

**ВИРУСЕН СПЕКТЪР НА ОСТРИТЕ РЕСПИРАТОРНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ ПРИ  
МАЛКИ ДЕЦА В БЪЛГАРИЯ**

**Ивелина Трифонова<sup>\*</sup>, Светла Ангелова<sup>\*</sup>, Ирина Георгиева<sup>\*</sup>, Силвия Волева<sup>\*</sup>, Ирен  
Цочева<sup>\*\*</sup>, Снежина Лазова<sup>\*\*</sup>, Снежана Парина<sup>\*\*</sup>, Пенка Переновска<sup>\*\*</sup>, Нели Корсун<sup>\*</sup>**

<sup>\*</sup>Национална референтна лаборатория „Грип и ОРЗ“, НЦЗПБ, София, България  
<sup>\*\*</sup>Педиатрична клиника, УМБАЛ “Александровска“, Медицински Университет, София,  
България

Адрес за кореспонденция: НЦЗПБ, отдел Вирусология, бул. „ген. Николай Г. Столетов“  
44 А, 1233, София, България  
e-mail:trifonova.ivelina@abv.bg

**Резюме:**

Острите респираторни заболявания (ОРЗ) са доминиращи в ранна детска възраст. Изследването цели да се определи честотата и клиничната значимост на най-често срещаните респираторни вируси, асоциирани с ОРЗ при деца под 5 години, циркулиращи през зимен сезон 2016/17 в България.

**Материали и методи:** През периода 10.2016 - 04.2017 са изследвани общо 401 назофарингеални секрети на деца под 5 години, хоспитализирани (87%, 348/401) или амбулаторно лекувани (13.2%, 53/401) в различни региони на страната. За детекция, типирание и суптипиране на грипни А /В вируси, респираторно-синцитиален вирус (RSV), метапневмовирус (HMPV), параинфлуенца вируси (PIV 1/2/3), риновируси (HRV), аденовируси (AdV) и бокавируси (BoV) беше използван *Real -Time RT-PCR* анализ.

**Резултати:** Сред анализираните 401 проби на деца бяха установени общо 359 (89,5%) респираторни вируси. С моноинфекция бяха инфектирани 316 (88%) деца, с коинфекции 43 (11,8%), а при едно дете (0,2%) беше установена тройна инфекция. За грипни вируси бяха положителни 93 (23%) проби. Честотата на останалите вируси беше определена както следва: RSV - 144 (46%); HMPV - 26 (8.4%); PIV-1 - 0 (0%), PIV-2 - 5 (1.6%), PIV-3 - 15 (4.8%), HRV - 34 (11%), AdV – 40 (12%) и BoV 3 (0.9%). Пациентите с доказани грипни вируси бяха разпределени по диагнози съответно: с ларинготрахеит - 25%, бронхиолит - 4,4%, пневмония - 24% и неврологични усложнения - 42%. При децата негативни за грипни вируси, установихме следното процентно разпределение по диагнози: ларинготрахеит - 72%, бронхиолит - 95%, пневмония 73% и неврологични усложнения- 21%.

**Заключение:** Респираторно-синцитиалният вирус е водещ причинител на бронхиолит и ларинготрахеит в ранна детска възраст. Неврологичните усложнения и пневмонията често налагат хоспитализация и се асоциират с инфекция с грипни вируси.

**Ключови думи:** респираторен-синцитиален вирус, грипни вируси, бронхиолит, пневмония.

**Въведение**

Респираторните инфекции навсякъде по света се свързват със значителен брой амбулаторни посещения, чести хоспитализации, висока смъртност и представляват сериозно предизвикателство за детското здравеопазване [1]. Данните за 2010 година показват 11,9 млн. случая на тежки и 3 млн. случая на много тежки заболявания на долния респираторен тракт, изискващи болнично лечение при деца на възраст под 5г.[12]. Около 80% от случаите на ОРЗ, с установен етиологичен причинител имат вирусен произход [10]. Широка гама от вируси се асоциират със заболявания на дихателните пътища, основните

от които са - грипни А /В вируси, респираторно-синцитиален вирус (Respiratory-Syncytial Virus - RSV), метапневмовирус (human MetaPneumoVirus - MPV), параинфлуенца вируси (ParaInfluenza Viruses - PIV 1/2/3), риновируси (RhinoVirus - RV), аденовируси (AdenoVirus - AdV) и бокавируси (BoCaVirus - BoV).

