

© Колектив авторів, 2011
УДК 57.083.18:616.24-002:579.61:616-078

**Н.М. Герасюта, І.І. Кириченко, А.А. Бойко, І.В. Короваєва, І.М. Звягольська,
Л.О. Панченко**

ПЛР-ІДЕНТИФІКАЦІЯ ВІРУСУ ГРИПУ А (H1N1) У ТКАНИНІ ЛЕГЕНЬ ПОМЕРЛИХ ВІД НЕГОСПІТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України»,
обласна санітарно-епідеміологічна станція (м. Харків)

Наведено результати ПЛР-аналізу in real-time 30 зразків тканини легень померлих від негоспітальної пневмонії в період епідемії грипу 2009-2010 рр. в Україні на фоні відсутності епідемічної ситуації в Харкові та Харківській області. Ідентифіковано вірус пандемічного грипу А (H1N1) в тканині легень померлих, що є підтвердженням причини смерті від грипозної пневмонії.

Ключові слова: ПЛР-аналіз in real-time, негоспітальна пневмонія, вірус грипу А (H1N1), тканина легень померлих.

В діагностиці та контролі інфекційних захворювань в останні десятиліття молекулярно-генетичні методи займають лідируюче положення. Безперечною перевагою над класичними мікробіологічними і імунологічними методами є їх надзвичайно висока чутливість, специфічність і експресність у детекції та ідентифікації багатьох мікробних патогенів [1-6]. Особливого значення набуло розширення використання полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) різних модифікацій у вирішенні різних аспектів екології та еволюції вірусів грипу, в тому числі у встановленні міжпопуляційних взаємовідносин між мікробними патогенами різних екосистем та механізмів формування високопатогенних реасортантних штамів, що здатні до пандемічного розповсюдження [7, 8].

Широка циркуляція вірусів грипу типу А різної антигенної характеристики в різноманітних природних екосистемах і можливість подолання міжвидового бар'єру створює постійну загрозу виникнення важко прогнозованих надзвичайних епідемічних ситуацій, часто з клінічно тяжким перебігом грипу і летальними випадками.

Метою роботи було встановлення за допомогою ПЛР in real time збудника захворювань у секційному матеріалі померлих від тяжкої негоспітальної пневмонії в період осінньо-зимового

підйому захворювань грипом типу А в 2009-2010 рр. в Україні.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень були зразки тканини легень померлих від негоспітальної пневмонії мешканців Харкова і Харківської області.

Для індикації та ідентифікації вірусу грипу А (H1N1) в секційному матеріалі був використаний рекомендований ВООЗ алгоритм протоколу щодо першочергової постановки полімеразної ланцюгової реакції з подальшим проведенням досліджень за допомогою загальновідомих класичних методів *in vitro* (на культурах тканин) і *in vivo* (на курячих ембріонах).

ПЛР здійснювали на приладі iQ5 фірми Bio-Rad (USA) з реагентами набору «*Aurumtm Total RNA Mini Kit*» і «*iScript cDNA Synthesis Kit*» фірми Bio-Rad Laboratories, Inc. (USA).

Були використані праймери до вірусу грипу А, Asw, H1sw та RP фірми BioSearch (USA). Як позитивний контроль був позитивний за усіма маркерами та РНКазою Р вірус пандемічного грипу А (H1N1) .

Результати досліджень та їх обговорення

В *real-time*-ПЛР було досліджено 30 зразків тканини легень померлих від тяжкої форми негоспітальної пневмонії в період осінньо-зимового епідемічного підйому грипу А (H1N1) в Україні (2009-2010 рр.). У Харкові і Харківській області, за офіційними даними облСЕС, підвищення епідемічного порогу захворюваності грипом і ГРВІ в зазначений період часу не спостерігалось. На основі результатів імунолюмінесцентних досліджень відмічено циркуляцію вірусів грипу А (H1N1) і грипу А (H2N3) з одночасною циркуляцією інших респіраторних вірусів (в основному парагрипу).

У більшості померлих (26 із 30) прижиттєвий клінічний діагноз був «грип» або «грип + пневмонія». У чотирьох померлих в цей період був встановлений діагноз «пневмонії, не пов'язаної з грипом».

