

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-3-89-97>

## Острые респираторные заболевания и грипп в современном акушерстве: эпидемиологические особенности и проблемы диагностики: обзор литературы

Т. В. Припутневич, Е. Н. Ачкасова, В. В. Чубаров, А. Б. Гордеев\*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Минздрава России, Москва

### Резюме

**Актуальность.** Острые респираторные заболевания (ОРЗ) являются серьезной проблемой здравоохранения. Беременные относятся к пациентам с факторами риска по развитию тяжелого/осложненного течения ОРЗ и гриппа. **Цель работы.** Провести обзор литературы по эпидемиологическим особенностям и проблемам диагностики ОРЗ и гриппа в современном акушерстве.

**Выводы.** Представлены показатели заболеваемости ОРЗ в структуре инфекций человека, описана специфика течения ОРЗ у беременных женщин, факторы риска по тяжелому течению гриппа и вторичным осложнениям, проведен сравнительный анализ современных подходов к диагностике ОРЗ. Отмечена острая необходимость в создании комплексной диагностической ПЦР тест-панели, адаптированной для применения в акушерстве.

**Ключевые слова:** острое респираторное заболевание, беременные, острая респираторная вирусная инфекция, акушерство, грипп, диагностика, тест-панель

**Конфликт интересов не заявлен.**

**Для цитирования:** Припутневич Т. В., Ачкасова Е. Н., Чубаров В. В. и др. Острые респираторные заболевания и грипп в современном акушерстве: эпидемиологические особенности и проблемы диагностики: обзор литературы. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2019; 18 (3): 89–97. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-3-89-97>.

### Acute Respiratory Diseases and Influenza in Modern Obstetrics: Epidemiological Features and Diagnostic Problems: Literature Review

T. V. Priputnevich, E. N. Achkasova, V. V. Chubarov, A. B. Gordeev

VI Kulakov, Russian Federation, Moscow 117997, Russian Federation, Moscow, Ac. Oparina street, 4. +7 916-226-86-67, gordeew@vega.protres.ru.

### Abstract

Relevance Acute respiratory infections (ARI) are a serious health problem. Pregnant women are patients with risk factors for the development of severe/complicated course of ARI and influenza. Aims To review the literature on epidemiological features and problems of diagnosis of ARI and influenza in modern obstetrics. Conclusions. The review showed indicators of the incidence of acute respiratory diseases (ARI) among infectious diseases, described the specificity of ARI in pregnant women, risk factors for severe influenza and secondary complications among pregnant women, a comparative analysis of modern approaches used for the diagnosis of ARI. There is an urgent need to create a comprehensive diagnostic test panel adapted for use in obstetrics.

Key words: acute respiratory infection, pregnant women, acute respiratory viral infection, obstetrics, influenza, diagnosis, test panel

**No conflict of interest to declare.**

**For citation:** Priputnevich TV, Achkasova EN, Chubarov VV et al. Acute Respiratory Diseases and Influenza in Modern Obstetrics: Epidemiological Features and Diagnostic Problems: Literature Review. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2019; 18 (3): 89–97 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-3-89-97>.

\* Для переписки: Гордеев Алексей Борисович, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории микробиологии отдела микробиологии, клинической фармакологии и эпидемиологии Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова, 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. +7 916-226-86-67, gordeew@vega.protres.ru. © Припутневич Т. В. и др.

\*\* For correspondence: Gordeev Alexey B., Cand. Sci. (Biol.), senior researcher in the Laboratory of microbiology, Department of microbiology, clinical pharmacology and epidemiology National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician VI Kulakov, Russian Federation, Moscow 117997, Russian Federation, Moscow, Ac. Oparina street, 4. +7 916-226-86-67, gordeew@vega.protres.ru.

## NASC Information

Ежегодно, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире около 40 млн человек страдают от инфекционных болезней, среди которых 90% приходится на грипп и другие острые респираторные заболевания (ОРЗ). Инфекции верхних дыхательных путей являются серьезной проблемой здравоохранения не только из-за высокой частоты их возникновения, но и вследствие наносимого ими экономического ущерба как в виде прямых затрат (стоимость диагностики и лечения), так и не прямых расходов (нетрудоспособность, снижение производительности труда и т.п.).

