

# ОСТРЫЕ РЕСПИРАТОРНЫЕ ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ



**ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ**

# ОСТРЫЕ РЕСПИРАТОРНЫЕ ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Набор реагентов для выявления НК возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени «ОРЗ ВирусКомплекс» ФСР 2011/12016 от 15 июня 2015 года

Набор реагентов для выявления РНК вирусов пандемического гриппа А (H1N1), подобных штамму A/California/04/2009 (свиной грипп) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции «Пан H1N1» ФСР 2010/07921 от 22 ноября 2016 года

Набор реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А (*Influenza A virus*) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени ФСР 2011/12014 от 15 июня 2015 года

Набор реагентов для выявления РНК вирусов гриппа В (*Influenza B virus*) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени ФСР 2011/12014 от 15 июня 2015 года

Комплект реагентов для ПЦР-амплификации кДНК вирусов гриппа А и В с детекцией в режиме реального времени (*Influenza A&B virus*) «ГриппКомплекс» ФСР 2011/12014 от 15 июня 2015 года



**Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ)** – группа вирусных заболеваний верхних и нижних дыхательных путей, которые передаются воздушно-капельным путем и характеризуются симптомами инфекционного токсикоза. В настоящее время вирусные инфекции респираторного тракта представляют собой актуальную медицинскую проблему, имеющую важное социально-экономическое значение.

По данным Роспотребнадзора, в структуре инфекционных и паразитарных болезней преобладают острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации, составляя 92,2 %. Около 90 % выплат по временной нетрудоспособности от общего числа всей заболеваемости в Российской Федерации приходится на долю острых вирусных инфекций респираторного тракта [5, 21, 27].

Официально регистрируется более 30 млн случаев острых респираторных заболеваний, из них более 21 млн случаев – у детей до 17 лет. Однако в большинстве случаев пациенты с легкими формами заболевания не обращаются в лечебно-профилактические учреждения, что значительно увеличивает реальное количество заболевших острыми респираторными вирусными инфекциями [5, 21, 27].

Смертность от ОРВИ остается высокой, ежегодно в мире от гриппа умирают около 2 миллионов человек. В России ежегодно на 100 тысяч населения приходится 2–7 случаев смерти среди детей, 80 случаев летальных исходов – на лиц старше 65 лет [5, 21, 27].

### **Клинические особенности ОРВИ и их осложнения**

Этиологическая структура ОРВИ представлена вирусами гриппа, парагриппа, риновирусами, аденовирусной и респираторно-синцитиальной инфекцией, коронавирусами. В настоящее время известно более 300 вирусов, поражающих верхние и нижние отделы дыхательной системы. При этом распространенность различных вирусов существенно различается в разных группах пациентов [40].

В последние десятилетия исследователи подтверждают этиологическую значимость метапневмовируса и бокавируса в возникновении инфекционных заболеваний дыхательных путей у детей. Выявление двух и более вирусов у пациента встречается примерно в 5 % случаев. Наиболее часто полиэтиологичное инфицирование регистрируется в организованных коллективах [18, 28, 35, 45, 47, 49, 53, 73, 74, 76].

Для ОРВИ характерна цикличность и сезонность эпидемиологического процесса, чередование подъемов и спадов заболеваемости. Источником инфекции является больной человек, однако наибольшую опасность представляют пациенты со стертыми клиническими формами инфекции, а также вирусоносители. ОРВИ распространяются преимущественно воздушно-капельным и воздушно-пылевым путями, однако передача некоторых вирусов возможна и контактно-бытовым путем. ОРВИ регистрируются в виде спорадических заболеваний, вспышек, эпидемий и пандемий. Причинами быстрого повсеместного распространения вирусной инфекции дыхательных путей являются высокая контагиозность, короткий инкубационный период, полиэтиологичность инфицирования, снижение иммунного статуса населения, отсутствие иммунитета к новым реассортантам, урбанизация, миграция населения и т. д. Наиболее подвержены инфицированию дети дошкольного возраста, пожилые люди, беременные, пациенты с тяжелыми хроническими заболеваниями и иммунодефицитными состояниями [19, 28, 38].

Клиническая картина заболевания развивается от нескольких часов до 14 дней с момента инфицирования в зависимости от этиологического агента. Для вирусных инфекций дыхательных путей характерны интоксикационный и катаральный синдромы различной степени выраженности [7, 32].

Осложнения ОРВИ и гриппа проявляются в виде отитов, синуситов, пневмоний – присоединения бактериальных агентов, обострения хронических заболеваний органов и систем и т. д. [9, 32].

Дифференциальная диагностика по характерным симптомам затруднена и возможна лишь на ранней стадии заболевания. На пике заболевания патологический процесс в дыхательных путях нередко распространяется с вовлечением всей слизистой оболочки – как верхних, так и нижних отделов дыхательных путей. Кроме того, сходные с ОРВИ симптомы могут наблюдаться при других вирусных заболеваниях, таких как инфекционный мононуклеоз и гепатит. Помимо вирусов некоторые виды бактерий, в том числе хламидии и микоплазмы, способны поражать дыхательные пути, вызывая сходные с ОРВИ симптомы.

Риск заболевания и смертности для беременных при гриппе выше, чем для небеременных женщин, что в первую очередь связано с развитием осложнений, а именно пневмоний, регистрируемых в период эпидемий. При этом следует отметить лидирующее место ОРВИ в структуре экстрагенитальной патологии при беременности (более 2/3 от общей заболеваемости острыми инфекциями), что обусловлено высокой восприимчивостью беременных к вирусным инфекциям, склонностью к хронизации патологических процессов. Для беременных характерно затяжное течение ОРВИ при отсутствии тяжелых клинических проявлений, это связано с повышенной способностью вирусов респираторной группы к репликации в плаценте, а также особенностями иммунной системы беременной женщины [50, 66, 67, 72].

Основной проблемой является решение вопроса о необходимости назначения противовирусной терапии при беременности, поскольку традиционно в лечении больных ОРВИ широко используют симптоматические средства, а этиотропные препараты рекомендуются только для тяжелых форм ОРВИ и в случаях, когда эпидемиологические данные дают основание подозревать наличие вируса гриппа. Поскольку наиболее часто используемые средства этиотропной терапии гриппа («Ремантадин», «Осельтамивир» («Тамифлю»), «Занамивир» («Реленза»), «Арбидол», «Ингавирин», рекомбинантные интерфероны) относятся к категории С по классификации FDA (Food and Drug Administration – Управление по контролю качества продуктов и лекарственных средств США), данные препараты должны назначаться только в случае, если потенциальная польза от их применения превышает риск.