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

На підставі проведеного патоморфологічного аналізу було встановлено, що у всіх випадках смерть хворих стала наслідком «розвитку легеневої недостатності та вірусного ураження легень за відсутності ознак бактерійного ураження» [9].

Розподіл померлих відповідно до статі та віку представлено в таблиці 1. Як видно із наведених даних, померлих чоловіків було на шість осіб більше, ніж жінок.

Таблиця

Стать та віковий склад померлих в осінньо-зимовий сезон 2009-2010 рр. у Харкові і Харківській області від негоспітальної пневмонії

Стать	Всього досліджено зразків тканини легень	Віковий склад померлих, роки					
		До 1 року	20-29	30-39	40-49	50-59	60 років і більше
Чоловіки	18	1	2	2	6	6	1
Жінки	12	0	1	6	2	2	1
Всього	30	1	3	8	8	8	2
%	100,0	3,3	10,0	26,7	26,7	26,7	6,6

Дані аналізу вікового складу свідчать, що померлі чоловіки (за винятком одного – дитини першого року життя) і померлі жінки в основному були працездатного віку. Тобто, дещо більше половини (58,8 %) чоловіків і три чверті жінок (75,0 %) були молодого і середнього віку – від 20 до 50 років. У більшості (86,7 %) померлих від «грипу» або «грипу + пневмонія» результат ПЛР-досліджень тканини легень був позитивним, що є підтвердженням причини смерті хворих від грипу або грипозної пневмонії, пов'язаної з вірусом грипу типу А (H1N1).

У 4 хворих з діагнозом «пневмонія», на підставі даних ПЛР-аналізу, збудником захворювання також треба вважати вірус грипу А (H1N1) [10].

Результати досліджень щодо тяжких наслідків від грипу А (H1N1) потребують подальшого поглибленого аналізу для вирішення питань щодо причин надзвичайного ступеня вірулентності циркулюючих штамів вірусу грипу А, а також розробки та широкого застосування критеріїв факторів ризику несприятливого перебігу тяжкої негоспітальної пневмонії у дорослих, сучасних рекомендацій щодо діагностики та лікування хворих в період епідемії грипу.

Висновки

1. У тканині легень від 30 померлих в м. Харкові і Харківській області в період осінньо-зимової епідемії грипу А в Україні (2009-2010 рр.) за допомогою ПЛР *in real time* ідентифіковано вірус грипу А (H1N1) у всіх досліджених зразках.

2. Правомірність діагнозу «грипу» або «грипозної пневмонії», спричиненої вірусом грипу А (H1N1),

у всіх 30 померлих підтверджено згідно з критеріями Міжнародної статистичної класифікації хвороб десятого перегляду [10].

3. Особливостями епідемії грипу А(H1N1) можна вважати:

а) циркуляцію пандемічних штамів грипу А (H1N1) в Харкові і Харківській області в 2009-2010 рр. на фоні відсутності перевищення епідемічного порогу захворюваності населення грипом і ГРВІ, за даними епідеміологічного та вірусологічного моніторингу;

б) наявність летальних наслідків у осіб працездатного віку в результаті розвитку в перші дні захворювання тяжкої форми пневмонії, спричиненої ідентифікованим в ПЛР вірусом грипу А (H1N1).

Література

1. Гинцбург А.Л., Романова Ю.М. Полимеразная цепная реакция в диагностике и контроле лечения инфекционных заболеваний // Клин. лаб. диагност. – 1998. – № 2. – С. 35-38.
2. Sache K., Fray J. PCR detection of microbial pathogens: methods and protocols // Methods in molecular biology. Totowa, N.J., USA: Humana Press. – 2003. – Vol. 216. – 277 p.
3. Bartlett J.M.S., Stirling D. PCR protocols. – 2nd ed. – Methods in molecular biology. Totowa, N.J., USA: Humana Press. – 2003. – Vol. 226. – 556 p.
4. PCR analysis in archival postmortem tissues / Bonin S., Petrera F., Niccolini B., Stanta G. // Molecular pathology. – 2003. – Vol. 56. – P. 184-186.
5. Rybicki E. A PCR // In: A Manual of Online Molecular Biology Techniques. – Univ. of Cape Town, 2005. – 38 p.
6. Полимеразна ланцюгова реакція в практиці ветеринарної медицини / Стегній Б.Т., Герілович А.П., Лиманська О.Ю. і ін. – Харків, 2006, ННЦ, ІЕКВМ. – 110 с.