Кърмачетата и малките деца са особено податливи и чувствителни към тези патогени. Инфекциите при тях протичат в по-тежка форма и често водят до усложнения от страна на респираторния тракт и/или нервната система, налагащи хоспитализация. Едно от честите усложнения вследствие на вирусно заболяване и водеща инфекциозна причина за смъртност при малките деца е пневмонията. Според бюлетин на СЗО, в развитите страни, ежегодно едно на 20 деца под 5 – годишна възраст развиват заболяването [14].

Клиничните прояви при различните вирусни инфекции са сходни и неспецифични, поради което етиологичната диагноза, основана само на клинични параметри е ненадежна. Терапевтичното поведение в повечето случаи на ОРЗ се основава на интерпретацията на клиничните симптоми и обективното изследване, както и на някои лабораторни параметри, като брой левкоцити и С-реактивен протеин. През последните години в медицинската практика все по- широко се прилагат съвременни молекулярни подходи, което спомага за поставяне на бърза и точна етиологична диагноза, благодарение на която е възможно адекватно лечение, включително антивирусно (при случаи на грип), а също предприемане на мерки за инфекциозен контрол. При липса на клинични, лабораторни или рентгенологични данни за бактериална ко-инфекция установяването на вирусен респираторен патоген би позволило да се избегне ненужното лечение с антибиотици и да се съкрати болничния престой [2].

В тази връзка, настоящото изследване цели да се определи честотата, спектъра и клиничната значимост на грипни вируси А и В, респираторно-синцитиален вирус, метапневмовирус, парагрипни вируси 1, 2, 3 тип, рино-, адено-, бокавируси в етиологията на ОРЗ при деца на възраст под 5 год. през зимен сезон 2016/2017 в България.

### Материали и методи

Изследвани бяха носогърлени секрети на 401 деца от различни региони на страната на възраст под 5 год. - амбулаторно лекувани или хоспитализирани, по повод на грипоподобни или ОРЗ. Лабораторните тестове се провеждаха в Националната референтна лаборатория "Грип и остри респираторни заболявания", която е призната от СЗО като Национален грипен център. От пробите на пациентите бяха екстрахирани вирусни нуклеинови киселини с помощта на търговски кит ExiPrep Dx (Bioneer), като се спазваха указанията на производителя. За доказване, типизиране и субтипизиране на грипни вируси, респираторно-синцитиален вирус, метапневмовирус, параинфлуенца вируси 1/2/3 тип, риновируси, аденовируси и бокавируси беше използван методът *Real Time RT-PCR*. Амплификацията беше осъществена чрез специфични праймери /сонди за RSV, HMPV, PIV 1/2/3, HRV, AdV, BoV и търговски кит AgPath-ID One Step RT-PCR (Applied Biosystems) [8]. През сезон 2016/2017 г (от октомври 2016 г. до май 2017 г.) бяха изследвани общо 401 деца на възраст <5 години с изявена проява на ОРЗ. От тях 53 (13,2%) бяха амбулаторно лекувани, а 359 (89,5%) – хоспитализирани. Възрастта на пациентите варира от 30 дни до 60 месеца (средно 21,53 ± 12,54 месеца). Съотношението между половете беше 228 (57%) момчета и 172 (43%) – момичета. При 58,4% от

пациентите бяха наблюдавани усложнения. Анализирани бяха усложнения от страна на долния респираторен тракт (bronхиолит, ларинготрахеит, пневмония) и ЦНС (фебрилни гърчове, оток на мозъка, менингит, енцефалопатия, енцефалит и др.).

## Резултати

### Вирусологични данни

Общо 359 (89,5%) деца бяха инфектирани с поне един респираторен вирус. Моноинфекции бяха идентифицирани в 316 (88%) пациента; 43 (11.8%) пациента бяха ко-инфектирани с два вируса, а 1 дете беше инфектирано с 3 вируса (RSV+HRV+A(H3N2)). Грипни вируси бяха доказани при 93 (23%) от децата: 4 (4,3%) с вирус A(H1N1)pdm09, 85 (91,4%) с A(H3N2) и 4 (4,3%) с тип В. Сред 308 проби, негативни за грипни вируси, бяха доказани респираторно-синцитиален вирус, метапневмовирус, парагрипни вируси 1, 2, 3 тип, рино-, адено-, бокавируси в - 144 (46%), 26 (8.4%), 0 (0%), 5 (1.6%), 15 (4.8%), 34 (11%), 40 (12%) и 3 (0.9%) проби, съответно (Таблица 1). Респираторно-синцитиалният вирус беше най-често идентифициран – общо в 144 (46%) деца. Парагрипни вируси 1, 2 и 3 тип бяха доказани общо в 20 (6,2%) деца (Таблица 1). С най-голяма честота беше доказван RSV, следван от грипен вирус A(H3N2), адено и риновирусите. Респираторно-синцитиалният вирус беше доказван основно при хоспитализирани пациенти, в сравнение с амбулаторно-лекувани (Таблица 1).

