

Официален орган на Българското Дружество по Белодробни Болести

Торакална Медицина

Official Journal of the Bulgarian Respiratory Society

НОВИ ДИАГНОСТИЧНИ ПОДХОДИ
И ТЯХНОТО ВЪЗДЕЙСТВИЕ ВЪРХУ ПРЕВЕНЦИЯТА
И КОНТРОЛА НА ИНФЕКЦИЯТА СЪС SARS-COV-2

NEW DIAGNOSTIC APPROACHES
AND THEIR IMPACT ON THE PREVENTION
AND CONTROL OF SARS-COV-2 INFECTION

ТОРАКАЛЕН УЛТРАЗВУК В ЕРАТА НА COVID-19

THORACIC ULTRASOUND IN THE COVID-19 ERA

ЕОЗИНОФИЛИ ПРИ ХОББ

EOSINOPHILS IN COPD

ЧУВСТВИТЕЛНОСТ И СПЕЦИФИЧНОСТ
НА ТЕЧНА БИОПСИЯ ОТ БРОНХОАЛВЕОЛАРЕН ЛАВАЖ
И КРЪВНА ПЛАЗМА ПРИ УСТАНОВЯВАНЕ
НА EGFR МУТАЦИОНЕН СТАТУС НА ПАЦИЕНТИ
С ПЪРВИЧЕН БЕЛОДРОБЕН АДЕНОКАРЦИНОМ

SENSITIVITY AND SPECIFICITY
OF BRONCHOALVEOLAR LAVAGE
AND BLOOD PLASMA LIQUID BIOPSY
IN THE ASSESSMENT OF EGFR MUTATION STATUS
IN PATIENTS WITH PRIMARY LUNG ADENOCARCINOMA

РОЛЯ НА LDH В ДИАГНОСТИЧНИЯ ПРОЦЕС
ПРИ ПЛЕВРАЛНИ ИЗЛИВИ С НЕЯСНА ЕТИОЛОГИЯ

ROLE OF LDH IN THE DIAGNOSTIC PROCESS
IN PLEURAL EFFUSIONS OF UNKNOWN ETIOLOGY

печатно издание: ISSN 1313-9827 / онлайн издание: ISSN 3033-0165

Том XIII / 2024 / Брой 1
Volume XIII / 2024 / Issue 1





Living Every Breath



88 микрограма beclometasone dipropionate
5 микрограма formoterol fumarate dihydrate
9 микрограма glycopyrronium
прах за инхалация



87 микрограма beclometasone dipropionate
5 микрограма formoterol fumarate dihydrate
9 микрограма glycopyrronium
разтвор под налягане за инхалация



Фиксирана тройна комбинация за превенция
на средно тежки и тежки екзацербации при ХОББ ^{1,2,3,4}



Двукратен дневен прием в познато pMDI и DPI устройство¹
за облекчаване на симптомите през деня и нощта⁴



Extrafine частици със среден аеродинамичен размер на масата MMAD <2 µm,
чрез които се постига депозиция в големите и малките дихателни пътища^{1,2,3}

Преди да изпишете Trimbow®, моля запознайте се
с кратката характеристика на продукта (КХП).
Пълна информация можете да получите от:
Киези България ЕООД
София 1330, ул. Гюешево 83
БЦ „Сердика“, офис 103-105, тел. 02 9201205

Източници:

1. Trimbow, КХП (<https://www.ema.europa.eu>)
2. Singh, D. Expert opinion on pharmacotherapy, 2018, 19.11:1279-1287.
3. Singh et al. International journal of chronic obstructive pulmonary disease 2017;12:2917.
4. Beeh et al. International journal of chronic obstructive pulmonary disease, 2021;14:16:79-89.

ПО ЛЕКАРСКО ПРЕДПИСАНИЕ

Притежател на разрешение за употреба:
Chiesi Pharmaceutici S.p.A. Via Palermo 26/A
43122 Parma, Италия
Per. № EU/1/17/1208/007
От медицинските специалисти се
изисква да съобщават всяка
подозирана нежелана реакция чрез
националната система: www.bda.bg

BG.TRID.23.02.01
ИАЛ-10978/09-03-2023



OFEV® (nintedanib) - ПЪРВОТО и ЕДИНСТВЕНО антифибротично лечение, одобрено за 3 терапевтични показания:

- ИДИОПАТИЧНА БЕЛОДРОБНА ФИБРОЗА
- СВЪРЗАНА СЪС СИСТЕМНА СКЛЕРОЗА ИББ*
- ХРОНИЧНИ ФИБРОЗИРАЩИ ИББ С ПРОГРЕСИВЕН ФЕНОТИП.¹