7. Экология и эволюция вирусов гриппа в России (1979-2002 гг.) / Львов Д.К., Ямникова С.С., Федякина И.Т. и др. // *Вопр. вирусол.* – 2004. – № 3. – С. 12-17.

8. Межпопуляционные взаимодействия в системе вирусы гриппа А – животные – человек / Львов Д.К., Ямникова С.С., Забережный А.Д., Гребенникова Т.В. // *Молекулярная биология.* – 2005. – Т. 39. – С. 4-11.

9. Негоспітальна пневмонія на тлі вірусного ураження респіраторної системи: клініко-морфологічні дослідження / Граділь Г.І., Губіна-Вакулик Г.І., Козько В.М. та ін. // *Поєднані інфекційні та паразитарні хвороби: Матеріали Конгресу до 122-річчя від дня народження акад. Л.В. Громашевського (8-9 жовтня 2009 р., Чернівці).* – Тернопіль: Укрмедкнига, 2009. – С. 53-55.

10. Міжнародна статистична класифікація хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я. Десятий перегляд. – ВООЗ, Женева, 1998. – 571 с.

PCR-IDENTIFICATION OF VIRUS INFLUENZA A (H1N1) IN PULMONARY TISSUE OF DEAD PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

N.M. Herasyuta, I.I. Kyrychenko, A.A. Boyko, I.V. Korovayeva, I.M. Zvyaholska, L.O. Panchenko

SUMMARY. The results of PCR-analysis in real-time of 30 samples of pulmonary tissue from dead in the period of influenza epidemic in 2009-2010 in Kharkiv have been shown in the article. The virus of pandemic strain influenza A (H1N1) was identified in pulmonary tissue of dead patients, which indicates the cause of death of influenza virus pneumonia.

Key words: PCR-analysis in real-time, community-acquired pneumonia, influenza A virus (H1N1), pulmonary tissue, dead patients.

Отримано 19.12.2010 р.

© Гарюк Г.І., Бодня К.І., Філатова І.В., Головка А.М., 2011
УДК 616.211-002-056.43-022:616.99

Г.І. Гарюк, К.І. Бодня, І.В. Філатова, А.М. Головка

ДЕЯКІ АСПЕКТИ ВИБОРУ ТАКТИКИ ЛІКУВАННЯ РИНОСИНУСИТІВ У ДІТЕЙ ПРИ СУПУТНЬОМУ ПАРАЗИТОЗІ

Харківська медична академія післядипломної освіти

Показано, що виникнення і хронізація риносинуситів (РС) у дітей відбувались на тлі токсоплазмозу, токсокарозу та лямбліозу при значно меншому значенні аскарид, гостриків та мікст-інвазій. Видові характеристики інвазій не впливають на стан системного імунітету дітей з риносинуситами та паразитозами в анамнезі.

Ключові слова: риносинусити, паразитози, лікування.

Лікування поєднаних захворювань досі залишається значною проблемою, оскільки в більшості випадків важко встановити етіологічні та патогенетичні причинно-наслідкові зв'язки та ланку для першочергової адекватної корекції [1-3]. Доведено, що діагностика та лікування РС та алергічного риніту може бути складною та за-

плутаною саме тоді, коли до них приєднуються декілька захворювань [4-6]. О.Ф. Мельников та Д.І. Заболотний [7] на основі аналізу факторів системного імунітету визнають, що значна частина відхилень в окремих параметрах при алергічних і запальних захворюваннях ЛОР-органів можуть бути обумовленими захворюваннями інших органів і систем.

Вірогідно, що найбільш часто мають поєднуватись поширені у популяції захворювання. В цьому сенсі при загальній розповсюдженості паразитозів діти є найбільш уразливою категорією населення і на їх частку припадає більш ніж 80 % захворілих [8-10]. З іншого боку, РС в дитячому віці протягом тривалого часу залишаються домінуючою патологією і складають 25-30 % серед усіх захворювань верхніх дихальних шляхів [11-13].