	Брой доказани респираторни вируси										
	A (H1N1) pdm	A (H3N2)	B	RSV	HMPV	PIV1	PIV2	PIV3	RV	AdV	BoV
2016/17	4	85	4	144	26	0	5	15	34	40	3
Амбулаторни	0	14	0	3	0	0	1	5	3	5	0
Хоспитализирани	4	71	4	141	26	0	4	10	31	35	3

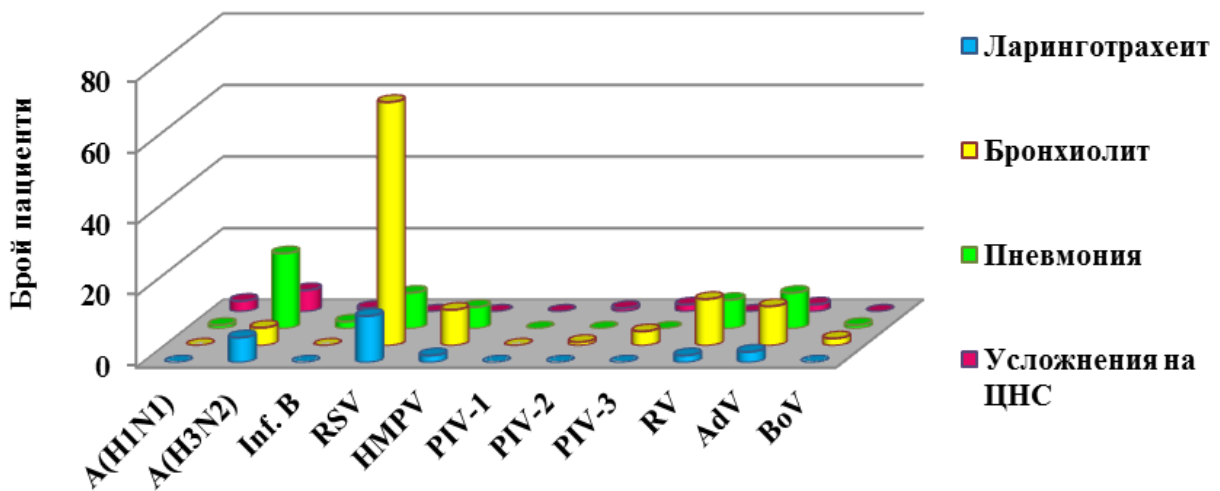
**Таблица 1.** Разпределение на доказаните респираторни вируси при амбулаторно лекувани и хоспитализирани пациенти.

Най-голям брой респираторни вирусни инфекции бяха установени през декември 2016 и януари 2017 г.

**Клинична характеристика**

Най-сериозните усложнения, които могат да причинят респираторните вируси при деца на възраст под 5 год., са тези от страна на долния респираторен тракт (бронхиолит, ларинготрахеит, пневмония) и ЦНС (фебрилни гърчове, оток на мозъка, менингит, енцефалопатия, енцефалит). Анализирано беше участието на доказаните респираторни вируси в развитието на горе-споменатите усложнения. На фигура 1 е представено разпределението на доказаните респираторни вируси, според клиничната диагноза на пациентите.

Делът на позитивните за грипни вируси пациенти с ларинготрахеит беше - 25%; бронхиолит - 4,4%, пневмония - 24% и неврологични усложнения - 42%. По отношение на останалите анализирани респираторни вируси тези величини бяха: ларинготрахеит - 72%, бронхиолит - 95%, пневмония 73% и неврологични усложнения- 21% съответно. RSV бе най-често идентифицираният вирус при пациенти с бронхиолит и ларинготрахеит и се доказва в 59% и 46,4% от случаите с такива диагнози. Сред децата с пневмония най-често доказвани бяха грипни вируси (24%) и RSV (10%). При пациентите с неврологични симптоми по-често се идентифицираха грипни вируси (42%), по-специално А (H3N2) (Фигура 1).



**Фигура 1.** Брой респираторни вируси според клиничната диагноза на пациентите.

Ко-инфектирани бяха 43 (11.8%) пациенти. Честотата и разпределението на установените ко-инфекции съгласно диагнозата на пациентите е подробно представена на Таблица 2. RSV бе най-често доказваният вирус при смесени инфекции.