Аббревиатура ОРЗ включает заболевания респираторного тракта, вызываемые различными возбудителями, чаще всего – вирусами (острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ)), вирусно-бактериальными ассоциациями и бактериальными агентами, очень редко – грибами и простейшими. Из широкого многообразия респираторных вирусов (более 200) ведущими возбудителями ОРВИ являются вирусы гриппа, парагриппа, а также аденовирусы, риновирусы, респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус), коронавирусы, реовирусы, энтеровирусы, бокавирусы, метапневмовирусы; увеличивается роль вирусных ассоциаций [1,2].

Среди бактериальных возбудителей ОРЗ чаще всего выявляют *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila (Chlamydia) pneumoniae* и *Klebsiella pneumoniae* [3].

Особое место среди ОРЗ занимает грипп, ежегодно во время эпидемических подъемов заболевает 5–10% взрослого населения и 20–30% детей [4]. События последних лет были непосредственно связаны с распространением в мире пандемического вируса гриппа A(H1N1)pdm09. Однако уже в сезоне 2016–2017 гг. наблюдалась смена циркулирующих штаммов с A(H1N1)pdm09 на A(H3N2), что изменило структуру заболевших и длительность эпидемического периода [4].

По вероятности развития тяжелого течения гриппа выделяют следующие группы пациентов с факторами риска: дети младшего возраста (особенно младше 2 лет), беременные, лица любого возраста с хроническими заболеваниями легких (бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь лёгких и др.), сердечно-сосудистой системы (застойная хроническая сердечная недостаточность), почек, эндокринной системы (сахарный диабет, морбидное ожирение и др.), иммунодефицитами различной этиологии, пациенты старше 65 лет.

На основании эпидемиологических данных за последние несколько десятилетий ВОЗ включила беременных в группу риска по развитию тяжелого/осложненного течения гриппа [5]. По данным метаанализов, учитывающих только лабораторно подтвержденные случаи гриппа, в период последней пандемии установлено, что больные гриппом

беременные требуют госпитализации в 4 раза чаще, чем небеременные; наиболее тяжело протекает грипп у пациенток в III триместре беременности; более 8% госпитализированных беременных (преимущественно в III триместре беременности) требуют проведения интенсивной терапии; показатель летальности от гриппа максимален беременных в III триместре и достигает 16,9%; преждевременные роды у больных гриппом беременных наблюдаются в 3 раза чаще; перинатальная смертность в 5 раз выше [5,6]. В силу гормональных и физиологических изменений, происходящих в организме в период беременности, в случаях гриппа беременные подвержены большему риску развития осложнений. В работе Li Z. с соавт. [7] показано, насколько увеличивается заболеваемость беременных во время пандемий гриппа: если во время сезонных подъёмов заболеваемость беременных составляла 480–1100 на 10 тыс. населения, то во время пандемий гриппа этот показатель увеличивался до 8360.

В странах Европы и Северной Америки необходимость госпитализации беременных в стационар может находиться в диапазоне от 4,3% (Ирландия) до 13% (США) от числа всех госпитализаций, связанных с гриппом [8,9]. В первое десятилетие двадцать первого века около 60% заболевших гриппом беременных нуждались в интенсивных лечебных мероприятиях [10,11]. Наиболее часто беременных госпитализировали во II или в III триместрах беременности, причем до 51% из них имели различные отягощающие фоновые состояния [12].

Госпитализация беременных во многих регионах России в период последней пандемии гриппа была высокой, зачастую слишком поздней, когда не удавалось спасти жизнь пациентке [13–15]. в 2009–2010 гг. показатель госпитализации в Московском регионе повысились с 5,91 до 15,34 на 1000 заболевших взрослых и с 2,31 до 5,44 на 1000 заболевших беременных. Грипп был лабораторно подтвержден у 69,1% беременных в 2008–2009 гг., у 79,4% – в 2009–2010 гг. и у 85,3% – в 2010–2011 гг. [16].