* ИББ - Интерстициални Белодробни Болести

Избрана информация от КХП OFEV® OFEV 150 mg меки капсули и OFEV 100 mg меки капсули. Качествен и количествен състав: OFEV 100 mg меки капсули. Една мека капсула съдържа 100 mg нинтеданиб (nintedanib) (под формата на езилат). OFEV 150 mg меки капсули. Една мека капсула съдържа 150 mg нинтеданиб (nintedanib) (под формата на езилат). **Терапевтични показания:** OFEV е показан при възрастни за лечение на идиопатична белодробна фиброза (ИБФ). OFEV е показан също при възрастни за лечение на свързана със системна склероза интерстициална белодробна болест (ССи-свързана ИББ). **Дозировка и начин на приложение:** Препоръчителната доза нинтеданиб е 150 mg два пъти дневно, приложена приблизително през 12 часа. Дневна доза от два пъти по 100 mg се препоръчва за използване само при пациенти, които са показали непоносимост към дневна доза от два пъти по 150 mg. Не трябва да се надвишава препоръчителната дневна доза от 300 mg. **Специални популации:** Пациенти в старческа възраст (≥ 65 год.) - като цяло не са наблюдавани разлики в безопасността и ефикасността при пациенти в старческа възраст. Не се налага априори адаптиране на дозата в зависимост от възрастта на пациентите. Бъбречно увреждане: Не се налага корекция на началната доза при пациенти с леко до умерено бъбречно увреждане. Черндобно увреждане: При пациенти с леко черндобно увреждане (Child Pugh A) препоръчителната доза OFEV е 100 mg два пъти дневно с интервал приблизително 12 часа. Не се препоръчва лечение с OFEV при пациенти с умерено (Child Pugh B) и тежко (Child Pugh C) черндобно увреждане. **Противопоказания:** Бременност. Свръхчувствителност към нинтеданиб, езилати или соя, или към някое от помощните вещества. **Специални предупреждения и предпазни мерки при употреба:** Стомашно-чревни нарушения **Диария:** Диария е най-честата стомашно-чревна нежелана реакция, съобщена при 62.4% спрямо 18.4% от пациентите, лекувани съответно с OFEV и плацебо в проучването IMPULSIS. Пациентите трябва да бъдат лекувани при първите прояви с адекватно хидратиране и антидиарични лекарствени продукти, като лоперамид, като може да се наложи прекратяване на лечението. Лечението с OFEV може да се поднови с намалена доза (100 mg два пъти дневно) или с цялата доза (150 mg два пъти дневно). **Гадене и повръщане:** Често съобщавани нежелани реакции от страна на стомашно-чревния тракт са гадене и повръщане. При повечето пациенти с гадене и повръщане събитието е леко до умерено. **Черндобна функция:** Не са проучени безопасността и ефикасността на OFEV при пациенти с умерено (Child Pugh B) или тежко (Child Pugh C) черндобно увреждане. По тази причина не се препоръчва лечение с OFEV при такива пациенти. Повишенията на черндобните ензими (ALT, AST, алкална фосфатаза (ALP) в кръта, гамаглутамилтрансфераза (GGT)) и билирубина в повечето случаи са обратими след намаляване на дозата или прекъсване на лечението. Ако се установи повишаване на трансминазите (AST или ALT) > 3 пъти ГН, препоръчително е да се намали дозата или да се прекрати лечението с OFEV. **Бъбречна функция:** В случаи на бъбречно увреждане/бъбречна недостатъчност, трябва да се обмисли корекция на тералитата. **Кръвоизлив:** Потискането на рецепторите на съдовия ендотелен растежен фактор (VEGF) може да е свързано с повишен риск от кръвене. Пациентите с известен риск за кръвене, включително пациентите с наследствено предразположение към кръвене или пациентите, които получават антикоагулантно лечение с цяла доза, не са включени в проучванията. Тези пациенти трябва да бъдат лекувани с OFEV само ако очакваната полза превишава потенциалния риск. **Артериални тромбоемболични събития:** Пациентите с анамнез за скоршен инфаркт на миокарда или инсулт са били изключени от изпитванията. Бъдете внимателни, когато лекувате пациенти с по-висок сърдечен риск, включително известна исемична болест на сърцето. Венозна тромбоемболия: Не се наблюдава повишен риск от венозна тромбоемболия при лекуваните с нинтеданиб пациенти. Перфорации на стомашно-чревния тракт: Необходимо е особено внимание, когато се лекуват пациенти с предходна коремна операция, анамнез за пептична язва, дивертикулна болест или получаващи съпътстващи кортикостероиди или H2PAC. Лечението с OFEV трябва да се започва най-малко 4 седмици след коремна операция. **Хипертензия:** Прилагането на OFEV може да повиши кръвното налягане. Системното кръвно налягане трябва да се измерва периодично и според клиничните показания. **Бременност:** Няма информация относно употребата на OFEV при бременни жени, но предклиничните проучвания при животни са показали репродуктивна токсичност на това активно вещество. Ако пациентката забременее по време на приема на OFEV, лечението трябва да се преустанови и тя трябва да бъде информирана за потенциалния риск за плода. **Кърмене:** Няма информация за екскрецията на нинтеданиб и неговите метаболити в млякото. Не може да се изключи риск за новородените/кърмачетата. Кърменето трябва да се преустанови по време на лечение с OFEV. **Фертилитет:** На база на предклиничните проучвания няма данни за нарушение на фертилитета при мъжки животни. Ефекти върху способността за шофиране и работа с машини: OFEV повлиява в малка степен способността за шофиране и работа с машини. Пациентите трябва да бъдат посветени да бъдат внимателни, когато шофират или използват машини по време на лечението си с OFEV. **Нежелани лекарствени реакции:** Най-често съобщаваните нежелани лекарствени реакции, свързани с употребата на нинтеданиб, включват диария, гадене и повръщане, болка в корема, намален апетит, загуба на тегло и повишаване на черндобните ензими. Диария: В клиничните изпитвания диарията е най-честото събитие, за което се съобщава. При повечето пациенти събитието е с лека до умерена тежест. Повече от две трети от пациентите, които получават диария, съобщават за първа поява през първите три месеца на лечението. При повечето пациенти събитията се овладяват с противодиарично лечение, намаляване на дозата или прекъсване на лечението. **Повишени черндобни ензими:** За повишаване на черндобните ензими се съобщава при 13.6% от лекуваните с нинтеданиб пациенти. Повишенията на черндобните ензими са обратими и не са свързани с клинично проведено черндобно заболяване. Предозиране: Няма специфичен антидот или лечение при предозиране на OFEV. В случаи на предозиране, лечението трябва да се преустанови и да се предприемат подходящи общи поддържащи мерки. **Срок на годност:** Да не се съхранява над 25 °C. Да се съхранява в оригиналната опаковка, за да се предпази от влага. По лекарско предписание. Преди да предпишете OFEV, моля прочетете пълната Кратка характеристика на продукта (КХП), достъпна на уебсайта на Европейската агенция по лекарствата: www.ema.europa.eu. Пълната, актуална КХП може да Ви бъде предоставена и от медицинския представител на Boehringer Ingelheim.

Източници: 1. КХП OFEV

PC-BG-101377

СЪДЪРЖАНИЕ

НОВИНИ

**ОБРЪЩЕНИЯ ОТ ПРЕДСЕДАТЕЛЯ НА УС НА БДББ
И ОТ РЕДАКТОРА**

стр. 4

In memoriam

ДОЦ. ДОНКА СТЕФАНОВА

стр. 5

обзори

**НОВИ ДИАГНОСТИЧНИ ПОДХОДИ
И ТЯХНОТО ВЪЗДЕЙСТВИЕ ВЪРХУ ПРЕВЕНЦИЯТА
И КОНТРОЛА НА ИНФЕКЦИЯТА СЪС SARS-COV-2**

стр. 6

С. Найденска, М. Захариева, К. Грудков, Д. Петрова, Х. Найденски

ТОРАКАЛЕН УЛТРАЗВУК В ЕРАТА НА COVID-19

стр. 24

Т. Михалова, Й. Ямакова, Р. Петков

ЕОЗИНОФИЛИ ПРИ ХОББ

стр. 32

Е. Меков, Н. Янев, Р. Петков, Й. Ямакова, Д. Костадинов

оригинални
статии

**ЧУВСТВИТЕЛНОСТ И СПЕЦИФИЧНОСТ НА ТЕЧНА БИОПСИЯ
ОТ БРОНХОАЛВЕОЛАРЕН ЛАВАЖ И КРЪВНА ПЛАЗМА
ПРИ УСТАНОВЯВАНЕ НА EGFR МУТАЦИОНЕН СТАТУС
НА ПАЦИЕНТИ С ПЪРВИЧЕН БЕЛОДРОБЕН АДЕНОКАРЦИНОМ**

стр. 42

Н. Янев, Е. Меков, Д. Димитрова, Н. Габровска, Вл. Миланов,
С. Бичев, С. Иванова, Д. Маринова, Д. Вълев, М. Михайлов,
И. Попова, Д. Костадинов

**РОЛЯ НА LDH В ДИАГНОСТИЧНИЯ ПРОЦЕС
ПРИ ПЛЕВРАЛНИ ИЗЛИВИ С НЕЯСНА ЕТИОЛОГИЯ**

стр. 48

Т. Михалова, Е. Меков, Н. Янев, Й. Ямакова, Р. Петков

CONTENTS

**ADDRESSES FROM THE CHAIRMAN OF THE BOARD OF THE
BULGARIAN RESPIRATORY SOCIETY AND FROM THE EDITOR**

p. 4 news

ASSOC. PROFESSOR DONKA STEFANOVA

p. 5 In memoriam

**NEW DIAGNOSTIC APPROACHES
AND THEIR IMPACT ON THE PREVENTION
AND CONTROL OF SARS-COV-2 INFECTION**

p. 6 reviews

S. Naydenska, M. Zaharieva, K. Grudkov, D. Petrova, H. Najdenski

THORACIC ULTRASOUND IN THE COVID-19 ERA

p. 24

T. Mihalova, Y. Yamakova, R. Petkov

EOSINOPHILS IN COPD

p. 32

E. Mekov, N. Yanev, R. Petkov, Y. Yamakova, D. Kostadinov

**SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF BRONCHOALVEOLAR
LAVAGE AND BLOOD PLASMA LIQUID BIOPSY IN THE
ASSESSMENT OF EGFR MUTATION STATUS IN PATIENTS
WITH PRIMARY LUNG ADENOCARCINOMA**

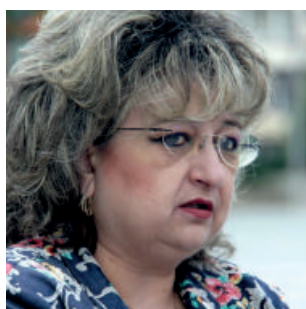
p. 42 original
articles

N. Yanev, E. Mekov, D. Dimitrova, N. Gabrovksa, V. Milanov,
S. Bichev, S. Ivanova, D. Marinova, D. Vulev, M. Mihailov,
I. Popova, D. Kostadinov

**ROLE OF LDH IN THE DIAGNOSTIC PROCESS
IN PLEURAL EFFUSIONS OF UNKNOWN ETIOLOGY**

p. 48

T. Mihalova, E. Mekov, N. Yanev, Y. Yamakova, R. Petkov



Проф. д-р Диана Петкова, д.м.
Председател на Българското
дружество по белодробни болести
Издател на списанието

Prof. Diana Petkova, MD, PhD
President of the Bulgarian
Respiratory Society
Journal publisher

Уважаеми колеги,
Списание "Торакална медицина" – научно-то издание на Българското дружество по белодробни болести, се завръща при Вас обновено и съпроводено от електронно издание. Новият екип на списанието, воден от проф. Венцислава Пенчева, на който УС на БДББ гласува доверие, продължава да го списва като трибуна за научните постижения на българските пулмолози.