	КЛИНИЧНИ ДИАГНОЗИ			
	Ларинготрахеит (n=28)	Бронхиолит (n=115)	Пневмония (n=67)	Усложнения на ЦНС (n=24)
<b>RSV + A (H3N2)</b>	-	3	4	-
<b>RSV + грип B</b>	-	-	1	-
<b>RSV + HMPV</b>	1	-	1	-
<b>RSV + HPIV3</b>	-	1	-	-
<b>RSV + HRV</b>	1	3	-	-
<b>RSV+ AdV</b>	2	4	2	-
<b>HRV + AdV</b>	-	1	1	-
<b>HMPV +AdV</b>	-	1	2	-
<b>HRV + HMPV</b>	1	-	-	-
<b>AdV + BoV</b>	-	1		
<b>RSV + HRV + A (H3N2)</b>	-	-	1	-

**Таблица 2.** Разпределение на доказаните ко-инфекции според клиничната диагноза на пациентите.

### Дискусия

Грипните вируси А/В, респираторно-синцитиален вирус, метапневмовирус, параинфлуенца вируси 1/2/3, риновирус, аденовирус и бокавирус са основни причинители на грип и остри респираторни заболявания при кърмачета и малки деца по целия свят. В настоящето проучване бе идентифициран широк спектър от респираторни вируси, причинители на грипоподобни заболявания и ОРЗ, сред деца на възраст под 5 год. през сезон 2016/2017.

Общо при 89.5 % от изследваните пациенти бе доказана вирусна инфекция, като тази честота е значително по-висока от установената в други страни честота на вирусните респираторни инфекции [9]. Смесени инфекции (с два и три вируса) у нас бяха установени в сравнително нисък процент (11.8%) от изследваните деца. В редица проучвания проведени предимно с мултиплекс PCR, коинфекциите са чести и този процент варира в

широк диапазон (5-70%)[5]. Съществуват хипотези, че смесените инфекции водят до по-тежко протичащи респираторни заболявания, особено коинфекции, включващи RSV[16] макар че има изследователи, оспорващи това твърдение [15].

Грипни вируси бяха доказани в 23% от изследваните деца, като най-голяма честота през този сезон имаше грипен вирус А(Н3N2). Тези вируси бяха доказани в случаи на заболявания с усложнения – 5 случая на бронхиолит, 16 случая на пневмония и 10 случая с неврологични усложнения.

RSV е известен като водещ причинител на бронхиолит и пневмония в ранна детска възраст, особено при деца на възраст под 1 год. По данни на различни автори този вирус е отговорен за 50-90% от хоспитализациите с бронхиолит и 5-40% от тези с пневмония при деца под 5 год.[4;6]. В нашето проучване RSV се доказваше най-често при хоспитализирани деца, с усложнения от страна на долния респираторен тракт предимно бронхиолит, ларингоарахеит и пневмония.

Човешкият метапневмовирус е сходен с RSV и заема второ място след него, като причинител на бронхиолит и пневмония сред деца на възраст под 5 год. [3]. В нашето проучване този вирус бе доказан при 26 деца някой от, които бяха хоспитализирани по повод на възникване на усложнения като бронхиолит и пневмония.

Парагрипните вируси тип 1, 2 и 3 проявяват различни клинични и епидемиологични характеристики. Тип -1 и -2 са важни етиологични агенти на круп, докато тип -3 се свързва главно с развитието на бронхиолит и пневмония, при деца в кърмаческа и ранна възраст. В нашето проучване парагрипни вируси 1, 2 и 3 тип бяха доказани общо в 20 (6,2%) деца, основно без усложнения [11].

Честотата на аденовирусните инфекции при деца варира в различните проучвания. Аденовирусите причиняват по-тежки респираторни заболявания главно при имунокомпрометирани пациенти. В нашето проучване те бяха доказани при 40 деца предимно диагностицирани с пневмония.

Риновирусите (тип А, В и С, включващи общо над 150 субтипа) са най-честите респираторни патогени на горния дихателен тракт при лица от всяка възраст. При малки деца те могат да причинят тежки ОРЗ, включително среден отит, синусит, круп, засягане на долния респираторен тракт [7]. В нашето проучване риновирусите имаха сравнително ниска честота (11%). Те се доказваха както при амбулаторно лекувани, така и при хоспитализирани деца. Важно е да се спомене, че най-чести в изследването бяха коинфекциите с участието на HRV, RSV и А(Н3N2).