Другой наиболее уязвимой категорией пациентов в плане развития тяжелых форм ОРВИ являются дети первых лет жизни, прежде всего – рожденные раньше положенного срока. Это обусловлено целым рядом факторов. Особенно опасной для таких пациентов является респираторно-синцитиальная вирусная инфекция. Для сравнения: летальность при ней превышает таковую от гриппа у детей в возрасте до 1 года в 8,8 раза. Учитывая отсутствие широких возможностей для лечения респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у детей, в настоящее время на первый план выходит ее диагностика и профилактика [12, 20, 68].

Лабораторное обследование с целью выявления гриппа и ОРВИ необходимо проводить лицам с высоким риском неблагоприятного исхода инфекционного процесса (беременные, лица с хроническими заболеваниями органов и систем, новорожденные), больным с тяжелым и нетипичным течением заболевания, пациентам, госпитализированным с подозрением на гриппоподобные заболевания, в первую очередь лицам, находящимся в организованных коллективах (интернаты, приюты, общежития, казармы и т. д.); а также необходимо проводить исследование патолого-анатомического материала в случаях летального исхода заболеваний, схожих с гриппом. При систематическом мониторинге и расшифровке этиологии заболеваний гриппом и ОРВИ рекомендовано использовать методы быстрой лабораторной диагностики (иммуноферментный анализ и полимеразную цепную реакцию) [29].

### **Определение возбудителя ОРВИ в каждом конкретном случае имеет важнейшее значение для выбора терапии, поскольку позволяет:**

- ❖ на самых ранних стадиях заболевания поставить этиологический диагноз;
- ❖ определить тактику ведения пациента (лечение может быть как симптоматическим (при риновирусной инфекции), так и предполагающим использование этиотропных противовирусных препаратов);
- ❖ оценить прогноз течения заболевания и риск вероятных осложнений;
- ❖ осуществлять динамическое наблюдение за течением заболевания;
- ❖ проводить быструю расшифровку вспышек ОРВИ и мониторинг эпидемиологической обстановки эпидемиологическими службами;
- ❖ принять обоснованное решение о возможности госпитализации пациента с катаральными симптомами в неинфекционные отделения или о необходимости перевода такого пациента в специализированную клинику.

Метод ПЦР позволяет выявлять и идентифицировать ДНК или РНК вируса в течение нескольких часов. Использование метода наиболее эффективно при стертых и атипичных формах заболевания, на ранних стадиях острого инфекционного процесса, а также при проведении дифференциальной диагностики ОРВИ с патологическими процессами в респираторном тракте, вызванными бактериальными агентами, что позволит своевременно назначить лекарственную терапию инфекционного процесса до возникновения осложнений.

Метод ПЦР рекомендован для выявления возбудителей респираторных инфекций в соответствии с нормативными документами:

- ❖ Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 24 декабря 2012 г. № 1450н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи детям при острых респираторных заболеваниях тяжелой степени тяжести»:

A26.09.017 Молекулярно-биологическое исследование лаважной жидкости на респираторно-синцитиальный вирус (*Respiratory syncytial virus*),

A26.09.018 Молекулярно-биологическое исследование лаважной жидкости на аденовирус (*Adenovirus*),

A26.09.019 Молекулярно-биологическое исследование лаважной жидкости на вирус гриппа (*Influenzae virus*);

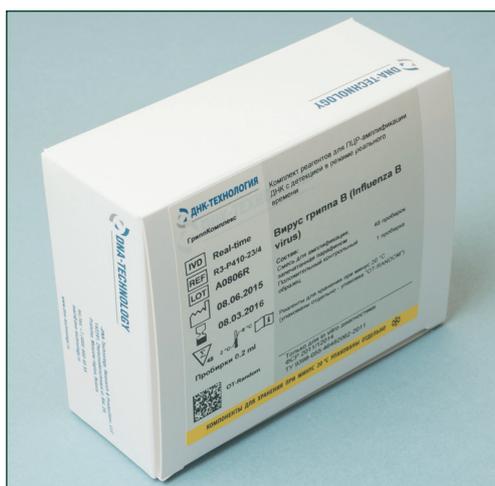
- ❖ Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 9 ноября 2012 г. № 724н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при гриппе средней степени тяжести»:
- A26.09.019 Молекулярно-биологическое исследование лаважной жидкости на вирус гриппа (*Influenzae virus*);
- ❖ Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 9 ноября 2012 г. № 878н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи детям при вирусной инфекции неуточненной локализации легкой степени тяжести»:
- A26.08.008 Молекулярно-биологическое исследование носоглоточных смывов на коронавирус (*Coronavirus*);
- ❖ Национальными клиническими рекомендациями «Грипп у взрослых», 2014;
- ❖ Клиническими рекомендациями по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых, 2014;
- ❖ Национальными рекомендациями по диагностике и лечению тяжелых форм гриппа. Российское Респираторное Общество, 2013;
- ❖ СП 3.1.2.3117-13 «Профилактика гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций», 2013;
- ❖ МУ 3.4.3008-12 – методическими указаниями «Порядок эпидемиологической и лабораторной диагностики особо опасных, «новых» и «возвращающихся» инфекционных болезней», 2012.

## Возбудители ОРВИ



**Вирусы гриппа** – РНК-содержащие вирусы, принадлежат к семейству *Orthomyxoviridae*, роду *Influenzavirus*. Различают три серотипа вируса гриппа: *Influenza A virus* (вирусы гриппа А), *Influenza B virus* (вирусы гриппа В) и *Influenza C virus* (вирусы гриппа С). На поверхности вирусной частицы гриппа А располагаются два антигена: гемагглютинин и нейраминидаза.

На сегодняшний день известны 16 типов гемагглютинина (Н) и 9 типов нейраминидазы (N). При комбинации типа гемагглютинина и нейраминидазы образуются субтипы (например, H1N1, H3N2). Вирусы гриппа А могут вызывать эпидемии и пандемии. Антигенные различия у вируса типа В не имеют цифровых обозначений.