Във времето на принудителното отсъствие на списанието, когато ние се бяхме посветили изцяло на нашата мисия да спасяваме човешки животи по време на пандемията, беше натрупан безценен професионален опит, който сега нашите колеги изследователи споделят в своите публикации.

Очакваме Вашите нови научни съобщения, които не се съмнявам, ще бъдат принос както към българската пулмология, така и към изследването и лечението на белодробните болести в контекста на световната медицинска практика.

Нека споделяме на страниците на нашето списание своите постижения, да се обогатяваме взаимно и да гледаме напред в развитието си като специалисти в новите условия на непрестанни промени в медицинската наука и в обществото.

Благодаря Ви, че сме заедно!

Dear colleagues,

Thoracic Medicine Journal, the scientific periodical of the Bulgarian Respiratory Society, returns to you updated and accompanied by an electronic edition. The new team of the journal led by Prof. Ventsislava Pencheva, MD, PhD that has been given a vote of confidence by the Management Board of the Bulgarian Respiratory Society, continues to edit it as a tribune for the scientific achievements of Bulgarian pulmonologists.

In the time of the journal's necessary absence, when we had dedicated ourselves entirely to our mission to save lives during the pandemic, invaluable professional experience was gained, which our fellow researchers now share in their publications.

We look forward to your new scientific communications, which I have no doubt will be a contribution both to Bulgarian pulmonology and to the study and treatment of lung diseases in the context of global medical practice.

Let us share our achievements on the pages of our journal, enrich each other and look ahead in our development as specialists in the new conditions of continuous changes in medical science and society.

Thank you for being together!



Проф. д-р Венцислава Пенчева, д.м.
Главен редактор

Prof. Ventsislava Pencheva, MD, PhD
Editor-in-chief

Здравейте колеги,
В ръцете си държите новия брой на списание ТОРАКАЛНА МЕДИЦИНА. След прекъсване, причинено от Ковид пандемията, когато бяхме на първа линия, борихме се за живота на нашите пациенти и нямаше време за наука, отново се връщаме в руслото на обичайния живот. Време е да споделим наученото, да покажем какво ново сме открили и какво старо сме променили. Хубаво е да лекуваме, но е добре и да споделяме как и защо. Списанието е една чудесна възможност, чрез която да покажем на другите какво ново можем, а защо не и да сверим своя часовник на национално и международно ниво. В последните години пулмологията бележи значително развитие, а ние трябва да го популяризираме и приложим на местно ниво.

Наша е отговорността да накараме обществото да ни цени и уважава, защото можем и знаем!

Dear colleagues,

You are holding the latest THORACIC MEDICINE. After a hiatus caused by the COVID pandemic, when we were on the front lines fighting for the lives of our patients and having no time for science, we are back to business as usual. It's time to share what we've learned, to show what new things we've discovered and what old things we've changed. It's good to heal, but it's also good to share how and why. The journal is a great opportunity to show others what new things we can do, and why not to compare notes on a national and international level. Pulmonology has seen significant developments in recent years, and we need to promote and apply this locally.

It is our responsibility to make the public appreciate and respect us because we can and we know!

**Българската пулмология осиротя.
Напусна ни доц. д-р Донка Стефанова.**

Лекар, учител, ментор, приятел и човек, отдал живота си за победата на живота над смъртта.

Хиляди са пациентите, лекувани от нея през дългия й професионален път. Стотици са лекарите, почерпили от нейния професионален опит, вещина в лечителското изкуство и оная женска топлота и емпатия, с която се грижеше за болните. Вдъхваше им сигурност и надежда, а на младите колеги даваше самочувствие и увереност.

В нейно лице българската пулмология имаше своя лидер в областта на фтизиатрията. Лидер, който да стои достойно и стабилно на европейския научен подиум и с рутина и гъвкавост, а понякога и с характер да наложи промените и въведе съвременните методи за лечението на туберкулозата. Под нейното вещо и умело ръководство новите стратегии се въвеждаха лесно, а фтизиатричните звена имаха в нейно лице съветник и консултант в трудните клинични решения и приятел, на чието рамо могат да се облегнат.

Доц. Стефанова обучи и квалифицира стотици български лекари в областта на фтизиатрията, преподаде знанията си на хиляди студенти от МУ София, стана разпознаваемото лице в световната наука за борба с туберкулозата. Взела активно участие в управлението на БДББ като член на УС за дълъг период от време, доц. Стефанова до последните месеци от своя живот се вълнуваше, преживяваше и активно участваше в научните форуми на дружеството и обучителните му модули. Планираше и участието си в предстоящия курс за млади пулмолози през ноември.

Тази лекция ще прочете и ще продължава да чете за всички нас от небесната катедра, а ние ще я помним и пазим в сърцата си с нейната нежна усмивка, благостта, човечността и доброто сърце, които щедро раздаваше не само за семейството и децата си, но и на всички нас, които имахме честта и привилегията да я познаваме и да работим с нея.

Обичаме Ви!
Ще Ви помним!
Да е светъл пътят Ви!

УС на БДББ

**Bulgarian pulmonology
has become orphaned.
Assoc. Prof. Donka Stefanova, MD left us.**

Doctor, teacher, mentor, friend and a person who gave her life for the victory of life over death.

Thousands of patients were treated by her during her long professional career. Hundreds are the doctors who have benefited from her professional experience, her skill in the art of healing and that feminine warmth and empathy with which she cared for patients. She made them feel safe and gave them hope, and also inspired self-esteem and confidence in her young colleagues.

In her person Bulgarian pulmonology had its leader in the field of phthisiology. A leader who could stand worthy and steady on the European scientific podium and with routine and flexibility, and sometimes with character, impose changes and introduce modern methods for the treatment of tuberculosis. Under her able and skillful leadership, new strategies were easily introduced, and the chest departments had in her person an adviser and consultant in difficult clinical decisions and a friend with a shoulder to lean on.

Assoc. Prof. Stefanova has trained and qualified hundreds of Bulgarian doctors in the field of phthisiology, taught her knowledge to thousands of students at the Medical University of Sofia, and has become the most recognizable face in the global science of tuberculosis control. Having taken an active part in the management of Bulgarian Respiratory Society as a Board member for a long period of time, Assoc. Prof. Stefanova was excited, experienced and actively participated in the scientific forums of the Society and its training modules until the last months of her life. She was also planning her participation in the upcoming course for young pulmonologists in November.

She will give that lecture and will continue to do so for all of us in the heavenly cathedral, and we will remember and hold her in our hearts for her gentle smile, her kindness, her humanity, and the good heart she generously gave not only to her family and children, but to all of us who had the honor and privilege of knowing and working with her.