Учитывая, что течение гриппа чревато развитием различного рода осложнений, своевременная госпитализация беременных крайне необходима. Важными факторами риска тяжёлого/осложнённого течения гриппа, в том числе и среди беременных, являются: сопутствующие хронические заболевания лёгких и сердечно-сосудистой системы, а также наличие эндокринных (сахарный диабет) и метаболических (в первую очередь, ожирение) нарушений. Осложнённые формы гриппа характеризуются рядом неотложных состояний, как правило, являющихся результатом крайне тяжёлого, гипертоксического течения инфекции или присоединения вторичных осложнений. К наиболее опасным, угрожающим жизни беременной стоит отнести различные респираторные нарушения, а также синдром системной воспалительной реакции,

которые являются основными причинами смерти беременных. Частое осложнение гриппа во время беременности – синдром потери плода (самопроизвольные аборт, внутриутробная гибель плода, преждевременные роды). Причинами этого являются непосредственно эмбриотоксическое действие вируса и нарушение маточно-плацентарного кровообращения на фоне интоксикации и гипертермии. Частота самопроизвольного прерывания беременности при осложнённом течении гриппа достигает 20–25%, преждевременные роды – 16,5% [17].

В ряде исследований показано, что возможна и трансплацентарная передача вируса гриппа от матери плоду. Убедительных данных по частоте подобного инфицирования нет, однако, по всей видимости, наиболее часто трансплацентарная передача вируса гриппа происходит при инфицировании субтипом A(H1N1) pdm09 [18]. У беременных, болеющих гриппом, возможны такие грозные осложнения как преэклампсия и эмболия легких [19]. Клинические признаки этих состояний могут быть сходны с основными проявлениями гриппозной инфекции: развитие дыхательной недостаточности, тахипноэ, боли в грудной клетке. По-видимому, грипп представляет опасность для беременных с ранних сроков беременности, когда происходит закладка органов и тканей плода. Вместе с тем данные о влиянии гриппозной инфекции на плод весьма противоречивы. Статистически значимая связь установлена для таких дефектов, как расщелина губы с/без волчьей пасти, а также дефектов развития нервной трубки и врождённых пороков сердца. В ряде исследований выявлена связь между перенесённым беременной гриппом и последующим развитием у ребенка лейкемии, шизофрении, аутизма, различных неврологических заболеваний и метаболических расстройств. Одним из наиболее опасных для плода является реакция иммунной системы беременной на инфекцию, заключающаяся, в частности, в выработке воспалительных цитокинов Th1 и активации комплемента, в результате чего появляется риск отторжения плода [20]. Имеются сообщения о связи заболевания беременных гриппом во II и III триместрах с дефектами головного или спинного мозга, с аномалиями сердечно-сосудистой системы у новорожденных [21]. Авторы полагают, что эти врождённые уродства не связаны непосредственно с действием на плод вируса, а скорее обусловлены повышением температуры тела при гриппозной инфекции, поскольку при применении лекарств, понижающих температуру, частота врождённых уродств у новорожденных снижалась [7]. Другие авторы также установили связь между гриппом у беременных и частотой опухолей мозга или нейробластом у детей [22].

Что касается вторичных осложнений гриппа у беременных, то как и у всех больных гриппом, может иметь место бактериальная пневмония, осложнения со стороны ЛОР-органов (гаймориты, отиты, фронтиты, синуситы, лакунарная и фолликулярная

ангина), сепсис, а также состояния, обусловленные обострением сопутствующих заболеваний (бронхиальная астма, сердечно-сосудистые заболевания, заболевания печени и почек) [17].

По данным ВОЗ, примерно у 10% всех заболевших гриппом и у 50% госпитализированных по этой причине развивается пневмония. В США сопутствующая гриппу пневмонию регистрировали у 40% госпитализированных пациентов [23]. В Новой Зеландии и Австралии у 20% больных гриппом A(H1N1), госпитализированных в отделение интенсивной терапии, диагностировали вторичную бактериальную пневмонию [24].

Как уже было отмечено, грипп, во время беременности может приводить к выкидышу и смерти плода, рождению нежизнеспособного ребенка с последующим летальным исходом. Так, например, во время пандемии 1968–1969 гг. удалось выделить вирус гриппа из легочной ткани и мозга детей, умерших после рождения [25]. В плаценте женщин, перенесших грипп, находили нарушения плацентарного кровообращения (тромбоз интервилллёзного пространства, очаговые кровоизлияния в базальную пластинку плаценты, пуповину), которые неблагоприятно влияли на плод.

Нередко причинами возможного прерывания беременности являются гиперацидоз, гриппозная токсемия, приводящие к капилляритам, васкулитам [8]. Указывается и на прямое воздействие вируса гриппа на гладкую мускулатуру сосудов. У плода и младенцев матерей с гриппозными пневмониями чаще развивается внутриутробная пневмония, церебральная ишемия, внутрижелудочковые кровоизлияния, судорожный и вегетовисцеральный синдромы, транзиторная дисфункция миокарда.

