

Ю.І.Фещенко¹,
В.К. Гаврисюк¹,
І.В. Дзюблик²,
О.Я. Дзюблик¹,
Г.Л. Гуменюк¹,
М.І. Гуменюк¹,
Г.Б. Капітан¹,
В.А. Ячник¹

ІНФЕКЦІЙНЕ ЗАГОСТРЕННЯ ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ: МІСЦЕ І РОЛЬ РЕСПІРАТОРНИХ ВІРУСНИХ ЗБУДНИКІВ

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського
Національної академії медичних наук України»¹

вул. Миколи Амосова, 10, Київ, 03038, Україна

ДУ «Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України»²

вул. Дорогожичська, 9, Київ, 04012, Україна

SI "National Institute of Phthisiology and Pulmonology named after F.G. Yanovsky
National Academy of Medical Sciences of Ukraine"¹

Mykola Amosov str., 10, Kyiv, 03038, Ukraine

SI "National Medical Academy of Postgraduate Education named after P.L. Shupik Ministry of Health of Ukraine"²

Dorogozhitskaya str., 9, Kyiv, 04012, Ukraine

e-mail: treat@ifp.kiev.ua

Цитування: Медичні перспективи. 2019. Т. 24, № 4. С. 30-35

Cited: Medicni perspektivi. 2019;24(4):30-35

Ключові слова: хронічне обструктивне захворювання легень, інфекційне загострення, респіраторні вірусні збудники, швидкі імунохроматографічні тести, мультиплексна ПЛР у реальному часі

Ключевые слова: хроническое обструктивное заболевание легких, инфекционное обострение, респираторные вирусные возбудители, быстрые иммунохроматографические тесты, мультиплексная ПЦР в реальном времени

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, infectious exacerbation, respiratory viral pathogens, rapid immunochromatographic tests, real-time multiplex PCR

Реферат. Инфекционное обострение хронического обструктивного заболевания легких: место и роль респираторных вирусных возбудителей. Фещенко Ю.И., Гаврисюк В.К., Дзюблик И.В., Дзюблик А.Я., Гуменюк Г.Л., Гуменюк Н.И., Капитан Г.Б., Ячник В.А. Для установления распространенности и спектра вирусных возбудителей у больных с инфекционным обострением (ИО) хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ) обследовано 106 пациентов, которым было проведено вирусологическое обследование с использованием быстрых иммунохроматографических тестов (ИХ-тестов), а также мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с одновременной идентификацией 12 респираторных вирусов. Респираторные вирусы, как этиологический фактор ИО ХОЗЛ, идентифицированы у 65,9±4,7% больных. Наибольшую этиологическую значимость за весь период наблюдения среди вирусных возбудителей имели аденовирус и риновирус – в 24,5±6,1% случаев каждый и вирус парагриппа – в 18,4±4,6%. Значительно реже выявляли вирус гриппа А и В – в 8,2±3,9% и в 4,1±2,8% случаев соответственно; респираторно-синцициальный вирус и бокавирус – в 6,1±3,4% и метапневмовирус – в 8,2±3,9% случаев. Последние два вида вирусов были выявлены в Украине впервые. Спектр вирусных возбудителей ИО ХОЗЛ зависел от сезонной циркуляции того или иного вида вируса, эпидемиологической ситуации в регионе и особенностей обследованной популяции. Использование современных технологий вирусологической диагностики свидетельствует о ведущей роли респираторных вирусов в этиологии ИО ХОЗЛ, а также позволяет установить этиологический диагноз в короткий промежуток времени – от 10-15 мин. при применении быстрых ИХ-тестов и до 6-8 ч. при использовании мультиплексной ПЦР в реальном времени, что способствует своевременному назначению адекватного этиотропного лечения.