We love you!
We will remember you!
May your path be bright!

Management Board of the Bulgarian Respiratory Society

In memoriam

Доц. Донка Стефанова

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024



НОВИ ДИАГНОСТИЧНИ ПОДХОДИ И ТЯХНОТО ВЪЗДЕЙСТВИЕ ВЪРХУ ПРЕВЕНЦИЯТА И КОНТРОЛА НА ИНФЕКЦИЯТА СЪС SARS-COV-2

С. Найденска¹, М. Захариева², К. Грудков³, Д. Петрова¹, Х. Найденски²

¹ Катедра "Пропедевтика на вътрешните болести", УМБАЛ "Александровска", Медицински факултет, Медицински университет – София

² Катедра по инфекциозна микробиология, Институт по микробиология „Стефан Ангелов“, Българска академия на науките, София, България

³ УМБАЛ „Лозенец“, Медицински факултет, Софийски университет „Св. Климент Охридски“ – София

Резюме

Заболяването COVID-19 бе обявено от СЗО в началото на март 2020 г. за пандемия и се превърна в глобален здравен проблем със сериозни икономически последици за повече от 200 държави на шестте континента. Етиологичният агент SARS-CoV-2 е вирус с обвивка и положително ориентирана едноверижна РНК (+ssRNA), който е силно контагиозен и се предава основно по въздушно-капков път, като не само симптоматичните, но и безсимптомните хора са източник за разпространение на инфекцията. Понастоящем над 60 млн. души са заразени в световен мащаб, а над 1,4 млн. са загубили битката с вируса. За съжаление, разпространението и смъртността нарастват експоненциално, което налага редовно и масово провеждане на надеждни тестове за идентифициране и изолиране на лица, заразени с COVID-19. Секвенирането на вируса позволи разработването на надеждни китове за молекулярна диагностика, базирани на полимеразна верижна реакция с обратна транскриптаза в реално време (RT-qPCR). От научно значение са и допълнително разработените по-точни молекулярно-биологични методи като дигитална капкова PCR - ddPCR, метагеномен анализ и др. Разработени са и редица бързи антигенни тестове за доказване наличието на вирусни частици, а създадените серологични тестове потвърждават наличието на антитела у преболедевалите пациенти. Ролята и приложението на тези тестове нараства все по-бързо и те ще бъдат от решаващо значение за ограничаване разпространението и постигане на успешен отговор в полза на общественото здраве. Правилната диагноза следва да бъде поставена само с комплексен подход и анализ на данните от различни диагностични платформи – анамнеза и клинични симптоми, RT-qPCR, антигенни тестове, образна диагностика (компютърна томография) и др.

NEW DIAGNOSTIC APPROACHES AND THEIR IMPACT ON THE PREVENTION AND CONTROL OF SARS-COV-2 INFECTION

S. Naydenska¹, M. Zaharieva², K. Grudkov³, D. Petrova¹, H. Najdenski²

¹ Department of Propaedeutic of Internal Diseases,
UMHAT Alexandrovska, Medical Faculty, Medical University – Sofia

² Department of Infectious Microbiology, the Stephan Angeloff
Institute of Microbiology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

³ UMHAT Lozenetz, Medical Faculty, Sofia University
“St. Kliment Ohridski” – Sofia

Abstract

The COVID-19 outbreak was announced by WHO at the beginning of March 2020 as a pandemic as far as becoming a global health problem and serious economic burden in more than 200 countries over the six continents. The etiological agent SARS-CoV-2 is an enveloped, positive-sense, single-stranded RNA (+ssRNA) virus which is highly contagious being transmitted mainly by airborne droplets, whereby not only symptomatic but also asymptomatic people are a source of the infection spreading. Currently, more than 60 million people are infected worldwide, whereby more than 1.4 million lost the battle with the virus. Unfortunately, the dissemination and mortality rates increase exponentially every day which requires regular and mass testing for identification and isolation of infected individuals. The sequencing of the virus allowed the development of reliable molecular diagnostic tools based on the real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-qPCR). Of scientific interest are the more accurate molecular biology methods such as digital droplet PCR (ddPCR), metagenomic analysis, etc. Rapid antigen tests are developed too for proving the presence of viral particles, and the established serological tests for checking the antibody response in the patients. The role and application of these tests are growing rapidly and they will be crucial for reducing the transmission of COVID-19 and achieving a successful public health response. The correct diagnosis should be made only with a comprehensive approach and analysis of data from different diagnostic platforms - history and clinical symptoms, RT-qPCR, antigen tests, imaging (computed tomography), etc.

Въведение

Пандемичното разпространение на „COro-naVirus Disease 2019“ (COVID-19) се превърна в глобален здравен проблем и сериозна икономическа тежест в повече от 200 държави от шестте континента. Етиологичният агент на COVID-19, така нареченият SARS-CoV-2 (тежък остър респираторен синдром – коронавирус 2), е нов много заразен бета коронавирус (bCoV), който се появява за първи път в Ухан, Китай през 2019 година [1-3]. На 11 март 2020 г. Световната здравна организация (СЗО) обяви заболяването за пандемия. Към 26 ноември 2020 г. в световен мащаб са докладвани над 60 млн. случая на COVID-19, от които над 1,4 млн. смъртни случая [4].

SARS-CoV-2 вирусът притежава обвивка и положително ориентирана едноверижна РНК (+ssRNA). Той вероятно води началото си от прилепи и има зоонозен характер, произхождайки от животински коронавирус [2, 3, 5]. Той може да се предава от животно на човек, от човек на животно и от човек на човек, при което не само симптоматичните, но и безсимптомните хора са източник на разпространение на COVID-19. Наблюдаваният инкубационен период за COVID-19 варира между 2 и 14 дни (средно 4-5 дни) от момента на експозицията [6]. Понастоящем терапевтичните стратегии за справяне с инфекцията са само поддържащи. Що се отнася до предаването на SARS-CoV-2 главно по въздушен път и в по-малка степен чрез замърсени повърхности, превантивните мерки като социално дистанциране, използване на маски, сапуни и дезинфектанти изглеждат най-доброто оръжие за ограничаване пандемията [2]. В тази връзка редовно провежданите и надеждни тестове за идентифициране и изолиране на лица, заразени с COVID-19, изглеждат от решаващо значение за намаляване на разпространението и постигане на успешен отговор в полза на общественото здраве. Секвенирането на вируса позволи разработването на надеждни инструменти за молекулярна диагностика, базирани на полимеразна верижна реакция с обратна транскриптаза в реално време (RT-qPCR) и задейства търсенето на по-точни молекулярно-биологични методи, откриващи една или повече прицелни структури във вирусната РНК (дигитална капкова PCR - ddPCR, метагеномен анализ и др.). В допълнение, други диагностични платформи като компютърна томография и серологични тестове също могат да бъдат използвани при заразени лица за потвърждаване на клиничните симптоми и за проверка на отговора на антителата. Тестването трябва да бъде свързано и да се основава на тежестта на всеки отделен случай и да включва не само първоначалния RT-qPCR тест, но и допълнителна микробиологична диагностика, клинично и вирусологично наблюдение, и образна диагностика.

Трябва да се отбележи, че нито един от разработените тестове не е 100% чувствителен и специфичен. Например диагностичният

Introduction

The pandemic outbreak “COro-naVirus Disease 2019” (COVID-19) has become a global health problem and serious economic burden in more than 200 countries across the six continents. The etiological agent of COVID-19, the so-called SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), is a novel very contagious beta coronavirus (bCoV) that emerged first in Wuhan, China in 2019 [1-3]. On March 11th, 2020 The World Health Organization (WHO) announced the outbreak as a pandemic. As of November 22, 2020, more than 60 million cases of COVID-19 have been reported globally, including more than 1.4 million deaths [4].