Беременные с тяжёлыми формами гриппа, в том числе с тяжёлым течением пневмонии, должны госпитализироваться в отделения реанимации, блоки интенсивной терапии, оснащённые современной аппаратурой для проведения респираторной поддержки и комплексного мониторинга. В этих отделениях персонал подготовлен к оказанию высококвалифицированной помощи: искусственной вентиляции легких, легочно-сердечной реанимации, санационной фибробронхоскопии. Наблюдение и лечение этой категории пациенток осуществляют совместно врачи-реаниматологи, терапевты (пульмонологи), акушеры-гинекологи и инфекционисты.

Акушерская тактика определяется индивидуально для каждой беременной консилиумом врачей. Грипп, перенесённый в ранние сроки беременности, не является медицинским показанием к прерыванию беременности, но женщины должны быть предупреждены о возможности высокого риска перинатальных осложнений. Тяжёлое течение гриппа в I триместре нередко приводит к спонтанным абортam и угрозе выкидыша. Прерывание беременности во II триместре и родоразрешение в разгар гриппа сопровождаются высокой частотой

## NASC Information

осложнений у матери и плода [13]. В целом при гриппе госпитализация показана больным с тяжёлым и средней тяжести течением инфекции, а в период эпидемии – всем беременным с выраженным синдромом интоксикации. При подозрении на развитие осложнений гриппа или выявлении пневмонии госпитализация беременных обязательна, независимо от её тяжести, поскольку в большинстве случаев дальнейшее течение процесса стремительно.

Летальность среди беременных с тяжёлой гриппозной инфекцией, вызванной вирусом гриппа A(H1N1)pdm09, отличалась в разных странах. Так, в Нидерландах смертельных исходов за весь период пандемии зарегистрировано не было. В то же время в других странах Европы летальность от гриппа среди беременных в 2009–2010 гг. составляла от 0,7% (Греция), до 6,9% (Великобритания) [26–28]. За весь период пандемии в Англии летальность среди беременных равнялась 9 на 10 000 клинических случаев. В Австралии и США доля умерших беременных среди всех смертельных случаев от пандемического гриппа составила от 1,6 до 16% [26]. В России этот показатель был 0,22–0,3% [29]. Большинство смертельных случаев наблюдалось в третьем триместре гестации [30].

С точки зрения клинической практики большинство неосложнённых, нетяжёлых случаев ОРЗ нуждается, как правило, только в симптоматической терапии. Что касается гриппа, то для данной инфекции существует профилактическая вакцинация. Но, поскольку вакцины штаммоспецифичны, ежегодно обновляются и не всегда совпадают с циркулирующими штаммами, достичь полной защиты от гриппа не удастся. Перенесенный грипп или вакцинация оставляют длительный иммунитет к данной инфекции и родственным разновидностям вируса, однако антигенный дрейф вирусов гриппа (относительно небольшие изменения антигенов) повышает восприимчивость населения и определяет очередной сезонный подъём заболеваемости, нередко достигая размеров эпидемии. Вирус гриппа А, помимо дрейфа, способен к внезапным мутациям с рекомбинацией фрагментов РНК (антигенный шифт). В результате этого возникают пандемии (с периодичностью 10–40 лет), во время которых заболевает значительное число лиц, нуждающихся в противовирусной терапии.

На сегодняшний день существуют две основных группы препаратов для лечения гриппа: производные адамантана и ингибиторы нейраминидазы. Производные адамантана используют крайне редко из-за быстрого развития к ним устойчивости вируса [31]. Наиболее часто применяемым классом препаратов являются ингибиторы нейраминидазы вируса гриппа, но высокая частота мутаций вируса ограничивает использование противовирусных препаратов [32]. И хотя циркулирующие в настоящее время штаммы в основном чувствительны к ингибиторам нейраминидазы, данные мониторинга

в разгар эпидсезона 2008–2009 гг. демонстрировали резкий рост (до 98–100%) резистентности вируса гриппа А H1N1 к осельтамивиру [33]. Подобные наблюдения указывают, что устойчивость может развиваться очень быстро.