Вирус гриппа В не вызывает пандемий, однако может быть причиной возникновения крупных эпидемических вспышек. Вирус гриппа С имеет стабильную антигенную структуру, вызывает локальные эпидемические вспышки в детских коллективах [36, 42, 43].

Инкубационный период гриппа составляет от нескольких часов до 3–12 дней. Репликация вируса происходит в эпителиальных клетках дыхательной системы, вызывая апоптоз последних. Продукты распада, попадая в кровь, вызывают интоксикацию организма.

Важным звеном патогенеза вирусов гриппа является поражение эндотелия сосудов, что увеличивает их проницаемость и приводит к дополнительному повреждению тканей. Вирусы, циркулирующие в крови, оказывают повреждающее действие

на иммунную систему, нарушая звенья иммунитета, что способствует микст-инфицированию, присоединению бактериальной инфекции, вызывая осложнения. Ведущими являются интоксикационный (озноб, сильная головная боль, головокружение, миалгии, артралгии, выраженная слабость) и катаральный (сухость и ощущение першения в горле, заложенность носа, трахеобронхит) синдромы. Одним из основных симптомов токсикоза при гриппе является цианоз носогубного треугольника. Осложнения гриппа проявляются в виде пневмонии (первичная вирусная и вторичная бактериальная или бактериально-вирусная), отита, синусита и т. д. [17, 23, 52].

**Вирусы парагриппа** — РНК-содержащие вирусы, принадлежат к семейству *Paramyxoviridae*, род *Paramyxovirus*. Существует 5 серотипов вируса парагриппа (1, 2, 3, 4А, 4В). Семейству парамиксовирусов в отличие от вирусов гриппа не свойственна изменчивость. Парагриппу (ПГ) свойственна определенная периодичность подъема заболеваемости: вирусы ПГ 1-го и 2-го типов регистрируют раз в 2 года, 4-го типа — раз в 4 года, ПГ 3-го типа вызывает спорадические случаи или групповые вспышки в детских коллективах.

Вирусы ПГ вызывают заболевания преимущественно у детей в возрасте 3–5 лет, однако вирус 4-го типа может поражать детей в возрасте одного месяца. Резервуаром и источником инфекции является человек, больной клинически выраженной или стертой формой парагриппа.

Репликация вируса происходит в цитоплазме эпителиальных клеток дыхательной системы, преимущественно поражая слизистую оболочку носа и гортани. Вирусы парагриппа обладают гемагглютинирующим и гемолитическим действием.

Инкубационный период составляет 2–4 дня. Клинические проявления заболевания продолжаются 3–6 дней. К основным симптомам относят незначительное и непродолжительное повышение температуры, недомогание, кашель, ринит.

Наиболее характерным симптомом парагриппа является поражение гортани: ларингит или ларинготрахеит с осиплостью голоса и сухим грубым лающим кашлем. Осложнения ПГ проявляются в виде бронхита, пневмонии, крупа [2–4, 33, 34].

**Метапневмовирус (Human metapneumovirus, HMPV)** является РНК-содержащим вирусом, относится к семейству *Paramyxoviridae*, подсемейству *Pneumovirinae*. Метапневмовирус был открыт в 2001 году, поэтому в настоящее время изучен недостаточно. В настоящее время идентифицировано два генотипа вируса (А и В) и по два субтипа в каждом из них. По аминокислотным последовательностям метапневмовирус близок к респираторно-синцитиальному вирусу. HMPV инфицирует только человека, в умеренных климатических широтах циркулирует на протяжении всего года, пик его активности приходится на конец зимы и начало весны.

Метапневмовирус регистрируется у детей в возрасте 6–12 месяцев в 25 % случаев, а к 10 годам почти в 100 % случаев выявляются антитела к этому вирусу. Однако при снижении иммунитета возможны случаи реинфицирования. К группам риска относят детей, пожилых людей, иммунокомпрометированных лиц. HMPV поражает эпителиальные клетки дыхательных путей, вызывая их гибель, что приводит к активации клеточного иммунного ответа и повышенной продукции слизи. Процесс может переходить в хроническую стадию, на которой выявляются локальные геморрагии, экспансия лимфоидной ткани, внутриальвеолярное накопление макрофагов.

В экспериментальных исследованиях на животных было выявлено, что после бифазной репликации вирус мигрирует к нервным волокнам легочной ткани, где находится в персистирующем состоянии.

Инкубационный период составляет 3–5 дней. Клинические проявления варьируют от иннаппарантных и легких форм до бронхоиолитов, альвеолитов, пневмоний и астматических приступов. Для метапневмовирусной инфекции характерны фебрильная лихорадка, кашель, диспноэ, одышка, влажные хрипы, ринорея и т. д. Осложнения инфекции HMPV проявляются в виде средних отитов, легочных ателектазов, перикардитов, у детей возможно возникновение крупа, астматических приступов [8, 22, 51, 59, 60, 70].

**Респираторно-синцитиальный вирус (Human respiratory syncytial virus, HRSV)** — РНК-содержащий вирус, относится к семейству *Paramyxoviridae*, роду *Pneumovirus*. HRSV ежегодно вызывает эпидемии в осенние и весенние месяцы, поражая до 30 % населения. Во время эпидемий наиболее подвержены инфицированию дети в возрасте 3–4 месяцев. Особенно тяжело HRSV-инфекция протекает у детей, находящихся в группе риска (дети первых 6 месяцев жизни, недоношенные новорожденные, дети с врожденными заболеваниями бронхолегочной, сердечно-сосудистой систем, рожденные с низкой массой тела и т. д.), являясь причиной летального исхода в 3–5 % случаев. HRSV обладает тропизмом к эпителию нижних дыхательных путей, поражая преимущественно бронхи и бронхиолы, вызывая обструкцию нижних дыхательных путей.

Источником инфекции являются больные и вирусоносители. RSV передается не только воздушно-капельным путем, но и контактно-бытовым (через одежду, руки персонала, предметы медицинского ухода и т.д.). Инкубационный период составляет 4–5 дней. Клиническая картина у детей грудного возраста проявляется в виде поражения нижних дыхательных путей с развитием бронхита, бронхоиолита, вызывая возникновение бронхо-обструктивного синдрома. Поражение нижних дыхательных путей нередко может вызывать ателектаз.