Abstract. Infectious exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease: place and role of respiratory viral pathogens. Feshchenko Y.I., Gavrisyuk V.K., Dziublyk I.V., Dziublyk O.Ya., Gumeniuk G.L., Gumeniuk M.I., Kapitan G.B., Yachnik V.A. To determine the prevalence and spectrum of viral pathogens in patients with infectious exacerbation (IE) of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), 106 patients were examined, who underwent a virological examination using fast immunochromatographic tests (IC-tests), as well as real-time multiplex polymerase chain reaction (PCR) with the simultaneous identification of 12 respiratory viruses. Respiratory viruses, as the

etiological factor of IE COPD were identified in $(65.9 \pm 4.7)\%$ of patients. Among viral pathogens adenovirus and rhinovirus - in $(24.5 \pm 6.1)\%$ of cases each and parainfluenza virus - in $(18.4 \pm 4.6)\%$ were of greatest etiological significance for the entire observation period. The influenza A and B virus was detected much less frequently - in $(8.2 \pm 3.9)\%$ and in $(4.1 \pm 2.8)\%$ of cases, respectively; respiratory syncytial virus and bocavirus – in $(6.1 \pm 3.4)\%$ and metapneumovirus – in $(8.2 \pm 3.9)\%$ of cases. The last two types of viruses were detected in Ukraine for the first time. The spectrum of viral pathogens of IE COPD depended on the seasonal circulation of a particular type of virus, the epidemiological situation in the region, and the characteristics of the examined population. The use of modern virological diagnostic technologies testifies to the leading role of respiratory viruses in the etiology of IE COPD and also allows the etiological diagnosis to be established in a short period of time – from 10-15 minutes when using fast IC-tests and up to 6-8 hours – when using real-time multiplex PCR, which contributes to the timely administration of adequate etiotropic treatment.

Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) залишається однією з найважливіших проблем охорони здоров'я [8]. Це зумовлено, в першу чергу, значною розповсюдженістю цієї патології, достатньо високими показниками інвалідності і смертності, а також величезними моральними та матеріальними збитками, яких зазнають хворі, члени їх родин та економіки країн у всьому світі [9], [11]. Важливими епізодами в перебігу ХОЗЛ є загострення процесу, що негативно впливають на стан здоров'я, підвищують частоту госпіталізацій, призводять до прогресування хвороби та погіршення якості життя пацієнтів [14]. Загострення ХОЗЛ – комплекс подій, що, зазвичай, асоціюються зі збільшенням запалення дихальних шляхів, зростанням продукції слизу та помітною гіперінфляцією легень. Через ці зміни посилюється задишка, що є ключовою ознакою загострення. Інші респіраторні симптоми – збільшення пірентності і кількості мокротиння, а також посилення кашлю і свистячого дихання [8]. Загострення приблизно у 80% випадків мають інфекційну природу, а в інших – пов'язані із забрудненням оточуючого середовища, температурними факторами, низькою комплаєнтністю або відміною базисної терапії [9, 14, 15].

За останніми даними, інфекційні загострення (ІЗ) ХОЗЛ спричиняються головним чином вірусними респіраторними збудниками, хоча і бактеріальні етіопатогени можуть їх ініціювати та/або підсилювати [4, 12]. Найбільш часті вірусні збудники – риновіруси людини та аденовіруси, які можуть визначатись ще протягом тижня після початку загострення. Асоційовані з вірусними інфекціями загострення більш тяжкі, триваліші, потребують більш частих госпіталізацій, переважно взимку [15].

На жаль, навіть у разі використання традиційних мікробіологічних методів дослідження збудник ідентифікують у кращому разі в 50% випадків [6, 7]. Це вказує як на обмежені можливості рутинної етіологічної діагностики легеневих інфекцій, так і на відсутність

відомостей про всі потенційні етіопатогени цих захворювань.