Внимание исследователей привлекает новая группа препаратов – ингибиторы полимезного комплекса (пимодивир, фавипиравир и S-033188), которые активно изучаются как для самостоятельного применения, так и в комбинации с ингибиторами нейраминидазы [34]. В настоящее время возможности вируса приобретать устойчивость к препаратам данной группы плохо изучены, но существует мнение, что поскольку точкой приложения являются высоко консервативные домены, то быстрое развитие устойчивости маловероятно [35].

Учитывая, что беременные являются группой повышенного риска по развитию осложнений гриппа, им показано обязательное назначение этиотропной терапии. Рекомендуется раннее назначение противовирусных препаратов (желательно не позднее 24–48 часов от момента заболевания). При этом клиницистам не стоит дожидаться подтверждения результатов тестов на обнаружение вируса гриппа, так как отрицательный экспресс-тест не опровергает диагноз гриппа. Что касается выбора препаратов, то в настоящее время наиболее эффективными, рекомендованными ВОЗ для лечения беременных, являются ингибиторы нейраминидазы. При неосложненном течении гриппа беременным антибактериальная терапия, как правило, не требуется.

Применение антибактериальных препаратов рекомендовано при возникновении осложнений (синуситы, пневмонии, отиты, вторичные менингиты), а также при ОРЗ, изначально вызванными бактериальными агентами. Во время беременности для плода безопасно назначение пенициллинов, в том числе ингибитор-защищенных, и цефалоспоринов.

Имеются научные исследования о целесообразности включения в комплекс базисной терапии ОРЗ у беременных с 14 недель гестации местно (на поверхность слизистой оболочки носа и/или на поверхность нёбных миндалин) действующей формы рекомбинантного человеческого интерферона  $\alpha 2b$ . Например, включение интерферона- $\alpha 2b$  в виде геля в комплекс базисной терапии ОРЗ у беременных приводит к уменьшению содержания в назальном смыве интерлейкина-8, нарастанию Т-лимфоцитов и Т-хелперов, более выраженной тенденции к снижению натуральных киллеров; положительно влияет на микробиоценоз слизистых оболочек верхних дыхательных путей, снижает число бактериальных осложнений и сводит к минимуму потребность в системной антибактериальной терапии [36].

Для выбора правильной стартовой этиотропной терапии важна быстрая и корректная диагностика конкретной нозологии. Опираясь только



на клинико-эпидемиологические данные, зачастую невозможно установить конкретный этиологический агент, поэтому очень важную роль играет лабораторная диагностика. Для клиницистов с точки зрения своевременной противовирусной терапии важно знать, с каким возбудителем мы имеем дело. Является ли причиной интоксикационного и катарального синдрома у данного конкретного пациента вирус гриппа или это ОРВИ негриппозной этиологии. Среди возможных возбудителей ОРЗ бактериальной природы или вторичных осложнений ОРВИ для рационального персонализированного подбора антибактериальной терапии также важно установить конкретного возбудителя. Таким образом, оптимизация терапии в ряде групп пациентов (особенно среди беременных) невозможна без современной и точной этиологической диагностики.

В настоящее время для выявления возбудителя ОРЗ используют разнообразные методы, в частности, культуральный, иммунофлуоресценции, иммуноферментного анализа (ИФА), молекулярно-генетические, а также с использованием моноклональных антител.

Культуральные методы широко используются для диагностики возбудителей ОРЗ бактериальной природы и непригодны для диагностики ОРЗ вирусной этиологии. В распоряжении современных микробиологических лабораторий имеется арсенал селективных питательных сред, автоматических и полуавтоматических микробиологических анализаторов, позволяющих провести точную видовую идентификацию разнообразных бактериальных и грибковых возбудителей.

Существенный прорыв в применении культуральных методов произошёл с появлением метода матрично-активированной лазерной десорбционной/ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) [37]. В начале XXI века метод MALDI-TOF MS анализа стал ведущим способом идентификации микроорганизмов, выделенных на питательных средах, и неотъемлемой частью современной микробиологической лаборатории, позволив резко удешевить культуральные исследования и сократить время исследования, что заметно приблизило наступление «быстрой микробиологии», так необходимой клиницистам [38]. С помощью MALDI-TOF MS возможно не только определение видовой принадлежности чистой культуры, но и выявление возбудителей в биоматериалах, например, в моче и положительных гемокультурах. Преимущества культуральных методов: относительно высокая специфичность исследования, возможность определения чувствительности выделенных возбудителей к антибактериальным и противовирусным препаратам. Кроме того, культуральными методами выявляются только живые микроорганизмы.