У детей старшего возраста и у взрослых HRSV-инфекция может ограничиться только поражением верхних дыхательных путей, протекая в виде ринита, фарингита, ларингита. Кашель — частый симптом заболевания,

в первые дни непродуктивный, усиливающийся на 3–4-й день болезни с отхождением мокроты. Клиническая симптоматика HRSV-инфекции может протекать как на фоне повышения температуры тела, так и при ее обычных показаниях.

Осложнения после перенесенной HRSV-инфекции проявляются в виде пневмонии, пневмоторакса, ателектаза и эмфиземы легких, бронхиальной астмы, присоединения бактериальной инфекции, а также обострения хронических заболеваний органов и систем [13, 14, 15, 30, 31, 37, 39, 62, 69, 75].

**Риновирус (Human rhinovirus, HRV)** – РНК-геномный вирус, относится к семейству *Picornaviridae*, роду *Rhinovirus*. Известно 114 серотипов вируса, группоспецифический антиген отсутствует. Вирус может вызывать локальные эпидемии.

Заболеемость регистрируется в течение всего года, пик активности отмечают весной и осенью. Инфицированию подвержены люди всех возрастов, но наиболее часто заболевание регистрируется у детей до 5 лет. Резервуаром и источником инфекции является больной человек или вирусоноситель. Больной является заразным за сутки до появления клинических признаков болезни и последующие 5–9 суток.

Риновирус передается как воздушно-капельным, так и контактно-бытовым путями. Вирус реплицируется в эпителиоцитах слизистой оболочки носа, вызывая их дегенерацию и возникновение местной воспалительной реакции, расширение кровеносных сосудов, повышение их проницаемости, клеточную инфильтрацию, гиперпродукцию желез.

Инкубационный период составляет 1–3 дня, не превышая 7 дней. Риновирусная инфекция чаще начинается остро. Ведущим симптомом заболевания является ринорея. Симптомы интоксикации выражены слабо или отсутствуют. Осложнения возникают редко, вследствие присоединения бактериальной инфекции (синусит, отит, бронхит, пневмония и т. д.) [1, 10, 24, 54, 55].

**Аденовирус** – ДНК-содержащий вирус, относится к семейству *Adenoviridae*, роду *Mastadenovirus*. В настоящее время известно более 50 серотипов, имеющих стабильную антигенную структуру. Выделяют эпидемические серотипы (3, 4, 7, 21) и серотипы, персистирующие в лимфоидной ткани небных миндалин, аденоидов (1, 2, 5, 6). Инфицирование серотипами 3, 7 и 14 связывают со случаями летальных исходов.

Аденовирусы вызывают заболевание в течение всего года, эпидемические вспышки регистрируются в осенне-летний период преимущественно в детских коллективах. Наиболее подвержены инфицированию дети от 6 месяцев до 3 лет. Источником инфекции является больной или вирусоноситель.

Аденовирусная инфекция передается воздушно-капельным, водным, фекально-оральным путями. Аденовирусы поражают эпителиальные клетки, проникая в организм через слизистые оболочки респираторного и кишечного тракта, конъюнктивы, а также лимфоидную ткань. После репликации вирус попадает в кровь, диссеминация вызывает увеличение лимфоузлов, печени, селезенки. Распространение инфекции происходит постепенно, вовлекая новые локализации, что проявляется волнообразным течением заболевания.

Инкубационный период длится от 2 до 12 дней, чаще 4–7. Начало заболевания постепенное, с волнообразным лихорадочным синдромом, длящимся 5–10 дней. В большинстве случаев происходит сочетанное поражение респираторного тракта (в виде фарингита, ринофарингита, аденовирусной пневмонии) и слизистой оболочки глаз (конъюнктивит, кератоконъюнктивит) с вовлечением в патологический процесс лимфоидной ткани.

Редко инфекция протекает в виде цистита, менингита, энцефалита, менингоэнцефалита, генерализованной формы. Наиболее тяжело аденовирусная инфекция протекает у новорожденных и детей с сопутствующей патологией, приводя к развитию пневмонии, сепсиса, стенозу гортани. Осложнения возникают вследствие присоединения бактериальной инфекции, проявляясь в виде пневмонии, ангины, синуситов, отитов [6, 24, 44, 58, 63].

**Коронавирус** – крупный РНК-содержащий вирус, принадлежащий к семейству *Coronaviridae*. Коронавирусы видов 229E, NL63, OC43, HKU1 относятся к порядку *Nidovirales*, при этом виды 229E и NL63 относятся к роду *Alphacoronavirus*, вирусы OC43 и HKU1 – к роду *Betacoronavirus*. Все четыре субтипа регистрируются в течение всего года, пик активности приходится на зимние месяцы.

Заболеемость имеет локальный характер, вызывая вспышки в детских коллективах, семьях и т. д. К группе риска относят новорожденных, недоношенных, детей, рожденных с недостаточной массой тела, пациентов с сопутствующими хроническими заболеваниями органов и систем, лиц пожилого возраста, иммунокомпрометированных лиц.

Установлено, что коронавирусы NL63 и HKU1 вызывают поражение нижних отделов дыхательных путей, а виды коронавируса 229E и OC43 – верхних отделов дыхательных путей. Источником инфекции являются больные и вирусоносители. Механизм передачи инфекции воздушно-капельный.

Инкубационный период составляет 2–3 дня. Для коронавирусной инфекции характерно острое начало, умеренно выраженные лихорадочный и интоксикационный синдромы. Поражение верхних отделов респираторного тракта проявляется в виде ринита, трахеита, ларингита, ларинготрахеита, нижних отделов дыхательной системы – в виде бронхитов, бронхиолитов, альвеолитов и пневмоний. Возможно сочетание респираторного синдрома с гастроинтестинальным, протекающим по типу острого гастроэнтерита, синдромом. У детей первых двух лет жизни инфекция протекает клинически более выражено и в более тяжелой форме, чем у взрослых, возможно возникновение крупа. Прогноз заболевания благоприятный [25, 56, 57, 64, 65].

Учитывая вероятность инфицирования пациента несколькими вирусами, с целью повышения эффективности диагностики ОРВИ и гриппа целесообразно применение комплексного подхода к выявлению этиологических агентов инфекционного процесса с использованием метода ПЦР, что позволит увеличить скорость проведения исследования, давая возможность поставить большее количество реакций в одну амплификацию, уменьшая нагрузку на врача клинической лабораторной диагностики, значительно снижая себестоимость проводимых исследований. Комплексное выявление вирусной инфекции дыхательной системы необходимо проводить как в эпидсезон, так и в межэпидемический период для оценки эпидситуации и принятия своевременных мер по профилактике ОРВИ и гриппа.