Для ідентифікації вірусних збудників на сучасному етапі використовується лабораторна діагностика, яка може проводитися класичними вірусологічними, імунологічними та молекулярно-генетичними методами [6]. На наш погляд, найбільш інформативними та перспективними з них для етіологічної діагностики ІЗ ХОЗЛ є молекулярно-генетичні дослідження, які ґрунтуються на ідентифікації ДНК/РНК геному збудника [5]. Незважаючи на те, що ці методи є досить складними, потребують для проведення висококваліфікованих спеціалістів, відповідних кошторисних діагностиків та спеціального лабораторного обладнання, вони мають дуже великий потенціал та характеризуються найбільшими рівнями чутливості та специфічності [1], дозволяють не лише ідентифікувати збудник, але й встановити наявність у нього генів резистентності до певних антимікробних хіміопрепаратів [13]. Крім того, вони дають можливість одночасно ідентифікувати вірусні та бактеріальні патогени, що особливо важливо під час епідемій гострих респіраторних інфекцій та може мати вирішальний вплив на вибір тактики лікування та призначення антимікробних хіміопрепаратів [2, 10].

Мета роботи – встановити поширеність та спектр вірусних збудників у хворих з інфекційним захворюванням (ІЗ) ХОЗЛ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єкт дослідження – 106 хворих з ІЗ ХОЗЛ, які проходили обстеження та лікування в акредитованій клініці ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського Національної академії медичних наук України» (НІФП НАМНУ) (директор – академік НАМН України, д-р мед. наук, професор Ю.І. Фещенко) в 2014-2016 рр. Вірусологічні дослідження проводили в лабораторії кафедри вірусології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України (завідувач кафедри – д-р мед. наук, проф. І.В. Дзюблик). Дослідження виконані на кошти держбюджету.

У роботі був використаний комплекс методичних підходів, що включав сучасні експрес-методи індикації вірусів у клінічному матеріалі – швидкі тести на основі імунохроматографічного аналізу (ІХ-тести) та молекулярно-генетичну діагностику методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з фіксацією результату в реальному часі (realtime-PCR) [5].

Матеріалом для проведення лабораторних досліджень були мазки або змиви з носоглотки. У всіх пацієнтів при поступленні до відділення проводилась експрес-діагностика грипу А і В, аденовірусу та РС-вірусу за допомогою швидких ІХ-тестів: «CITO TEST INFLUENZA A+B» (Фармаско, Україна), «CITO TEST ADENO RESPI» (Фармаско, Україна) та «CITO TEST RSV» (Фармаско, Україна). В основі їх лежить специфічна взаємодія антигенів і антитіл на хроматографічній мембрані тесту після її змочування рідиною досліджуваного зразка від хворого. Така взаємодія відбувається внаслідок дифузного переміщення індикаторного імунного компонента, зафарбованого колоїдним золотом, заздалегідь нанесеного на мембрану, та антигенів досліджуваного зразка після нанесення останнього на мембрану. При отриманні позитивних результатів цих тестів у подальшому молекулярне генетичне дослідження не проводилось. У всіх інших випадках (88 хворих) виконували мультиплексну ПЛР у реальному часі з використанням тест-системи «Seeplex® RV12 ACE Detection» («Seegen», Корея), яка давала можливість одночасно визначати наявність маркерів ДНК/РНК 12 респіраторних вірусів: аденовірусу; бокавірусу; метапневмовірусу; вірусу грипу А;

вірусу грипу В; РС-вірусу А і В; риновірусу; парагрипу 1,2,3,4; коронавірусу 229E/NL63. Для постановки ПЛР у реальному часі застосовували ампліфікатор «RotorGene 6000» («Corbett Research», Австралія).

Описова статистика (кількість спостережень, середнє значення, помилка середнього значення, частота, процент) наведена для усіх показників аналізу з урахуванням їх типу згідно з рекомендаціями С. М. Лапача та співавт. [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При обстеженні 106 пацієнтів з ІЗ ХОЗЛ за допомогою швидких ІХ-тестів респіраторні віруси ідентифіковані у 18 ($17,0 \pm 3,7\%$) хворих (рис. 1). Серед виявлених етіопатогенів провідне місце посідали аденовіруси (55,6%) та віруси грипу А і В (33,3%).