SARS-CoV-2 is an enveloped, positive-sense, single-stranded RNA (+ssRNA) virus that most probably originates from a zoonotic coronavirus spread in bats [2, 3, 5]. The virus could be transmitted from animal to human, human to animal, and human-to-human, whereby not only symptomatic but also asymptomatic people are the source of COVID-19 spread. The estimated incubation period for COVID-19 varies between 2 and 14 days (median 4-5 days) from the time of exposure [6]. Currently, the therapeutic strategies to deal with the infection are only supportive. As far as transmission of SARS-CoV-2 occurs mainly through an airborne route, and, to a lesser extent, through contaminated surfaces, preventive measures such as social distancing, use of masks, soaps, and disinfectants seem to be the best weapon to limit the pandemic [2]. In this regard, regular and accurate testing for the identification and isolation of individuals infected with COVID-19 appears to be crucial for reducing the transmission and achieving a successful public health response. The sequencing of the virus allowed the development of reliable molecular diagnostic tools based on the real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-qPCR) and triggered the research of more accurate molecular biology methods detecting one or more targets in the viral RNA (ddPCR, metagenomic analysis, etc.). In addition, other diagnostic platforms such as computation tomography and serological tests could be used in infected persons to confirm the clinical symptoms and to check on the antibody response. Testing should be related to and based on the case severity and should include not only the initial RT-qPCR test but also additional microbiology diagnostics, clinical and virological monitoring, and imaging diagnostics.

It has to be noted that no test is 100% sensitive and specific. For example, the diagnostic test may be less accurate in asymptomatic or low-risk

тест може да бъде по-малко точен при асимптоматични или нискорискови лица, които отделят малко вируси в околната среда. Точността зависи и от стадия на инфекцията – рано или късно в хода на заболяването пациентите разпространяват по-малко вирусни частици във въздуха. Доказаните фалшиво отрицателни резултати ще бъдат с честота 2 на 100 тествани индивида дори при тестове с 98% специфични и 99% чувствителност [7]. Според Shuren и сътр. [7], ако 5 милиона души са тествани и 1% са положителни за COVID-19, 1000 ще имат фалшиво отрицателни резултати, а други 49 500 ще получат фалшиво положителни резултати. От една страна пропуснатите лица ще увеличат риска от предаване, от друга страна фалшиво положителните лица, особено ако са служители на общественото здравеопазване, могат да бъдат излишно поставени под карантина. Следователно всички резултати от разрешени тестове за COVID-19 трябва да се тълкуват само от клиницисти, като се има предвид общото състояние на пациентите, резултатите от други клинични показатели и допълнителните микробиологични тестове изброени по-горе.

Изследване за инфекция със SARS-CoV-2

Вземане на проби

Първата и много важна стъпка от теста за SARS-CoV-2 се отнася до правилното събиране на пробите. Неправилното вземане на пробите, вкл. неподходящ момент, неправилно събрани проби, лошо съхранение и транспорт могат да увеличат броя на фалшиво отрицателните резултати от теста за COVID-19 и директно да повлияят на мерките, насочени срещу предаването и разпространението на инфекцията в обществото [6, 8, 9]. Официално одобрената досега диагностична стратегия за идентифициране на пациенти с COVID-19 е да се обработват проби от дихателните пътища, за да се търси наличието на SARS-CoV-2 специфични фрагменти от нуклеинова киселина [3]. Наличните понастоящем клинични насоки за диагностика и лечение [6, 10] препоръчват назофарингеалните тампони за получаване на проба с добро качество, тъй като отделянето на вируса във фаринкса е много високо през първата седмица от появата на симптомите [11]. Правилната техника за пробовземане изисква обучение и опит, доколкото тампонът трябва да бъде поставен в задната част на назофаринкса, на дълбочина приблизително 7 см с необходимо завъртане преди изтеглянето на тампона [9]. Приемлива алтернатива са назалните или орофарингеални тампони [12]. За интубирани и механично вентилирани възрастни, за които се подозира, че имат COVID-19, но нямат потвърдена диагноза, пробите от долните дихателни пътища (ендотрахеални аспирати от бронхиална или бронхоалвеоларна промивка) трябва да се предпочитат пред тези от горните дихателни пътища (назофарингеални или орофарингеални) [6]. В таблица 1 са представени

persons who shed little virus in the environment. The accuracy depends also on the stage of the infection – early or late in the course of the illness the patients spread fewer virus particles in the air. A false negative result should occur even if a test is more than 98% specific and 99% sensitive with an incidence of 2 per 100 tested individuals [7]. According to Shuren et al. [7], if 5 million people are tested and 1% are positive for COVID-19, 1000 will have false-negative and other 49 500 will receive false-positive results. On one hand, missed persons will increase the risk of transmission, on the other hand, false-positive persons, especially if they are public health officials, could be unnecessarily quarantined. Therefore, all results from authorized COVID-19 tests should be interpreted only by clinicians considering the general condition of the patients and the results from other clinical indicators and additional microbiological tests as listed above.

Testing for SARS-CoV-2 Infection

Sampling

The first and very important step of the SARS-CoV-2 testing refers to the proper specimen collection. Improper sampling, incl. wrong timing, incorrectly collected specimen, bad storage, and transport could increase the number of false-negative COVID-19 test results and directly influence the management of the infection transmission within the society [6, 8, 9]. The officially approved diagnostic strategy up to now for identifying patients with COVID-19 is to process samples from the respiratory tract in order to search for the presence of SARS-CoV-2 specific nucleic acid targets [3]. The currently available clinical guidelines for diagnostics and treatment [6, 10] recommend the nasopharyngeal swabs for the collection of a high-quality specimen because pharyngeal virus shedding was shown to be very high during the first week of symptoms [11]. The right technique requires training and expertise as far as the swab should be inserted into the posterior nasopharynx, at a depth of approx. 7 cm, and rotated before withdrawing [9]. Nasal swabs or oropharyngeal swabs are acceptable alternatives [12]. For intubated and mechanically ventilated adults who are suspected to have COVID-19 but do not have a confirmed diagnosis, lower respiratory tract samples (endotracheal aspirates from a bronchial wash or bronchoalveolar lavage) should be preferred over upper respiratory tract (nasopharyngeal or oropharyngeal) samples [6]. In Table 1 are presented the recommendations of ECDC (European Centre for Disease Control and Prevention) for specimens [13].

reviews

NEW DIAGNOSTIC APPROACHES AND THEIR IMPACT ON THE PREVENTION AND CONTROL OF SARS-COV-2 INFECTION

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

Друго изследване анализира чувствителността и ефективността на четири комплекта праймери qPCR, разработени от Китайския CDC, CDC на САЩ, Института по вирусология Charité, Universitätsmedizin Берлин и университета в Хонконг. Резултатите показваха, че всички набори от праймери откриват SARS-CoV-2 при 500 вирусни РНК копия на реакция. Само RdRp-SARSr (РНК-зависима РНК полимераза) потвърдителен праймер-сонда набор има ниска чувствителност [16].