Наиболее быстрым в исполнении, универсальным и широко применяемым для выявления и идентификации возбудителей ОРВИ является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

**Преимуществами использования ДНК-диагностики являются:**

- ❖ дифференциация вирусов гриппа;
- ❖ высокая аналитическая чувствительность;
- ❖ высокая аналитическая специфичность теста;
- ❖ высокая скорость проведения анализа.

**Компания «ДНК-Технология» разработала следующие наборы реагентов для выявления вирусных инфекций респираторного тракта методом ПЦР (табл. 1).**

**Таблица 1. Наборы реагентов производства компании «ДНК-Технология» для выявления вирусных инфекций респираторного тракта**

Наименование набора реагентов	Количество пробирок в наборе реагентов соответствующего формата детекции	РУ	Назначение*
	Rt		
Набор реагентов для выявления РНК вирусов пандемического гриппа А (H1N1)подобных штамму A/California/04/2009 («свиной грипп») методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (Пан H1N1)	48	2010/07921	IVD
Комплект реагентов для ПЦР-амплификации кДНК вирусов гриппа А с детекцией в режиме реального времени ( <i>Influenza A virus</i> )	48	2011/12014	IVD
Комплект реагентов для ПЦР-амплификации кДНК вирусов гриппа В с детекцией в режиме реального времени ( <i>Influenza B virus</i> )	48	2011/12014	IVD
Комплект реагентов для ПЦР-амплификации кДНК вирусов гриппа А и В с детекцией в режиме реального времени ( <i>Influenza A&amp;B virus</i> )	48	2011/12014	IVD
Набор реагентов для выявления НК возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (ОРЗ ВирусКомплекс)	24	2011/12016	IVD

\* Наборы реагентов IVD имеют регистрационное удостоверение, облагаются НДС 10 %. Предназначены для диагностики *in vitro*.

В состав наборов реагентов для комплексного анализа возбудителей ОРВИ входят следующие возбудители (табл. 2).

**Таблица 2. Состав пробирок/стрипов, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации**

А. Influenza A&B virus

КАНАЛ ДЕТЕКЦИИ		
Fam	Hex	ROX
Influenza A	BK	Influenza B

Б. «ОРЗ ВирусКомплекс»

№ пробирки	КАНАЛ ДЕТЕКЦИИ			ЦВЕТ БУФЕРА
	Fam	Hex	Rox	
1	Human respiratory syncytial virus	BK	–	Голубой
2	Human coronavirus OC43	BK	Human parainfluenza virus type 3	Бесцветный
3	Human parainfluenza virus type 2	BK	Human coronavirus 229E	
4	Human parainfluenza virus type 1	BK	Human coronavirus NL63	
5	Human parainfluenza virus type 4	BK	Human coronavirus HKU1	
6	Human rhinovirus	BK	–	
7	Human adenovirus	BK	–	
8	Human metapneumovirus	BK	–	

#### Формат наборов:

наборы раскапаны в пробирки:

- стрипованные (по 8 шт. на 0,2 мл);
- единичные на 0,2 мл.

**Температура хранения:** +2...+8 °С  
(Тақ-полимераза и ОТ при –20 °С).

#### Срок годности:

- Rt – 9 месяцев (кроме «ОРЗ ВирусКомплекс» – 6 месяцев; набор реагентов для выявления РНК вирусов пандемического гриппа А (H1N1) подобных штамму A/California/04/2009 («свиной грипп») – 12 месяцев).

#### Наборы реагентов для выделения РНК:

- «ПРОБА-НК».

#### Материал для ПЦР-исследования:

- РНК вирусов гриппа А (Influenza A virus):  
– мазки и смывы из полости носа и ротоглотки;

– материал от падших и больных животных (мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки; фекалии; внутренние органы);

- РНК гриппа В (Influenza B virus): мазки и смывы из полости носа и ротоглотки;
- РНК вирусов пандемического гриппа А (H1N1), подобных штамму A/California/04/2009 (свиной грипп): мазки и смывы из полости носа и ротоглотки;
- «ОРЗ ВирусКомплекс»: мазки и смывы из полости носа и ротоглотки.

#### Оборудование, необходимое для проведения анализа:

- для наборов реагентов в формате Rt – приборы серии «ДТ» производства ООО «НПО ДНК-Технология» «ДТлайт», «ДТпрайм», «ДТ-96», «ДТ-322».

**Для проведения анализа с использованием стрипованных пробирок необходимо дополнительное оборудование:** штатив и насадка на микроцентрифугу (вортекс) для стрипованного пластика.

Приборы производства компании «ДНК-Технология» оснащены специально разработанным русскоязычным программным обеспечением, поддерживающим автоматическую обработку данных и выдачу результатов исследования в удобной для интерпретации форме (рис. 1).

А



Б



**Рис. 1. Приборы производства компании «ДНК-Технология»:**

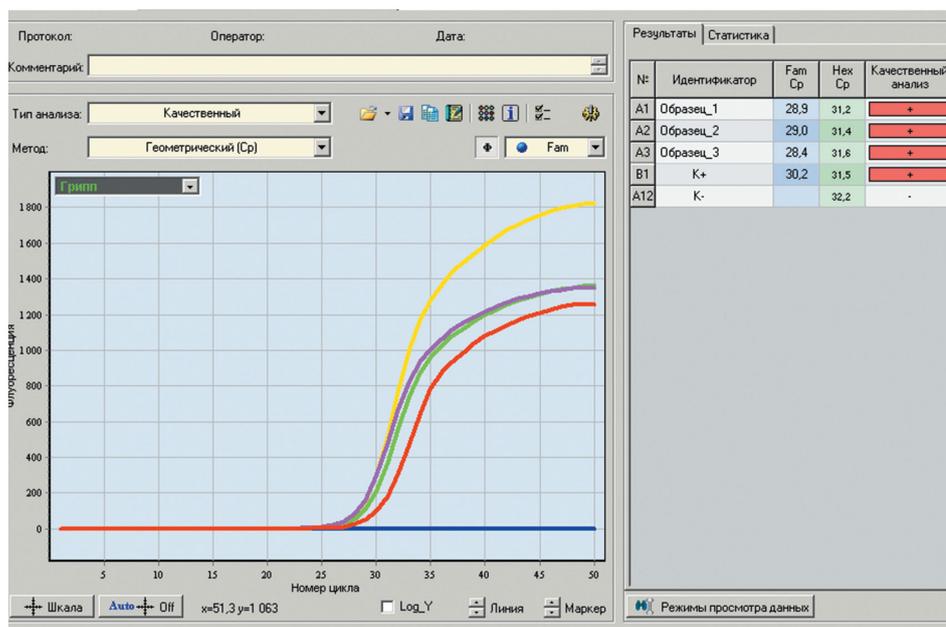
А. амплификатор детектирующий «ДТлайт»;

Б. амплификатор детектирующий «ДТпрайм»

Уникальные технические характеристики приборов позволяют существенно сократить общее время проведения анализа. Это значительно экономит время исследования и обеспечивает высокую пропускную способность лаборатории.