Мультиплексна ПЛР у реальному часі була виконана у 88 пацієнтів, що дало можливість встановити вірусні збудники в 43 ($48,9 \pm 5,4\%$) хворих. Найбільшу етіологічну значущість за весь період спостереження мали аденовірус та риновірус – у $24,5 \pm 6,1\%$ випадків кожний та вірус парагрипу – у $18,4 \pm 4,6\%$. Значно рідше виявляли вірус грипу А і В – у $8,2 \pm 3,9\%$ та в $4,1 \pm 2,8\%$ випадків відповідно; респіраторно-синцитіальний вірус та бокавірус – кожний у $6,1 \pm 3,4\%$ та метапневмовірус – у $8,2 \pm 3,9\%$ випадків.

Слід зазначити, що в 4 хворих одночасно ідентифікували 2 та більше вірусних патогенів. Так, у 2 хворих виявлено поєднання бока- та аденовірусу, в 1 хворого – бока- та метапневмовірусу і в 1 хворого – респіраторно-синцитіального вірусу, вірусу грипу В та вірусу грипу А.

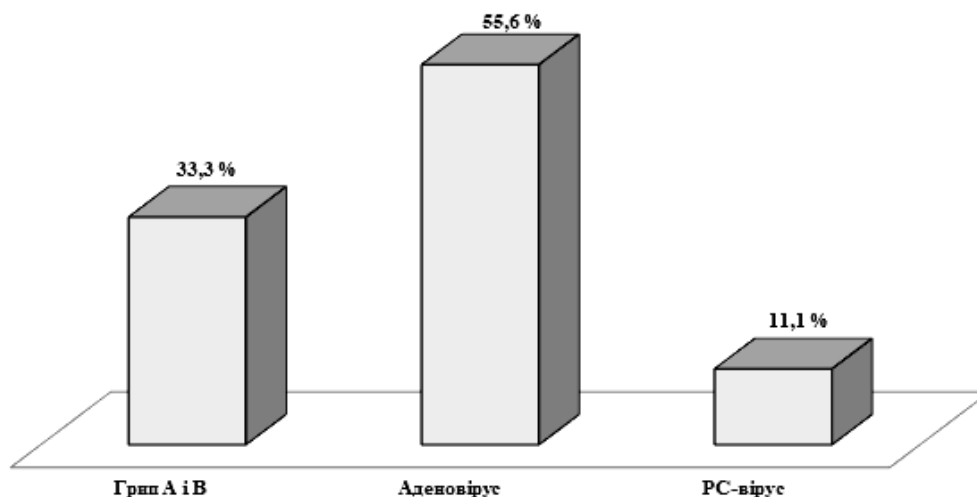


Рис. 1. Спектр респіраторних вірусів, виявлених за допомогою ІХ-тестів

У хворих на ІЗ ХОЗЛ вірусні збудники були виявлені переважно в осінньо-зимовий та зимово-весняний періоди: у вересні-грудні – у 37,5% обстежених пацієнтів, у січні-березні – у 46,3%, що в цілому збіглося із сезонністю захворювання на грип та ГРВІ. Як видно на представлених рисунках, спектр вірусних збудників ІЗ ХОЗЛ мав чітку залежність від періоду проведення обстеження. Так, у 2014 р. (рис. 2) переважну роль у розвитку ІЗ ХОЗЛ мали риновіруси (55,0%), віруси грипу А і В

сумарно виявляли в 27,0% пацієнтів. Особливістю цього року стала поява в спектрі вірусних збудників метапневмовірусу (9,0%). У 2015 р. (рис. 3) переважали аденовіруси (52,2%), а також були ідентифіковані поряд з вірусами грипу А і В та парагрипу метапневмовірус та РС-вірус. У січні-березні 2016 (рис.4) домінували віруси парагрипу (47,0%), у значному відсотку виявляли бокавірус (20,0%) та метапневмовірус (13,0%).

