіть глибокий вдих може спричинювати напад сухого кашлю. Інколи під час аускультативних вислуховуються жорстке дихання й сухі хрипи над трахеєю. Об'єктивні зміни можна отримати лише при фібротрахеобронхоскопії, однак з огляду на коротку тривалість ГРВІ ця процедура не є доцільною.

Бронхіт і бронхіоліт розглядаються як компонент ГРВІ, якщо вони поєднуються з ураженням верхніх відділів респіраторного тракту, а за умови РС-інфекції вони є провідним синдромом. У разі поєднання з пневмонією бронхіт і бронхіоліт не відносять до ГРВІ. Клінічними ознаками бронхіту є кашель, спочатку сухий, а надалі — зі слизистим мокротинням, сухі хрипи, порушення бронхіальної прохідності у вигляді подовженого видиху, утруднення дихання, що краще визначити за допомогою спірографії чи пневмотахометрії. Бронхіоліт — це найтяжча форма гострого бронхіту зі значним порушенням бронхіальної прохідності на рівні найдрібніших бронхів і бронхіол, що проявляється задишкою, розвитком обструктивної емфіземи й дихальною недостатністю. Хворих непокоїть болісний кашель з мізерною кількістю мокротиння.

Альвеоліт — запальний процес дистального відділу респіраторного тракту внаслідок перетворення альвеолярно-капілярного бар'єра на гіалінову мембрану, спричинений локальними крововиливами, некрозом, апоптозом і десквамацією клітин респіраторного епітелію альвеол, що призводить до порушення легеневого газообміну (гіпоксемія, гіперкапнія) і клінічно проявляється дихальною недостатністю [2].

Актуальність питань діагностики ГРВІ обумовлена тим, що час для прийняття рішення вкрай обмежений у зв'язку з високою швидкістю розвитку симптомів і можливих ускладнень, навантаженням на лікаря в період епідемій і складністю призначення ефективного етіотропного лікування.

Для верифікації діагнозу ГРВІ необхідно застосовувати специфічні методи діагностики, що базуються на виділенні збудника чи його антигенів і/або виявленні специфічних противірусних антитіл. Особливої ваги набуває застосування експрес-діагностики ГРВІ, зважаючи на появу засобів етіотропного лікування, які найефективніші в перші 2 доби захворювання [3]. У цей термін застосовується реакція імунохроматографії (результат отримується через 15–20 хв після постановки реакції, що може проводитися безпосередньо біля ліжка хворого, не потрібні лабораторний персонал і спеціальне оснащення — cito-test), реакція імунофлюоресценції (результат отримують через 2–3 год, проводиться в умовах лабораторії). При підозрі на грип метод імунохроматографії дозволяє швидко встановити тип і навіть підтип вірусу, яким уражений пацієнт. Метод дозволяє також швидко відібрати контингент для поглибленого серологічного й вірусологічного обстеження на грип [2].

Серологічні дослідження в парних сироватках крові є методом ретроспективної діагностики. Найбільш вагомими з них є реакція зв'язування комплементу, реакція гальмування гемаглютинації і реакція непрямой гемаглютинації. Доказовим є чотириразове наростання титру антитіл. Вірусологічне дослідження є найбільш тривалим, трудо-

містким і дорогим методом, тому застосовується лише в епідеміологічній практиці й наукових дослідженнях [2].

Слід зазначити, що при будь-якому обраному підході до діагностики ГРВІ одним з найважливіших факторів є якість і терміни забору досліджуваного матеріалу. Останній має бути отриманий на самому початку захворювання (не пізніше ніж через 48 год), а обсяг зразка повинен бути достатнім для проведення прямого дослідження. Це обумовлено тим, що в зазначений період вірус ще екскретується у відносно великих кількостях і не зв'язаний антитілами. Також важливий вибір матеріалу відповідно до передбачуваного захворювання, тобто потрібен матеріал, у якому з огляду на патогенез захворювання ймовірність наявності вірусу буде найбільшою [4].

Суттєвим досягненням в етіологічній діагностиці ГРВІ стало застосування полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), що дозволила значно підвищити якість верифікації діагнозу [4]. У листопаді 2020 року медична лабораторія «Діла» впровадила інноваційне для України дослідження — «Скринінг респіраторних інфекцій, ПЛР, 21 показник, FTD (високочутливий)». Дослідження виконується за запатентованою європейською методикою Fast Track Diagnostics (FTD), яка забезпечує значно вищу чутливість і специфічність тест-системи до кожного патогену порівняно з аналогічними ПЛР-методиками.

Дослідження виконується протягом 24 годин, що дозволяє проводити своєчасну етіологічну верифікацію хвороби.

Дослідження призначене для діагностики респіраторних інфекцій, які викликані такими збудниками: вірус грипу А (IAV), вірус грипу А лінії H1N1 (IAV [H1N1] swl), вірус грипу В (IBV), риновірус (HRV), коронавіруси людини (HCoV) 229E, NL63, HKU1 і OC43, віруси парагрипу (HPIV) з 1 по 4, метапневмовірус (HMPV) А і В, бокавірус (HBoV), *Mycoplasma pneumoniae* (*M.pneumoniae*), респіраторні синцитіальні віруси (HRSV) А і В, пареховірус (HPeV), ентеровірус (EV) та аденовірус (HAdV) [5].