Метод иммунофлуоресценции применяется для дифференциальной диагностики вирусных возбудителей ОРЗ и основан на применении антител,

связанных с флуоресцентным красителем. Есть два варианта реализации метода: прямой и непрямой. Метод широко применяется для быстрой расшифровки этиологии ОРВИ в мазках со слизистой оболочки верхних дыхательных путей [39]. Результаты выдаются примерно через 2–4 часа. Метод иммунофлуоресценции обладает умеренной чувствительностью и высокой специфичностью. Тесты на основе иммунофлуоресценции (РИФ, ПИФ, РПИФ и др.) применяют для обнаружения антигенов вирусов гриппа, респираторно-синцитиального вируса, аденовирусов, вирусов парагриппа и др.

ИФА сходен с методом иммунофлуоресценции, но антитела метятся не флуоресцентными красителями, а ферментами. В качестве ферментов чаще всего используется пероксидаза хрена и щелочная фосфатаза, реже – бета-галактозидаза и различные бета-лактамазы [40]. Антитела, меченные ферментами, связываются с антигеном, добавляется субстрат для фермента, с которым конъюгированы антитела, происходит реакция ферментативного катализа, тем самым обнаруживается комплекс «антиген-фермент». Метод ИФА используется для обнаружения вирусных антигенов, в частности антигенов вирусов гриппа А и В. Достоинства метода: можно использовать различные виды клинического материала, метод способен детектировать растворимые антигены, имеется возможность количественного определения антигенов.

Моноклональные антитела (МКА) используют для определения вирусных антигенов и представляют собой однородные по структуре и специфичности антитела, которые вырабатываются иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону. МКА могут быть выработаны против почти любого природного антигена (антитело будет его специфически связывать) и применяться для обнаружения этого вещества [39]. Преимущества применения моноклональных антител: высокие показатели специфичности и чувствительности диагностических методов определения вирусных антигенов. Узкая специфичность моноклонов, представляющих небольшую долю вирусных белков, которые могут не присутствовать в клиническом материале, преодолевается использованием нескольких моноклональных антител к различным вирусным детерминантам.

В последние годы в лаборатории биотехнологии НИИ гриппа выполнен цикл приоритетных исследований по разработке гибридом – продуцентов МКА, направленных к вариабельным и консервативным сайтам молекул гемагглютинина и нуклеопротеина вирусов гриппа [40,41]. МКА являются основой для перспективных разработок современных высокоточных чувствительных диагностических тест-систем, в том числе и для диагностики и принятия решения «у постели больного». Такие тест-системы предназначены, в том числе, и для отслеживания возможных путей эволюции вирусов гриппа, а также для создания прогностических моделей их

## NASC Information

изменчивости в лабораторных условиях. На основе МКА уже разработаны системы для идентификации подтипов вируса гриппа А, включая сезонные (Н1, Н3) и потенциально пандемические штаммы (субтипов Н2, Н5, Н7 и Н9), вирусов гриппа типа В Викторианской и Ямагатской эволюционных ветвей, а также других вирусных возбудителей ОРЗ (аденовирусов, РСВ и парагриппозных вирусов).

Для быстрой диагностики вирусов, в первую очередь, вирусов гриппа активно используются экспресс-тесты. Современные экспресс-тесты могут идентифицировать вирусные нуклеопротеидные антигены гриппа А и В в респираторных образцах и качественно отображать результат (положительный или отрицательный). Экспресс-тесты имеют ограниченную чувствительность по сравнению с другими методами, а отрицательные результаты тестов следует интерпретировать с осторожностью, учитывая потенциал ложноотрицательных результатов, особенно во время вспышек гриппа. Большинство диагностических тестов для экспресс-диагностики гриппа, которые могут быть выполнены непосредственно в кабинете у врача, обладают чувствительностью около 50–70% для идентификации возбудителя и примерно 90% специфичностью. Ложноотрицательные результаты встречаются чаще, чем ложноположительные, особенно во время пиковой активности гриппа в обществе. Однако из-за ограниченной чувствительности, при отрицательных результатах быстрых диагностических тестов не следует исключать грипп у пациентов с симптомами, свидетельствующими о возможном гриппе. Поэтому, если клиническая картина заболевания дает основание подозревать у пациента грипп, противовирусную терапию не следует откладывать, несмотря на наличие отрицательного результата по экспресс-тестам. Дальнейшее исследование на грипп респираторных образцов может быть продолжено с помощью молекулярно-генетических методов [42,43].