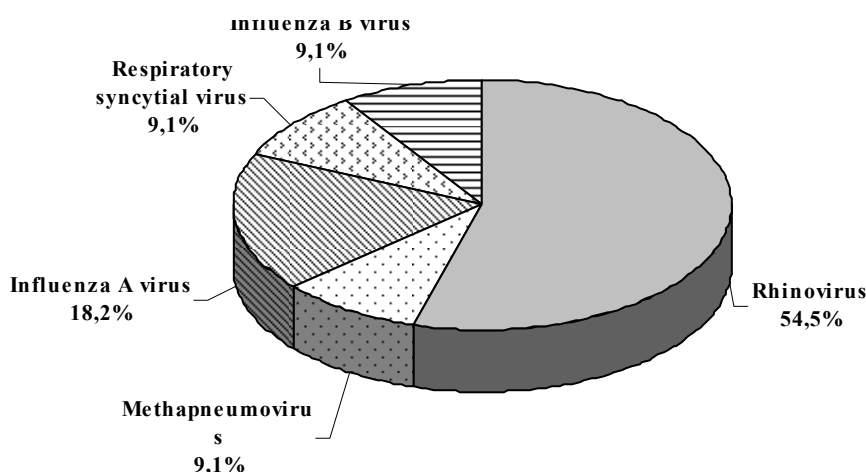


Рис. 2. Спектр ідентифікованих вірусних збудників ІЗ ХОЗЛ у 2014 р. за допомогою ПЛР

Таким чином, використання запропонованих методів діагностики дозволило встановити етіологічний збудник ІЗ ХОЗЛ у цілому в $65,9 \pm 4,7\%$ хворих, при цьому за допомогою мультиплексної ПЛР-діагностики ідентифіковані віруси в 48,9% випадків, а ІХ-тестів – у 17,0% випадків. У той же час зручність виконання та наявність швидких тестів для ідентифікації вірусів грипу А і В залишають цей спосіб

діагностики одним з основних для діагностики грипу, особливо в епідеміологічний період. Отримані нами дані також свідчать про розширення спектра патогенів та появу в ньому нових респіраторних вірусів – метапневмовірусу та бокавірусу людини, що зумовлює пошук і розробку нових підходів у терапії хворих на ІЗ ХОЗЛ.

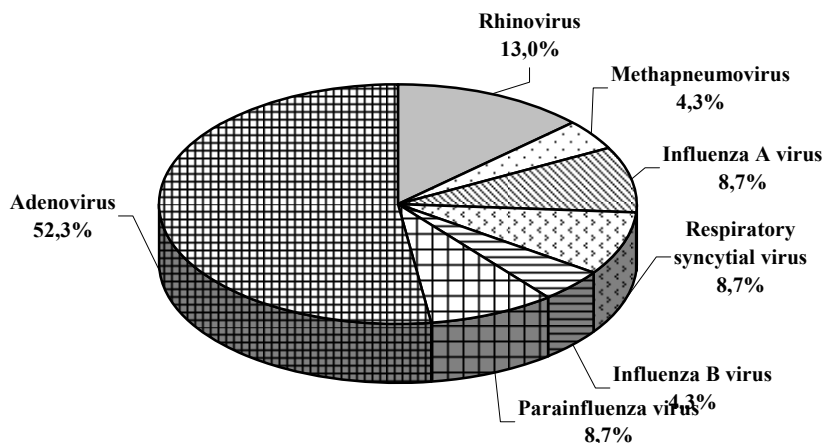


Рис. 3. Спектр ідентифікованих вірусних збудників ІЗ ХОЗЛ у 2015 р. за допомогою ПЛР