Известно е и е доказано лабораторно, че пробите с ниско вирусно натоварване често се диагностицират погрешно като фалшиво отрицателни [18, 19]. Напоследък, както беше споменато във въведението, проблемът с неточността, водеща до 1-2% фалшиво отрицателни резултати от RT-qPCR, става все по-критичен, тъй като броят на заразените хора се увеличава. Това не само компрометира навременната диагноза и ранното лечение, но също така допринася и за повишеното предаване на инфекцията, доколкото човекът с фалшиво отрицателни резултати, който се счита за отрицателен и незаразен, продължава да отделя вирусни частици в обществото [20]. Новата техника за дигитална капкова PCR (digital droplet PCR, ddPCR) може драстично да намали резултатите с фалшиво отрицателни RT-qPCRs, като по този начин ще допринесе за ограничаване на пандемията. ddPCR представлява метод за директно количествено определяне на вирусния товар. Важно предимство на ddPCR пред qRTPCR е, че не изисква стандартни калибрационни криви с положителна контрола и се характеризира с по-ниска чувствителност към PCR инхибитори в матрицата на пробата. Многобройни текущи изследвания, сравняващи точността на RT-qPCR и ddPCR разкриват, че ddPCR осигурява много по-добра чувствителност за проби с ниско вирусно натоварване (малък брой геномни копия) с относително по-ниски стойности в сравнение с тези на RT-qPCR [18-22]. Например, Lui и сътр. сравняват чувствителността на RT-qPCR и ddPCR с помощта на 8 комплекта праймер-сонда и установяват, че нито един от наборите, използвани в RT-qPCR, не може значително да разграничи истинските негативни и положителни проби с ниско вирусно натоварване (разреждане 10-4), докато ddPCR постига значително по-добра детекция при същите условия [20].

Други молекулярно-биологични методи, базирани на идентификацията на вирусна нуклеинова киселина, включват RT-LAMP (loop mediated isothermal amplification), базирана на CRISPR LAMP (DETECTR), mNGS (RNA метагеномно секвениране от следващо поколение) и др. Компанията Abbot разработи ID NOW POC платформата за COVID-19, която се основава на примково медирана изотермална амплификация и има най-краткото време за изпълнение сред разрешените от FDA диагностични продукти [23]. Комбинация между LAMP метода и базираната на CRISPR

Virology, Universitätsmedizin Berlin, and Hong Kong University. The results showed that all sets detected SARS-CoV-2 at 500 viral RNA copies per reaction. Only the RdRp-SARSr (RNA-dependent RNA polymerase) confirmatory primer-probe set had low sensitivity [16].

It is well known and laboratory proven that samples with low viral load are often misdiagnosed as false-negative [18, 19]. Recently, as mentioned in the introduction, the problem with the inaccuracy leading to 1-2% of false-negative results of qRTPCR becomes increasingly critical as the number of infected people increases. It not only compromises the timely diagnosis and early treatment but also contributes to increased transmission as far as the person with false-negative results which is considered negative and not contagious continues to shed virus particles in the society [20]. The new droplet digital PCR (ddPCR) technique can drastically reduce false-negative qRTPCR results, thus contributing to limiting the pandemic. ddPCR represents endpoint amplification for direct quantification of viral load. An important advantage of ddPCR over qRTPCR is that it does not require standard calibration curves with the positive control and is characterized by a lower susceptibility to PCR inhibitors in the sample matrix. Numerous current studies comparing the accuracy of qRTPCR and ddPCR revealed that ddPCR provides much better sensitivity for low viral load samples with relatively lower background readouts qRTPCR [18-22]. For example, Lui et al. compared the sensitivity of qRTPCR and ddPCR using 8 primer-probe sets and found out that none of the sets used in qRTPCR could significantly distinguish true negatives and positives with low viral load (10-4 dilution), whereas ddPCR achieved a significantly better performance under the same conditions [20].

Other molecular biology methods based on the viral nucleic acid identification includes RT-LAMP (loop-mediated isothermal amplification), CRISPR-based LAMP (DETECTR), mNGS (RNA metagenomic next generation sequencing), etc. The company Abbot has developed an ID NOW POC platform for COVID-19 which is based on loop-mediated isothermal amplification and has the shortest turnaround time among FDA-authorized diagnostic products [23]. A combination of LAMP and CRISPR-based diagnostics suggested that Cas12 bystander nuclease activation by amplicon targeting ribonucleoprotein

диагностика предполага, че Cas12 активиране на нуклеазата чрез рибонуклеопротеинови комплекси насочени към ампликона, получен след LAMP реакцията, може да бъде по-бърза и евтина алтернатива на RT-qPCR, без да се намалява чувствителността и специфичността [24]. И накрая, но не на последно място, метагеномният анализ също намери своето място сред методите за молекулярна диагностика, които бяха използвани в проучвания за определяне на честотата на алтернативни вирусни инфекции при изследвани отрицателни за SARS-CoV-2 qRTPCR пациенти и вирусни коинфекции при SARS-CoV-RT-qPCR положителни индивиди [25]. През юни 2020 г. FDA предостави разрешение за спешна употреба (EUA) на Illumina NGS (next generation sequencing) тест за COVID-19, което е първото подобно разрешение за диагностика чрез NGS. Тестът COVIDSeq може да се приложи за скрининг с голям обем проби, като се очаква нарастващо търсене от септември 2020 година [26].

Серологична диагностика на инфекция-та със SARS-CoV-2

Серологичните имуноанализи за инфекция с COVID-19 представляват тестове, базирани на антитела, които са предназначени да измерват имунния отговор на гостоприемника срещу инфектиращите патогени. В настоящата пандемична ситуация те могат да осигурят бърз резултат, полезен за адаптиране на карантинните мерки (епидемиологични цели), оценка на ваксиналния отговор и оценка на реконвалесцентната донорна плазма [27, 28]. Понякога резултатите от qPCR на пробите от горните дихателни пътища остават отрицателни, въпреки рентгенологичните данни за пневмония. Причините са различни и могат да включват ниско вирусно натоварване, технически проблеми с тестовете, ниско качество на пробата и др. В такива случаи серологичните тестове могат да спомогнат за преодоляване на възможните несъответствия между силно предполагаемата клинична и рентгенологична находка и отрицателния RT-qPCR тест, и поставянето на правилната диагноза [13, 29, 30]. Те се развиват много бързо през последните месеци и в момента от FDA са одобрени около 55 серологични теста [31]. Тези тестове обаче не се препоръчват за идентифициране на активни случаи на SARS-CoV-2 [6] поради ограничената им чувствителност в ранната фаза на инфекцията, докато имунният отговор на гостоприемника все още се изгражда [30]. Полезността им за скрининг на асимптоматични пациенти също остава неясна [28].

Публикувани данни разкриват, че производството на антитела от класовете IgM и IgG в случай на COVID-19 започва една седмица след началото на инфекцията, при което откриваемите титри се достигат обикновено през втората седмица [27, 30-33]. При някои пациенти е наблюдаван забавен антицялов

complexes following the LAMP reaction could be a faster and cheaper alternative to qRT-PCR without sacrificing sensitivity/specificity [24]. Last, but not least the metagenomic analysis has also found its place among the molecular diagnostic tools which was used in a study to determine the frequencies of alternative viral infections in SARS-CoV-2 qRTPCR negative patients under investigation and viral co-infections in SARS-CoV-qRTPCR positive individuals [25]. In June 2020, FDA granted Emergency Use Authorization (EUA) approved for Illumina's next-generation sequencing (NGS) test for COVID-19, which is the first such authorization for an NGS diagnostic. The COVIDSeq test can be applied for high-volume screening, anticipating the increasing demand since September 2020 [26].

Serological Testing for Diagnosis of SARS-CoV-2 Infection

Serological immunoassays for COVID-19 infection represent antibody-based tests intended to measure the protective host immune response against the invading pathogens. In the current pandemic situation, they may provide a quick result useful for adaptation of quarantine measures (epidemiological purposes), assessment of vaccination responses, and evaluation of convalescent donor plasma [27, 28]. Sometimes qPCR results from upper respiratory tract samples remain negative despite radiological findings for pneumonia. The reasons are different and could include low viral load, technical problems with the tests, low quality of the sample, etc. In such cases, serological assays may help to solve possible discrepancies between a highly suggestive clinical and radiological presentation and negative RT-PCR and make the right diagnosis [13, 29, 30]. They are being very rapidly developed during the last months and currently, around 55 serological assays are approved by the FDA [31]. However, they are not recommended for the identification of active cases of SARS-CoV-2 [6] because of limited sensitivity in the early phase of the infection while the immune response of the host is still building [30]. Their usefulness for screening asymptomatic patients remains also unclear [28].