Автором методики є компанія Fast Track Diagnostics (FTD), яка спеціалізується на розробці й виробництві наборів для виявлення інфекційних захворювань, у яких використовується синдромна мультиплексна ПЛР-панель у реальному часі [6]. Про світове визнання цієї методики свідчить той факт, що комплекти FTD використовуються мережею GABRIEL для проєктів, що фінансуються Welcome Trust і проєктом PERCH, фінансованим Фондом Білла і Мелінди Гейтс [7].

У 2016 році компанія FTD розробила ліофілізовані набори для ПЛР у реальному часі, що включають всі праймери, зонди, ферменти й буфери, необхідні в одній пробірці для зразків пацієнта. Технологія FTD дозволяє проводити цілий комплекс тестів одночасно. Це метод дозволяє

Таблиця 1

№	Назва дослідження	Аналітична чутливість (копій/мл)
1	ДНК Adenovirus, ПЛР	$1,5 \times 10^5$
2	ДНК Bocavirus, ПЛР	$1,6 \times 10^4$
3	РНК Coronavirus HKU1, ПЛР	$4,9 \times 10^4$
4	РНК Coronavirus 229E, ПЛР	$1,6 \times 10^4$
5	РНК Coronavirus OC43, ПЛР	$2,9 \times 10^4$
6	РНК Coronavirus NL63, ПЛР	$1,9 \times 10^4$
7	РНК Enterovirus, ПЛР	$1,4 \times 10^5$
8	РНК Influenza A H1N1, ПЛР	$1,9 \times 10^4$
9	РНК Influenza A, ПЛР	$2,8 \times 10^4$
10	РНК Influenza B, ПЛР	$9,8 \times 10^4$
11	РНК Metapneumovirus A, ПЛР	$1,4 \times 10^4$
12	РНК Metapneumovirus B, ПЛР	$1,4 \times 10^4$
13	ДНК Mycoplasma pneumoniae, ПЛР	$3,7 \times 10^3$
14	РНК Parechovirus, ПЛР	$4,1 \times 10^4$
15	РНК Parainfluenza virus 1, ПЛР	$5,8 \times 10^3$
16	РНК Parainfluenza virus 2, ПЛР	$5,6 \times 10^4$
17	РНК Parainfluenza virus 3, ПЛР	$2,7 \times 10^4$
18	РНК Parainfluenza virus 4, ПЛР	$9,9 \times 10^4$
19	РНК Respiratory syncytial viruses A, ПЛР	$1,0 \times 10^3$
20	РНК Respiratory syncytial viruses B, ПЛР	$1,2 \times 10^4$
21	РНК Rhinovirus (HRV), ПЛР	$7,6 \times 10^4$

лікарям діагностувати інфекції навіть за дрібними зразками ДНК або РНК збудника [6]. Упроваджуючи систему FTD у свій комплекс молекулярної діагностики гострих респіраторних інфекцій, медична лабораторія «Діла» підвищує якість обслуговування пацієнтів, оскільки при використанні технології FTD зникає потреба в повторному діагностичному дослідженні, скорочується час аналізу і, як наслідок, покращуються результати лікування, і допомагає лікарям з етіологічним підтвердженням діагнозу.

Методика забору матеріалу для дослідження надзвичайно проста. Для дослідження використовується мазок з носоглотки й ротоглотки. Пацієнт перед дослідженням повинен виконати такі вимоги: за 30 хвилин до взяття мазків з ротоглотки (зіву) не вживати їжу, не пити рідину, не чистити зуби, не полоскати рот/горло, не жувати жувальну гумку й не палити. За 2 години до взяття мазків з носа не закапувати краплі, не застосовувати спреї і не промивати ніс. Перед взяттям мазка за наявності рясних виділень з носа необхідно очистити носові ходи — сильним видихом видалити слиз із носа.

Одночасне виявлення декількох респіраторних патогенів стало можливим завдяки впровадженню

молекулярних мультиплексних тестів після традиційних одноплексних тестів. Діагностичний контекст «Скринінг респіраторних інфекцій, ПЛР, 21 показник, FTD (високочутливий)» був розроблений для одночасного виявлення вірусних і бактеріальних нуклеїнових кислот у назо-/орофарингеальних мазках людини як діагностичний засіб для оцінки респіраторних інфекцій. Розробником приділена велика увага аналітичній чутливості реагентів (аналітична чутливість — це здатність набору послідовно виявляти задану цільову послідовність у випробуваних біологічних зразках; найнижча концентрація, що виявляється в  $\geq 95\%$  випробуваних зразків, визначається як «межа виявлення») [8].

Патогени й аналітична чутливість тест-системи наведені в табл. 1.