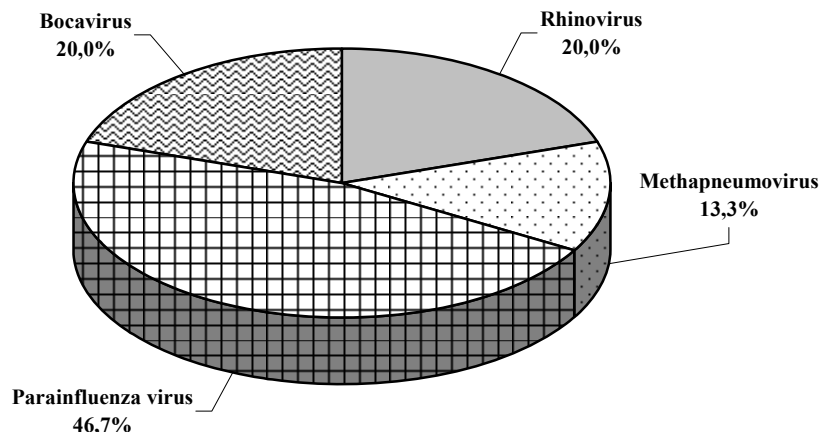


Рис. 4. Спектр ідентифікованих вірусних збудників ІЗ ХОЗЛ у 2016 р. за допомогою ПЛР

ВИСНОВКИ

1. Респіраторні віруси посідають провідне місце в структурі збудників ІЗ ХОЗЛ та відіграють важливу роль у виникненні та розвитку цього патологічного стану.
2. Одночасне застосування швидких ІХ-тестів та ПЛР у реальному часі в мультиплексному форматі дозволяє підвищити ефективність етіо-

логічної діагностики ІЗ ХОЗЛ і встановити особливості спектра респіраторних вірусів.

3. Уперше в Україні ідентифіковані нові респіраторні віруси (метапневмовірус та бокавірус людини) в етіології ІЗ ХОЗЛ, що потребує подальших досліджень у цьому напрямку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дзюблик І. В., Соловійов С. О., Ковалюк О. В. Операційні характеристики ефективності сучасних тестів в етіологічній діагностиці вірусних інфекцій та їх інтерпретація. *Профілактична медицина*, 2017. Т. 29, № 3-4. С. 103-121.
2. Дзюблик Я. О. Негоспітальні інфекції нижніх дихальних шляхів: монографія. Вінниця: ТОВ «Меркьюрі-Поділля», 2016. 255 с.
3. Лапач С. М., Чубенко А. В., Бабич П. М. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: МОРИОН, 2000. 320 с.
4. Перцева Т. О., Плеханова О. В. Аналіз причин та структури загострення хронічного обструктивного захворювання легень. *Медичні перспективи*. 2009. Т. 14, № 2. С. 53-58.
5. Полімеразна ланцюгова реакція в лабораторній діагностиці інфекційних хвороб: навч. посіб. / ред. І. В. Дзюблик, Н. Г. Горovenko. Київ, 2012. 219 с.
6. Рачина С. А., Козлов Р. С. Современные подходы к микробиологической диагностике при внебольничной пневмонии. *Пульмонология*. 2010. № 1. С. 5-14.
7. Синопальников А. И. Внебольничные инфекции дыхательных путей: подходы к рациональной антибактериальной терапии. *Consilium medicum*. 2017. № 19 (11.1 Болезни органов дыхания) С. 45-51.
8. Хронічне обструктивне захворювання легень / Ю. І. Феценко та ін. Київ: НАМНУ, 2019. 67 с.
9. Decramer M., Janssens W., Miravittles M. Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*. 2012. V. 379. P. 1273-1364. DOI: <https://doi.org/10.2147/COPD.S132236>
10. Early administration of the first antimicrobials should be considered a marker of optimal care of patients with community-acquired pneumonia rather than a predictor of outcomes / J. Bordon et al. *Int. J. Infect. Dis.* 2013. Vol. 17, Suppl. 5. P. 293-298. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.09.021>
11. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010 / R. Lozano et al. *Lancet*. 2012. Vol. 380, No. 9859. P. 2095-2128. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
12. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections / M. Woodhead et al. *Clinical microbiol infect.* 2011. Vol. 17, Suppl. 6. P. E1-59. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03672>
13. Quantitative fucK gene polymerase chain reaction on sputum and nasopharyngeal secretions to detect Haemophilus influenzae pneumonia: text /