В редица проучвания е установено, че RSV, метапневмовирус, парагрипните вируси и бокавирусите се доказват в симптоматични пациенти, но не и в здрави деца, докато в асимптоматични деца се установява сравнително висок процент рино-, корона- и ентеровируси. Това се обяснява с продължителното излъчване на втората група вируси, поради което се препоръчва резултатите от молекулярното им тестване да се интерпретират с внимание [13].

Настоящото проучване извършено с помощта на метода *Real Time RT-PCR* позволява всяка една клинична проба да се изследва в рамките на 24 часа за наличие на най-често срещани респираторни вируси. Проучването разкрива голямото разнообразие от вируси, етиологични агенти на ОРЗ в детска възраст.

### Извод

Изследването потвърждава водещата роля на респираторно-синцитиалния вирус, като причинител на бронхиолит и ларинготрахеит в ранна детска възраст и на грипните вируси, като основни причинители на тежко протичащи заболявания с неврологичните усложнения и пневмонията при деца на възраст под 5 год.

### Литература:

1. Переновска П., „Остри респираторни инфекции в детска възраст“. *Мединфо*, 3:1-4, 2012.
2. Bradley, J.S, Byington, C.L., Shah, S.S., „The management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America“. *Clin Infect Dis.*, 53, (7):e25–76, 2011.
3. Edwards K.M., Zhu Y., Griffin M.R., “Burden of Human Metapneumovirus Infection in Young Children”. *N Engl J Med.*, 368 (7): 633-643, 2013.
4. Eric, S. A., Cherian, T., Chow, J., Shahid-Salles, S. A., Laxminarayan, R., & John, T. J., 2006. “Acute Respiratory Infections in Children”. Chapter 25, 483-497.
5. Goka, E.A., Vallely, P.J., Mutton K.J., “Single and multiple respiratory virus infections and severity of respiratory disease: A systematic review”. *Paediatr Respir Rev*, 15, 2014, 4, 363–370.
6. Hall, C.B., “Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus”. *N Engl J Med.*, 344 (25): 1917-1928, 2001.
7. Kieninger E., Fuchs O., Latzin P., “Rhinovirus infections in infancy and early childhood”. *Eur Respir J.*, 41( 2): 443–452, 2013.
8. Kodani, M., Yang, G., Conklin, L.M., Travis, T.C., Whitney, C.G., Anderson, L.J., et al. „Application of TaqMan Low-Density Arrays for Simultaneous Detection of Multiple Respiratory Pathogens“, *J Clin Microbiol.*, 49:2175-82, 2011.
9. Liu, W.K., Liu, Q., Chen D.H., “Epidemiology of Acute Respiratory Infections in Children in Guangzhou: A Three-Year Study”. *PLoS One*, 9 (5): e96674, 2014.
10. Mäkelä, M.J., Puhakka , T., Ruuskanen, O., Leinonen, M., Saikku, P., Kimpimäki, M., Blomqvist, S., Hyypiä, T., Arstila, P., “Viruses and bacteria in the etiology of the common cold”. *J Clin Microbiol.*, 36(2):539-42, 1998.
11. Mao, N., J.i., Y., Xie, Z., “Human Parainfluenza Virus-Associated Respiratory Tract Infection among Children and Genetic Analysis of HPIV-3 Strains in Beijing, China”. *PLoS One*. 7(8) e:43893, 2012.
12. Nair, H., Simões, E.A., Rudan, I., Gessner, B.D., Azziz-Baumgartner, E., Zhang, J.S., Feikin, D.R., Mackenzie, G.A., Moïsi, J.C., Roca, A., Baggett, H.C., Zaman, S.M., Singleton, R.J., “Global and regional burden of hospital admissions for severe acute lower respiratory infections in young children in 2010: a systematic analysis“. *Lancet.*, 381(9875):1380-90, 2013.
13. Rhedin S., Lindstrand A., Rotzén-Östlund , et al., “Clinical Utility of PCR for Common Viruses in Acute Respiratory Illness. *Pediatrics*”, 133 (3): e538–e545, 2014.
14. Rudan, I., Tomaskovic, L., Boschi-Pinto, C., Campbell, H., “Global estimate of the

## Science & Technologies

- incidence of clinical pneumonia among children under five years of age”. Bull World Health Organ., 82: 895-903, 2004.
15. Semple, M.G., Cowell, A., Dove, W., “Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis”. J Infect Dis., 191 (3) : 382–386, 2005.
  16. Tregoning, J. S and Schwarze, J.” Respiratory Viral Infections in Infants: Clinical Symptoms, Virology, and Immunology”. Clin Microbiol Rev., 23(1): 74–98, 2010.