Published data revealed that production of IgM and IgG in the case of COVID-19 starts one week after the beginning of the infection whereby detectable levels are usually reached in the second week [27, 30-33]. Delayed antibody response against SARS-CoV-2 has been observed in some patients as proven previously also for

отговор срещу SARS-CoV-2, както бе доказано по-рано и за MERS-CoV [34]. Повечето текущи серологични тестове се характеризират с повече от 98% специфичност и чувствителност [31]. Едно от първите серологични изследвания, проведено в Китай от Xiang и сътр. [35] разкрива, че IgM и IgG ELISA са много специфични и могат да се прилагат за серодиагностика на COVID-19 заедно с други методи. Същото е доказано от Pieri и сътр. [29]. Авторите показват, че чувствителността и специфичността са съответно 87,5% и 100% за IgM и 70,8% респ. 96,6% за IgG при съмнения за инфекция. Особено важно за специфичността на серологичните анализи е липсата на кръстосана реактивност между антителата срещу вируси от едно и също или от различни семейства [30]. Човешките коронавируси показват прилики по отношение на антителата, като този проблем може да бъде разрешен чрез допълнително извършване на тест за неутрализация на вируса, както беше предложено от C3O през 2004 г. по време на епидемията от SARS-CoV [36]. Наличните одобрени тестове за антитела се основават на откриването на антитела, насочени срещу два основни протеина на повърхността на вируса SARS-CoV-2 – нуклеопротеиновия (N) протеин и spike (S) протеина. Използваните методологични платформи са предимно ELISA (ензимно свързани имуносорбентни анализи), ECLIA (електрохемилюминесцентен имуноанализ) и CLIA (хемилюминесцентен имуноанализ), разработени от различните компании за откриване на анти-SARS-CoV-2 антитела. Тези анализи са по-надеждни от бързите антигенни тестове (вж. Следващата точка) и предпочитани до известна степен пред RT-qPCR техниката, предвид на обстоятелството, че тя изисква високо специализирани лаборатории и специалисти [27]. Те обаче все още не са адекватно оценени и са по-малко чувствителни от RT-qPCR; ето защо NIH (National Institute of Health, USA) не препоръчва те да се използват за диагностика на COVID-19 [6]. Изследването на Pieri и сътр. [29] сравнява чувствителността и специфичността на четири налични в търговската мрежа и одобрени кита и демонстрира, че както CLIA, така и ELISA анализите имат оптимална специфичност и чувствителност. Тестът ECLIA, тестван в същото проучване, е най-подходящ за скрининг и се характеризира с отлична възпроизводимост и ниска цена на единична проба. Авторите също така установяват, че IgA антителата, които се откриват по-рано от IgM и IgG, са по-добър вариант за ранна диагностика. IgG антителата могат да бъдат използвани за потвърждение, доколкото те продължават да персистират по-дълго от IgM и са налични в по-високи титри [29]. Няколко други проучвания потвърждават, че всички варианти на серологични изследвания биха работили добре за епидемиологични цели (проучвания за сероразпространение), но не и за диагностика поради по-ниската чувствителност в сравнение с

MERS-CoV [34]. Most current serological tests are characterized by more than 98% specificity and sensitivity [31]. One of the first studies on serology conducted in China by Xiang et al. [35] revealed that IgM and IgG ELISA are highly specific and could be applied for serodiagnosis of COVID-19 along with other methods. The same was proven by Pieri et al. [29]. The authors showed that sensitivity and specificity were respectively 87.5% and 100% for IgM and 70.8% & 96.6% for IgG in suspected cases. Especially important for the specificity of the serological assays is the lack of cross-reactivity between antibodies against viruses from the same or different families [30]. Human coronaviruses show similarities concerning the antibodies which problem can be solved by adding a virus neutralization test as suggested by WHO in 2004 during the SARS-CoV epidemic [36]. The available approved antibody tests are based on the detection of antibodies directed against two main proteins on the surface of the SARS-CoV-2 virus – the nucleoprotein (N) protein and the spike (S) protein. The methodological platforms used are mostly enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), ECLIA (electrochemiluminescent immunoassay), and CLIA (chemiluminescent immunoassay) developed by the different companies for the anti-SARS-CoV-2 antibody detection. These assays are more robust than the rapid antigen tests (see next point) but as the qPCR technique require highly specialized laboratories and specialists [27]. They are still not adequately evaluated and less sensitive than the qPCR; that's why NIH recommends against their use for diagnosis of COVID-19 [6]. The study of Pieri et al. [29] compared the sensitivity and specificity of four commercially available and approved assays and demonstrated that both CLIA and ELISA assays have optimal specificity and sensitivity. The ECLIA assay tested in the same study was best for screening being characterized by excellent performance and low cost per single sample. The authors found as well that IgA antibodies which are detected earlier than IgM and IgG are a better option for early diagnosis. IgG antibodies could be used for confirmation as far as they last longer than IgM and are presented at a higher level [29]. Several other studies confirmed that all variants would work well for epidemiological purposes (seroprevalence studies) but not for diagnostics due to the lower sensitivity compared to molecular tests [27, 28, 30, 32]. As for now, according to the NIH guidelines, serological tests should not be used to make decisions about grouping of persons in schools, dormitories, correctional facilities) or to determine whether employees should return to the workplace.

reviews

NEW DIAGNOSTIC APPROACHES AND THEIR IMPACT ON THE PREVENTION AND CONTROL OF SARS-COV-2 INFECTION

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

молекулярните тестове [27, 28, 30, 32]. Понастоящем, съгласно насоките на NIH, серологичните тестове не трябва да се използват за вземане на решения относно мерките за лица в училища, общежития, поправителни заведения) или за определяне дали служителите трябва да се върнат на работното място.

Антигенен тест за диагностика на инфекция със SARS-CoV-2

Панелът относно насоките за лечение на COVID-19 на NIH препоръчва антигенният тест да се използва заедно с молекулярни анализи за диагностициране на остра инфекция със SARS-CoV-2 [6]. Тези тестове са валидирани и се считат за бързи и евтини, даващи резултат за по-малко от 30 минути. Към 26 ноември 2020 г. четиринадесет теста са изброени във Версия 19 на Списъка на диагностичните тестови кита и оборудване за SARS-CoV-2, допустими за употреба съгласно Решението на Съвета за допълнителна подкрепа за отговорите на държавите към COVID-19 (GF/B42/EDP11) [37]. Положителните резултати обикновено са много точни, но отрицателните резултати може да се наложи да бъдат потвърдени с молекулярен тест [31]. Мишените за откриване са вирусни протеини като обвивка, нуклеокапсид, рецептор-свързващият домейн на Спайк протеина и др. [38, 39]. Вирусните антигени от пробата се свързват директно със специфични антитела, имобилизирани върху различни повърхности на кита, и откриването на положителна реакция е оптически или с помощта на флуоресценция, хемилуминесценция, електрохимични, магнитни или плазмени резонансни техники [1]. Най-често срещаните методологични платформи са имуноанализи със страничен поток (LFI) като флуоресценция или имунохроматографски анализи със злато [40, 41] и CLIA [42]. Разработват се също имунохистохимични и *in situ* хибридизационни анализи за откриване на антигени в тъкани от пациенти, засегнати от SARS-CoV-2 [43], тъй като те са от решаващо значение за диагностични цели в клинична обстановка и за по-доброто определяне на началото на инфекцията.