Преимущества экспресс-тестов: высокая специфичность (до 90%), быстрота выполнения теста на грипп (менее чем за 15 минут), простота выполнения. Недостатки: невысокая тестовая чувствительность (50–70%), при больших вспышках возможно появление ложноотрицательных результатов, чувствительность экспресс-тестов для выявления вирусных антигенов гриппа В ниже, чем для выявления вирусных антигенов гриппа А [42–44].

В настоящее время для идентификации возбудителей ОРЗ широко применяют молекулярно-генетические методы, которые включают две большие группы: методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР), и методы, связанные со свойствами нуклеотидных последовательностей ДНК/РНК. К первой группе относят: традиционный ПЦР-анализ/ПЦР с проведением обратной транскрипции, ПЦР-анализ/ПЦР с проведением обратной транскрипции в режиме реального времени и мультиплексная ПЦР. Ко второй

группе – молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот, секвенирование, методы изотермической амплификации нуклеиновых кислот и петлевой изотермической амплификации.

Традиционный ПЦР-анализ может использоваться только в отношении ДНК-содержащих микроорганизмов, к которым относятся все бактерии и лишь небольшое количество вирусов человека, приводящих к развитию ОРЗ. Для выявления фрагментов РНК у РНК-содержащих вирусов используется модификация традиционного ПЦР-анализа – ПЦР-анализ с проведением реакции обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). Данный анализ позволяет с высокой точностью и достаточно быстро проводить дифференциальную диагностику вирусных возбудителей ОРЗ. Самые быстрые молекулярно-генетические анализы способны дать результаты примерно через 20–30 минут с достаточно высокой чувствительностью и специфичностью. Метод активно используется для идентификации вируса гриппа А [45]. На основе ОТ-ПЦР разработаны и активно используются методы молекулярного субтипирования вирусов гриппа [46]. В последние годы традиционный ПЦР-анализ активно заменяется более удобной реализацией ПЦР – методом ПЦР в режиме реального времени.

Чувствительность ПЦР-исследования практически не изменяется при взятии материала на фоне начатой терапии противовирусными препаратами из-за того, что в реакции выявляется специфический фрагмент вирусной РНК. По этой же причине положительный результат исследования не всегда указывает на наличие живого вируса (репликацию) и не всегда означает, что пациент остается заразным для окружающих. ПЦР характеризуется редкими ложноположительными и ложноотрицательными результатами как во время эпидемии, так и в период низкой заболеваемости ОРВИ. Идентификация вируса гриппа с помощью ПЦР возможна в течение более длительного времени от начала заболевания по сравнению с большинством других тестов. Тем не менее, взятие отделяемого носо/ротоглотки оптимально в первые 48–72 часа от начала заболевания. Это связано с тем, что интенсивная репликация вируса гриппа при поражении верхних дыхательных путей происходит в течение первых 4 суток заболевания. У пациентов с вовлечением нижних отделов дыхательных путей вирусная нагрузка сохраняется высокой в течение более длительного времени. Исследование отделяемого носоглотки и мокроты дает лучшие результаты по сравнению с исследованием отделяемого ротоглотки [44].

Из второй группы методов современной реализацией гибридизации нуклеиновых кислот являются ДНК-микрочипы. Для РНК в ряде случаев сначала осуществляется обратная транскрипция, но существуют и чипы, работающие с РНК. Достоинством микрочипов является возможность одновременного анализа большого числа

(до нескольких тысяч) исследований на одном чипе и низкая стоимость исследования. Существует большое количество разнообразных ДНК-чипов, позволяющих выявлять возбудителей ОРЗ [47,48].

Среди методов секвенирования нуклеиновых кислот (ДНК/РНК), то есть определения их нуклеотидной последовательности, для видовой и внутривидовой идентификации бактерий в настоящее время активно используют секвенирование по Сенгеру. Метод является «золотым стандартом» идентификации и проводится путем таргетного секвенирования участков генов, кодирующих рибосомальные РНК или белки. Чаще всего используются гипервариабельные участки гена, кодирующего 16S рРНК, либо полная последовательность этого гена. Для внутривидового типирования изолятов широко используется метод мультилокусного сиквенс-типирования микроорганизмов (MLST), главный недостаток которого, ограничивающий его применение в диагностических целях, – длительность выполнения (несколько суток).