Аналітичну специфічність визначають:

— перехресна реактивність: здатність тесту конкретно виявляти передбачувані патогени (включно з відповідними підтипами, якщо вони вказані), причому ніяких інших патогенів у біологічних зразках не повинно бути виявлено;

— специфічність: гарантія того, що тест не дасть хибнопозитивні результати при тестуванні негативних зразків.

Таблиця 2

№	Назва дослідження	Можлива перехресна реактивність
1	ДНК Adenovirus, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
2	ДНК Bocavirus, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
3	РНК Coronavirus HKU1, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
4	РНК Coronavirus 229E, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
5	РНК Coronavirus OC43, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
6	РНК Coronavirus NL63, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
7	РНК Enterovirus, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
8	РНК Influenza A H1N1, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
9	РНК Influenza A, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
10	РНК Influenza B, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
11	РНК Metapneumovirus A, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
12	РНК Metapneumovirus B, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
13	ДНК Mycoplasma pneumoniae, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
14	РНК Parechovirus, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
15	РНК Parainfluenza virus 1, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
16	РНК Parainfluenza virus 2, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
17	РНК Parainfluenza virus 3, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
18	РНК Parainfluenza virus 4, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
19	РНК Respiratory syncytial viruses A, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
20	РНК Respiratory syncytial viruses B, ПЛР	Відсутність перехресної реактивності
21	РНК Rhinovirus (HRV), ПЛР	Потенційна перехресна реакція з іншими видами ентеровірусу

Загальна специфічність обчислюється як середнє значення аналітичної специфічності, що спостерігається для кожного окремого збудника, і становить 99,3 % для дослідження «Скринінг респіраторних інфекцій, ПЛР, 21 показник, FTD (високочутливий)» [8].

Показники перехресної реактивності стосовно тест-системи, що використовується для дослідження «Скринінг респіраторних інфекцій, ПЛР, 21 показник, FTD (високочутливий)», наведені в табл. 2.

На завершення слід зазначити, що ГРВІ, як група найбільш поширених захворювань, потребують від лікарів усіх спеціальностей вміння провести клінічну й лабораторну діагностику, вибрати раціональну терапевтичну тактику залежно від етіології захворювання й характеру його перебігу, визначити доцільну профілактику з урахуванням індивідуальних особливостей організму й тенденцій епідемічної ситуації [3]. Допомогу в обранні правильної тактики лікування надає своєчасна лабораторна діагностика. Використання інноваційного для України дослідження «Скринінг респіраторних інфекцій, ПЛР, 21 показник, FTD (високочутливий)» має суттєво підвищити якість діагностики і, відповідно, лікування ГРВІ.

**Конфлікт інтересів.** Не заявлений.

## Список літератури

1. Уніфікований клінічний протокол первинної медичної допомоги дорослим та дітям «Гострі респіраторні інфекції». 2016.
2. Голубовська О.А., Шкурба А.В., Печінка А.М. Гострі респіраторні захворювання та грип: особливості сучасного перебігу, лікування та профілактика. Україна. Здоров'я нації. 2012. № 1(21). С. 129-140.
3. Принципи діагностики та лікування хворих на гострі респіраторні вірусні захворювання: Методичні рекомендації. 2009.
4. Перцева Т.А., Киреева Т.В., Черкасова А.В., Братусь Е.В. Острые респираторные вирусные инфекции: современная диагностика, подходы к выбору терапии. Український медичний часопис. IX/X 2012. № 5(91). С. 67-70.
5. <http://www.fast-trackdiagnostics.com/human-line/products/filyo-respiratory-pathogens-21-plus>
6. <http://www.fast-trackdiagnostics.com>
7. <https://www.gatesfoundation.org>
8. CLSI. Validation and Verification of Multiplex Nucleic Acid Assays. 2<sup>nd</sup> ed. CLSI guideline MM17. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

Отримано/Received 02.11.2020

Рецензовано/Revised 16.11.2020

Прийнято до друку/Accepted 23.11.2020 ■

Анастасій І.А.<sup>1</sup>, Ісаєв В.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені А.А. Богомольця, г. Київ, Україна

<sup>2</sup>Медичинська лабораторія «Діла», г. Київ, Україна

### Современные перспективы лабораторной диагностики острых респираторных заболеваний и гриппа

**Резюме.** В статье представлен анализ доступных источников научной литературы, посвященных современным аспектам лабораторной диагностики острых респираторных заболеваний и гриппа.

**Ключевые слова:** острые респираторные заболевания; грипп; острые респираторные вирусные инфекции; лабораторная диагностика

I.A. Anastasiy<sup>1</sup>, V.M. Isaiev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>DILA Medical Laboratory, Kyiv, Ukraine

### Modern prospects of laboratory diagnosis of acute respiratory diseases and influenza

**Abstract.** The article presents an analysis of the available sources of scientific literature on modern aspects of laboratory diagnosis of acute respiratory diseases and influenza.

**Key words:** acute respiratory diseases; influenza; acute respiratory viral infections; laboratory diagnosis