Кроме того, программа позволяет выдавать результаты в удобной и наглядной форме для анализа полученных данных врачами-клиницистами (рис. 2).

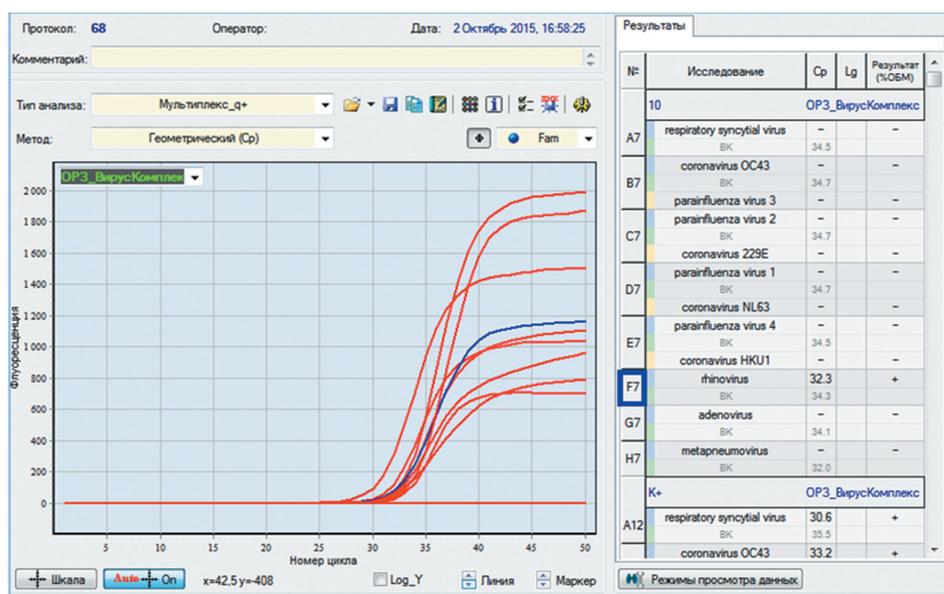
А



### Качественный анализ

Номер лунки	Идентификатор пробирки	Cp, Fam	Cp, Hex	Результат
A1	Образец_1	28,9	31,2	+
A2	Образец_2	29,0	31,4	+
A3	Образец_3	28,4	31,6	+
B1	K+	30,2	31,5	+
A12	K-		32,2	-

Б



№	Название исследования	Результаты
1	respiratory syncytial virus	не выявлено
2	coronavirus OC43	не выявлено
3	parainfluenza virus 3	не выявлено
4	parainfluenza virus 2	не выявлено
5	coronavirus 229E	не выявлено
6	parainfluenza virus 1	не выявлено
7	coronavirus NL63	не выявлено
8	parainfluenza virus 4	не выявлено
9	coronavirus HKU1	не выявлено
10	rhinovirus	ОБНАРУЖЕНО
11	adenovirus	не выявлено
12	metapneumovirus	не выявлено

**Рис. 2. Результаты анализа оптических измерений в формате Rt и бланки выдачи результатов (приборы серии «ДТ»):**

А. «Вирус гриппа А»;  
Б. «ОРЗ ВирусКомплекс»