G. M. Abdeldaim et al. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2013. Vol. 76, Suppl. 2. P. 141-146. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.02.015>

14. Management of COPD exacerbations: a European Respiratory Society/American Thoracic Society guideline, J. Wedzicha et al. *Eur. Respir. J.* 2017. Vol. 49, Suppl 3. P. 1600791.

DOI: <https://doi.org/10.1183/13993003.00791-2016>

15. The Aetiology of Acute Exacerbations in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (AECOPD): A Systematic Literature Review (SLR) / J. Willson et al. *Eur. Respir. J.* 2018. Vol. 52, Suppl. 62. P. A4091. DOI: <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2018.PA4091>

REFERENCES

1. Dziublyk IV, Solovyov SO, Kovaluk OV. [Operational characteristics of the effectiveness of modern tests in the etiological diagnosis of viral infections and their interpretation]. *Preventivna Medicina.* 2017;3-4(29):103-121. Ukrainian.

2. Dziublyk YaO. [Non-hospital infections of the lower respiratory tract]. Vinnytsia: Mercury-Podillya. 2016;255. Ukrainian.

3. Lapach SM, Chubenko AV, Babich PM. [Statistical methods in biomedical research using Excel]. Kyiv: MORION; 2000. p. 320. Russian.

4. Pertseva TO, Plekhanova OV. [Analysis of causes and structure of exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease]. *Medicni Perspektivi.* 2009;14(2):53-58. Ukrainian.

5. Dziublyk IV, Gorovenko NG. [Polymerase chain reaction in laboratory diagnostics of infectious diseases: a textbook]. Kyiv. 2012;219. Ukrainian.

6. Rachina SA, Kozlov RS. [Modern approaches to microbiological diagnosis in community-acquired pneumonia]. *Pulmonologiya.* 2010;1:5-14. Russian.

7. Sinopalnikov AI, [Community-acquired infections of the respiratory tract: approaches to rational antibiotic therapy]. *Consilium Medicum.* 2017;19:45-51. Russian. doi: https://doi.org/10.26442/2075-1753_19.11.1.45-51

8. Feshchenko YuI, et al. [Chronic obstructive pulmonary disease] Kyiv: NAMNU; 2019. p. 67. Ukrainian.

9. Decramer M, Janssens W, Miravittles M. Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet.* 2012;379:1273-1364. doi: <https://doi.org/10.2147/COPD.S132236>

10. Bordon J, et al. Early administration of the first antimicrobials should be considered a marker of optimal care of patients with community-acquired pneumonia rather than a predictor of outcomes. *Int J Infect Dis.* 2013;(17 Suppl. 5):293-298.

doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.09.021>

11. Lozano R, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *Lancet.* 2012 Dec 15;380(9859):2095-128. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)

12. Woodhead M, et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Clin Microbiol Infect.* 2011;(17 Suppl 6):E1-59. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03672>

13. Abdeldaim GM, et al. Quantitative fucK gene polymerase chain reaction on sputum and nasopharyngeal secretions to detect Haemophilus influenzae pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;(76 Suppl. 2):141-146. doi: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.02.015>

14. Wedzicha J, et al. Management of COPD exacerbations: a European Respiratory Society/American Thoracic Society guideline. *Eur Respir J.* 2017;49(3):1600791. doi: <https://doi.org/10.1183/13993003.00791-2016>

15. Willson J, et al. The Aetiology of Acute Exacerbations in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (AECOPD): A Systematic Literature Review (SLR). *Eur Respir J.* 2018;(52 Suppl.):PA4091. doi: <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2018.PA4091>

Стаття надійшла до редакції
23.09.2019