В последнее время метод Сенгера стал вытесняться технологиями высокопроизводительного секвенирования (Next Generation Sequencing, NGS), которые способны за относительно небольшое время и сравнительно невысокую стоимость секвенировать большое количество нуклеиновых кислот, предоставляя исследователям большие массивы информации [49]. Разработаны реализации этого метода для быстрого определения молекулярных маркеров устойчивости к блокаторам M2 ионных каналов и NA-ингибиторам у вирусов гриппа А H5N1, для определения точечных мутаций устойчивости к NA-ингибиторам [45].

Метод изотермической амплификации нуклеиновых кислот обладает уникальной способностью избирательно амплифицировать специфическую последовательность РНК в присутствии идентичной последовательности ДНК, что определяет основные области его применения: диагностика РНК-содержащих вирусов, изучение экспрессии бактериальных и вирусных генов, диагностика бактериальных инфекций, основанная на выявлении 16S рРНК. В основе метода лежит обнаружение специфического фрагмента нуклеиновой кислоты с помощью двух специфических праймеров и трёх ферментов: обратной транскриптазы, РНКазы H и РНК-полимеразы [45]. Метод позволяет дифференцировать все известные подтипы вируса птичьего гриппа А, а также другие вирусы (РСВ, метапневмовирус человека).

Метод петлевой изотермической амплификации – еще один подход к видовой идентификации вирусов и бактерий, при котором происходит удвоение участка ДНК с высокой специфичностью, эффективностью и скоростью в условиях постоянной температуры. При совмещении с обратной транскрипцией метод может с высокой эффективностью амплифицировать РНК последовательности.

Данный метод основан на автоматическом цикле синтеза ДНК цепи со смещением при использовании ДНК-полимераз с высокой активностью смещения и четырёх специально созданных праймеров. Реакция протекает в изотермических условиях, так как денатурация цепей происходит за счёт их смещения. Методом петлевой изотермической амплификации можно проводить идентификацию различных микроорганизмов: вирусов, бактерий и даже простейших. Метод обладает высокой чувствительностью и скоростью при определении H5N1 и других вирусов гриппа [50].

Таким образом, разработано большое количество разнообразных тестов для дифференциальной диагностики возбудителей ОРЗ. В основе их лежат методы, различающиеся по скорости выполнения, показателям чувствительности и специфичности, стоимости и требованиям к оснащению лаборатории и квалификации персонала. Экспресс-методы просты в использовании, быстры и дешевы, но показатели чувствительности и специфичности у экспресс-тестов относительно невысокие (50–70% и до 90% соответственно).

В свете разработки и появления новых средств этиотропной терапии и важности рациональной антибиотикотерапии осложнений остро встают вопросы точной и быстрой диагностики, что особенно актуально для пациентов из групп с факторами риска тяжелого течения и бактериального суперинфицирования, в первую очередь, у беременных, поэтому, несмотря на наличие большого количества методов дифференциальной диагностики ОРЗ, назрела необходимость в комплексной тест-панели, адаптированной для применения в акушерстве. Такая панель должна быть комбинированной и включать возможность идентификации как основных возбудителей бактериальной природы, так и вирусов – возбудителей ОРВИ. Можно полагать, что такая панель поможет своевременно и правильно назначать и корректировать противовирусную, антибактериальную или комплексную этиотропную терапию ОРЗ на основе скрининговых исследований в учреждениях родовспоможения и экстренной диагностики заболеваний, вызванных вирусами гриппа А и В. Принимая во внимание, что беременные входят в группу с факторами риска по тяжёлому течению гриппа, а восприимчивость к вирусу гриппа нарастает по мере увеличения срока беременности, предотвращение заболеваемости гриппом в учреждениях родовспоможения во время ежегодных эпидемических вспышек является важнейшей проблемой, которую можно успешно преодолеть только путём своевременной диагностики заболеваний с использованием комплексных диагностических тест-панелей, предполагающих автоматизацию исследований.

Нам представляется, что комплексная диагностическая панель помимо видовой идентификации вирусных и бактериальных агентов должна обеспечивать возможность штаммовой