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойкова Н. Э. Острые воспалительные заболевания глотки и гортани // *Consilium medicum*. – 2000. – Т. 2. – № 8. – С. 332–337.
2. Вильчук И. Н., Чистенко Г. Н., Дашкевич А. М. и др. Заболеваемость острыми респираторными заболеваниями и гриппом детей в г. Минске // *Медицинская панорама*. – 2009. – № 2 (85). – С. 48–50.
3. Гендон Ю. З. Этиология острых респираторных заболеваний // *Вакцинация*. – 2001. – № 5. – С. 4–5.
4. Германенко И. Г. Диагностика и лечение острых респираторных инфекций у детей: учеб.-метод. пособие. – Минск: Асобны, 2007. – 40 с.
5. Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2010 году». – М.: ФГУ Центр гигиены и эпидемиологии, 2011. – 297 с.
6. Детские инфекции. Справочник практического врача / Под ред. проф. Л. Н. Мазанковой. – М.: МЕД-пресс-информ, 2009. – 240 с.: ил.
7. Дриневский В. П., Антонова Т. И., Линькова Ю. Н., Горелышева Н. Е. Сравнительная эффективность препаратов интерферона альфа-2b в составе комплексной терапии острых респираторных вирусных инфекций у детей в возрасте от 1 месяца до 7 лет // *Педиатрия*. – 2012. – Т. 91. – № 5. – С. 70–79.
8. Евсеева Е. Л. Клинико-эпидемиологические особенности, диагностика метапневмовирусной инфекции у детей: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2009.
9. Жданов К. В., Карпов А. В., Львов Н. И. и др. Клинический случай заболевания тяжелой формой гриппа А (H1N1) // *Журн. инфекционной патологии*. – 2010. – Т. 2. – № 3. – С. 28–31.
10. Зайцева О. В. Острый ринофарингит в педиатрической практике // *Леч. врач*. – 2012. – № 10. – С. 68.
11. Зарубаев В. В., Слита А. В., Сироткин А. К. и соавт. Экспериментальное изучение противовирусной активности «Ингавирина®» в отношении аденовируса человека // *Антибиотики и химиотерапия*. – 2010. – № 55. – С. 9–10.
12. Кешишян Е. С. Профилактика респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у детей из групп риска в первые два года жизни: актуальность, эффективность, вопросы организации // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2013. – № 3. – С. 101–107.
13. Кожевникова Е. Н. и др. Новые подходы к диагностике и особенности клиники РС-вирусной инфекции у детей // *Инфекционные болезни*. – 2004. – Т. 2. – № 2. – С. 23–27.
14. Кожевникова Е. Н. Клинико-лабораторные особенности, диагностика и вопросы терапии респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у детей: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – 23 с.
15. Кожевникова Е. Н. Клинико-эпидемиологические особенности и лечение РС-вирусной инфекции у детей // *Инфекционные болезни*. – 2007. – Т. 5. – № 4. – С. 15–21.
16. Козулина И. С., Самсыгина Г. А., Исаева Е. И. и др. Бокавирус – новый инфекционный агент в этиологии острых респираторных заболеваний в детском возрасте // *Педиатрия*. – 2009. – Т. 88. – № 6. – С. 51–54.
17. Колобухина Л. В. Клиника и лечение гриппа // *РМЖ*. – 2001. – Т. 9. – № 16–17. – С. 710–713.
18. Кондратьева Т. Ю. и др. Эпидемиологические аспекты бокавирусной инфекции у детей // *Инфекционные болезни*. – 2008. – Т. 6. – № 2. – С. 10–16.
19. Коровина Н. А., Заплатников О. Л., Леписева И. В. и др. Общие вопросы ведения больных детей и наблюдение за здоровым ребенком. Острые респираторные вирусные инфекции в практике врача-педиатра // *Consilium Medicum. Педиатрия*. – 2006. – Т. 8. – № 1. – С. 44–47.
20. Куличенко Т. В. Респираторная синцитиальная вирусная инфекция у детей: новые исследования // *Педиатрическая фармакология*. – 2009. – Т. 6. – № 6. – С. 70–76.
21. Лыткина И. Н., Малышев Н. А. Профилактика и лечение гриппа и острых респираторных вирусных инфекций среди эпидемиологически значимых групп населения // *Леч. врач*. – 2010. – № 10. – С. 65–69.
22. Мажуль Л. А., Шилдген О., Исаева Е. И., Вязов С. О. Метапневмовирус как частая причина болезней дыхательных путей // *Вопр. вирусологии*. – 2007. – № 3. – С. 4–8.
23. Малый В. П., Романцов М. Г., Сологуб Т. В. Грипп: Пособие для врачей. – СПб. – Харьков, 2007. – 108 с.
24. Методические рекомендации «Клиническая дифференциальная диагностика гриппа и других острых респираторных заболеваний и их осложнений у взрослых» (утв. комитетом здравоохранения г. Москвы 19.01.1999 № 11).

25. Мурадян А. Я. Роль коронавирусной инфекции в острой патологии респираторного тракта: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – СПб, 2005.
26. Орлова Н. В. Острые респираторно-вирусные инфекции в практике врача-терапевта // Трудный пациент. – 2013. – № 4. – С. 22–27.
27. Отчеты федерального государственного учреждения здравоохранения «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fcgsen.ru>.
28. Позднякова М. Г., Шелехова С. Е., Ерофеева М. К. Эпидемиология ОРВИ и возможность их профилактики // РМЖ. – 2011. – № 23. – С. 21–24.
29. Постановление от 06.08.2012 № 43 «О мероприятиях по профилактике гриппа и острых респираторных вирусных инфекций в эпидсезоне 2012–2013 годов».
30. Савенкова М. С. Многоликая острая респираторная инфекция: от основных возбудителей к выбору препаратов // Леч. врач. – 2011. – № 3. – С. 58–64.
31. Савенкова М. С. Лечение вирусных инфекций: проблема выбора эффективных противовирусных препаратов // Педиатрия. – 2012. – Т. 9. – № 6. – С. 70–77.
32. Свистушкин В. М., Никифорова Г. Н., Власова Н. П. Возможности лечения больных с острыми респираторными вирусными инфекциями в настоящее время // Леч. врач. – 2013. – № 1. – С. 52–55.
33. Селькова Е. П., Алёшина Е. Н., Штундер И. П. и др. Современные препараты в лечении гриппа и ОРВИ: «Оциллококцидум» // РМЖ. – 2008. – Т. 16. – № 22. – С. 3–7.
34. Сергиенко Е. Н. Острые респираторные вирусные инфекции у детей // Медицинский журнал. – 2010. – № 2. – С. 22–27.
35. Синопальников А. И. Простуда // Внебольничные инфекции дыхательных путей. – М.: Премьер МТ, Наш Город, 2007. – С. 131–144.
36. Смирнов В. С. Современные средства профилактики и лечения гриппа и ОРВИ. – СПб.: ФАРМиндекс, 2008. – 48 с.
37. Устинович А. А., Ткаченко А. К. Острые респираторные вирусные инфекции у новорожденных: учебно-методическое пособие. – Минск: БГМУ, 2006. – 22 с.
38. Харламова Ф. С., Учайкин В. Ф., Кладова О. В. и др. Лечение и профилактика острых респираторных инфекций у часто болеющих детей // Леч. врач. – 2011. – № 1. – С. 13–20.
39. Чешик С. Г. Респираторно-синцитиальная вирусная инфекция: клиника, диагностика, лечение // Детские инфекции. – 2004. – № 1. – С. 43–49.
40. Шарашкина Н. В., Никитина И. В., Бурменская О. В. и др. Анализ результатов использования полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для диагностики острых респираторных заболеваний и гриппа у беременных женщин и новорожденных в период эпидемий // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 6. – С. 66–73.
41. Швец Е. Ю. Клинико-эпидемиологические особенности и диагностика бокавирусной инфекции у детей: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2009.
42. Щелканов М. Ю., Федякина И. Т., Прошина Е. С. и др. Таксономическая структура Orthomyxoviridae: современное состояние и ближайшие перспективы // Вестник РАМН. – 2011. – № 5. – С. 12–19.
43. Щелканов М. Ю., Львов Д. К. Генотипическая структура рода Influenza A virus // Вестник РАМН. – 2011. – № 5. – С. 19–23.
44. Янина М. А., Осидак Л. В., Милькинт К. К. и др. Аденовирусная инфекция у детей // Грипп: эпидемиология, вирусология, профилактика и лечение. Сборник материалов. 24–25 октября 2012 г. – С. 19–26.
45. Albuquerque M. C., Pena G. P., Varella R. B. et al. Novel respiratory virus infections in children, Brazil // Emerg. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 15. – № 5. – P. 806–808.
46. Allander T. et al. Cloning of a human bocavirus by molecular screening of respiratory tract samples // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2005. – Vol. 102. – № 43. – P. 1289–1296.
47. Allander T et al. Human bocavirus and acute wheezing in children // Clin. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 44. – № 7. – P. 904–910.
48. Arnold J. C. et al. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital // Clin. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 43. – № 3. – P. 283–288.
49. Dina J. et al. Detection of human bocavirus in hospitalized children // J. of Paediatrics and Child Health. – 2009. – Vol. 45. – № 3. – P. 149–153.

50. Getahun D., Ananth C. V., Peltier M. R. et al. Acute and chronic respiratory diseases in pregnancy: associations with placental abruption // *Am. J. Obst. Gynecol.* – 2006. – Vol. 195. – № 4. – P. 1180–1184.
51. Hamelin M. E., Abed Y., Boivin G. Human metapneumovirus: a new player among respiratory viruses // *Clin. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 38. – № 7. – P. 983–990.
52. Hannoun C. Virus de la grippe et bacteries. Coexistence ou symbiose // *Concours Med.* – 1993. – Vol. 115. – P. 3160–3164.
53. Heininger U., Kruker A. T., Bonhoeffer J. et al. Human metapneumovirus infections-biannual epidemics and clinical findings in children in the region of Basel, Switzerland // *Eur. J. Pediatr.* – 2009. – Vol. 168. – № 12. – P. 1455–1460.
54. <http://rospotrebnadzor.ru>
55. [http://giduv.com/journal/2007/2/ostrye\\_respiratornye](http://giduv.com/journal/2007/2/ostrye_respiratornye)
56. <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>; Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2009) Carstens E. B., *Arch Virol.* 2010; 155 (1): 133
57. Kuypers J. et al. Clinical Disease in Children Associated With Newly Described Coronavirus Subtypes // *Pediatrics.* – 2007. – Vol. 119. – № 1. – P. 70–76.
58. Langley J. M. Adenoviruses // *Pediatrics in Review.* – 2005. – Vol. 26. – № 7. – P. 244–249.
59. Leung J., Esper F., Weibel C. et al. Seroepidemiology of human metapneumovirus (hMPV) on the basis of a novel enzymelinked immunosorbent assay utilizing hMPV fusion protein expressed in recombinant vesicular stomatic virus // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol. 43. – № 3. – P. 1213–1219.
60. Liu Y., Haas D. L., Poore S. et al. Human metapneumovirus establishes persistent infection in the lungs of mice and is reactivated by glucocorticoid treatment // *J. Virol.* – 2009. – Vol. 83. – № 13. – P. 6837–6848.
61. Manning A. et al. Epidemiological profile and clinical associations of human bocavirus and other human parvoviruses // *J. Infect. Dis.* – 2006. – Vol. 194. – № 9. – P. 1283–1290.
62. Openshaw P. J. Links between respiratory syncytial virus bronchiolitis and childhood asthma: clinical and research approaches // *Pediatr Infect Dis J.* – 2003. – № 22 (2 Suppl). – P. 58–64.
63. Pond K. Water recreation and disease. Plausibility of Associated Infections: Acute Effects, Sequelae and Mortality // *World Health Organization (WHO).* – 2005. – P. 192–199.
64. Principi N., Bosis S., Esposito S. Effects of coronavirus infections in children // *Emerg. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 16. – № 2. – P. 183–188.
65. Pyrc K., Berkhout B., van der Hoek L. The novel human coronaviruses NL63 and HKU1 // *J. Virol.* – 2007. – Vol. 81. – № 7. – P. 3051–3057.
66. Sappenfield E., Jamieson D. J. et al. Pregnancy and susceptibility to infectious diseases // *Infect Dis Obstet Gynecol.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 752–852.
67. Siston A. M., Rasmussen S. A. et al. Pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus illness among pregnant women in the United States // *JAMA.* – 2010. – Vol. 303. – № 15. – P. 1517–1525.
68. Thompson, W. W., Shay D. K. et al. Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States // *JAMA* – 2003. – Vol. 289. – № 2. – P. 179–186.
69. Valkonen H., Waris M., Ruohola A. et al. Recurrent wheezing after respiratory syncytial virus or non-respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy: a 3-year follow-up // *Allergy.* – 2009. – Vol. 64. – № 9. – P. 680–686.
70. Van den Hoogen B. G., de Jong J. C., Groen J. et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease // *Nat Med.* – 2001. – Vol. 7. – № 6. – P. 719–724.
71. Vicente D et al. Human bocavirus, a respiratory and enteric virus // *Emerg Infect Dis.* – 2007. – Vol. 13. – № 10. – P. 1620–1621.
72. Wei S., Sun K. et al. Thoracoscopy and thoracotomy for lung biopsy and wedge resection in solitary pulmonary nodule // *Chinese journal of lung cancer.* – 2004. – Vol. 7. – № 4. – P. 347–350.
73. Williams J. V., Harris P. A., Tollefson S. J. et al. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 350. – № 5. – P. 443–450.
74. Williams J. V., Wang C. K., Yang C. F. et al. The role of human metapneumovirus in upper respiratory tract infections in children: a 20-years experience // *J. Infect. Dis.* – 2006. – Vol. 193. – № 3. – P. 387–395.
75. Yen A. B. Rapid antigen testing to detect respiratory syncytial virus performs well in neonates // *Pediatr Infect Disease J.* – 2011. – Vol. 30. – P. 234–237.
76. Zou L. R., Mo Y. L., Wu D. et al. Investigation of human metapneumovirus in children with acute respiratory tract infections in Guangzhou areas // *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* – 2009. – Vol. 43. – № 4. – P. 314–318.





**Контакты офиса:**

ООО «ДНК-Технология». Адрес: Москва, Варшавское шоссе, д. 125Ж, корп. 6.  
Тел./факс: +7 (495) 640-17-71. [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru), [mail@dna-technology.ru](mailto:mail@dna-technology.ru).

**Служба клиентской поддержки:**

8 800 200-75-15 (звонок по России бесплатный), [hotline@dna-technology.ru](mailto:hotline@dna-technology.ru).