Съгласно последните препоръки на CDC, антигенните тестове могат да се прилагат за диагностика на SARS-CoV-2 в извънлабораторни условия. Те се изпълняват бързо, което е от решаващо значение за идентифицирането на SARS-CoV-2 инфекция и бързото прилагане на стратегии за нейното предотвратяване и контрол. Тези тестове могат да имат прогнозна стойност, особено в ситуации, при които капацитетът за тестване на RT-qPCR е ограничен или резултатите от тестването се забавят (напр. >48 часа). Известните досега антигенни тестове имат по-ниска чувствителност, но сходна специфичност за откриване на SARS-CoV-2 антигени в сравнение с тестовете за RT-qPCR. Тъй като чувствителността на антигенните тестове обикновено е

Antigen Testing for Diagnosis of SARS-CoV-2 Infection

The COVID-19 Treatment Guidelines Panel (the Panel) of NIH recommends that an antigen test can be also used along with molecular assays to diagnose acute SARS-CoV-2 infection [6]. These tests are well-validated and are considered for rapid inexpensive diagnosis which gives results for less than 30 minutes. As of November 26, 2020, fourteen tests are listed in Version 19 of the List of SARS-CoV-2 Diagnostic test kits and equipments eligible for procurement according to Board Decision on Additional Support for Country Responses to COVID-19 (GF/B42/EDP 11) [37]. Positive results are usually highly accurate but negative results may need to be confirmed with a molecular test [31]. Detection targets are viral proteins such as envelope, nucleocapsid, the receptor-binding domain of the Spike protein, etc. [38, 39]. The viral antigens from the sample bind directly to specific antibodies immobilized on layers within the test and the detection of a positive reaction occur optically or using fluorescence, chemiluminescence, electrochemical, magnetic, or plasmon resonance-based techniques [1]. The most common methodological platforms are lateral flow immunoassays (LFI) such as fluorescence or gold immunochromatographic assays [40, 41] and CLIA [42]. Immunohistochemical and *in situ* hybridization assays for antigen detection in tissues from patients affected by SARS-CoV-2 are also being developed [43] because they are crucial for diagnostic purposes in a clinical setting and to better understand the onset of the infection.

According to the last recommendations of CDC, antigen tests may be applied as point-of-care (POC) diagnostics for SARS-CoV-2. They have a rapid turnaround time, which is critical to the identification of SARS-CoV-2 infection and rapid implementation of infection prevention and control strategies. These tests could have predictive value, especially in settings where RT-PCR testing capacity is limited or testing results are delayed (e.g., >48 hours). In general, these POC antigen tests have a lower sensitivity, but similar specificity for detecting SARS-CoV-2 antigens compared to reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) tests. As the sensitivity of antigen tests is generally lower than RT-PCR, FDA EUA recommends that negative POC antigen tests be considered presumptive.

по-ниска от RT-qPCR, FDA EUA препоръчва отрицателните антигенни тестове да се считат за предполагаеми. Клиничният персонал в старческите домове трябва да вземе предвид кога може да се наложи потвърждаващо RT-qPCR тестване преди вземане на клинични решения, настаняване на обитатели или изключване на членове от персонала от работа. При тълкуване на резултатите от антигенните тестове трябва да се имат предвид както характеристиките на теста, така и вероятността от възникване на инфекция, определена след епидемиологично проучване.

Взети заедно, тестовете за бързо откриване на антигени са отличен вариант за бързо масово тестване на хора, но доколкото те имат по-ниска чувствителност от RT-qPCR, те могат да бъдат полезни главно по време на текуща епидемия, особено на летища и гранични контролно-пропускателни пунктове, когато няма достъп до чувствителни молекулярни методи. Изследвания, сравняващи чувствителността на тези методи, показват, че тя варира между 16 и 95%, най-вече в зависимост от вирусния товар (стойността на RT-qPCR Ct трябва да бъде повече от 25,1, за да се осигури визуализация с бързия антигенен тест) [1]. Отрицателните резултати обаче трябва да се тълкуват от медицинския специалист въз основа и на клинична преценка [6]. Ограничение при използването на този тест са ниските вирусни натоварвания (респ. концентрация на антигена), които варират при отделния човек и са в зависимост и от начина на вземане на пробите [34].

Образна диагностика

Полимеразната верижна реакция в реално време с обратна транскриптаза (RT-qPCR) и компютърната томография на гръдния кош (КТ) са основните рационални диагностични подходи на коронавирусната болест COVID-19. Все още обаче няма консенсус кой от тези методи превъзхожда другия. Следователно, Hossein et al. провеждат мета-анализ, предназначен да отговори на въпроса дали КТ може да се използва за диагностика на COVID-19, или не [44]. Едновременното наблюдение на „непрозрачно матово стъкло“ и други характеристики на вирусна пневмония при КТ изследване дава оптимални индикации за откриване на COVID-19. Препоръчва се обаче поставянето на окончателната диагноза да бъде въз основа на КТ сканиране и RT-qPCR, тъй като нито един от двата диагностични метода не е достатъчно надежден сам за себе си.

Важно е да се открие COVID-19 възможно най-бързо и точно с оглед провеждането на адекватен контрол на разпространението на болестта и лечението на пациентите. Въпреки че RT-qPCR е все още основен метод за диагностициране на COVID-19, чувствителността на RT-qPCR не е достатъчно висока в случаите на ниско вирусно натоварване, налично в тестовите проби и е възможна лабораторна грешка. Освен това предлагането на китове за

Clinical staff in nursing homes should consider when confirmatory RT-PCR testing might be needed prior to making clinical decisions, cohorting residents, or excluding HCP from work. When interpreting the results of antigen tests, test characteristics and the probability of infection should be considered.

Taken together, rapid antigen detection based tests are an excellent option for rapid mass-testing of people but as far as they have lower sensitivity than qPCR, they may be useful mainly during an on-going outbreak, especially at airports and border checkpoints when there is no access to sensitive molecular assays. Studies comparing the sensitivity of these assays demonstrated that it varied between 16 and 95% mostly depending on the viral load (qPCR Ct value should be more than 25.1 to ensure visualization with a rapid antigen test) [1]. The negative results should be interpreted by a medical professional based on clinical judgment [6]. Limitations in the use of these tests are the low viral load varying from person to person and the sampling variability [34].

Diagnostic imaging

Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) and chest computed tomography (CT) scan are considered to be the main diagnostic modalities of coronavirus disease 2019 (COVID-19). However, there is still no consensus on which of these methods is superior to the other. Therefore, Hossein et al. performed a meta-analysis to answer the question of whether a CT scan could be used for the diagnosis of COVID-19 or not [44]. The data collected from simultaneous observation of ground glass opacity and other features of viral pneumonia in CT scan proved that this method has optimum performance in the detection of COVID-19. However, it was suggested that the final diagnosis is based on both CT scan and RT-PCR, as none of the two diagnostic modalities are reliable alone.

It is important to detect COVID-19 as quickly and accurately as possible for controlling the spread of the disease and treating patients. Even though the reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) is still the ground truth of COVID-19 diagnosis, the sensitivity of RT-PCR is not high enough for low viral load present in test specimens or laboratory error. In addition, the supply of kits of RT-PCR varies from place to place and some developing countries are in short

reviews

NEW DIAGNOSTIC APPROACHES AND THEIR IMPACT ON THE PREVENTION AND CONTROL OF SARS-COV-2 INFECTION

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

RT-qPCR варира за различните географски райони, а някои развиващи се страни дори не разполагат с такива. В резултат на това някои страни използват образна диагностика на гръдния кош, като КТ на гръдния кош или рентгенова снимка на гръдния кош (CXR) като инструменти за изследване на първа линия и управлението на пациенти [4, 5]. Образните изследвания, особено КТ, може да покаже ранни лезии в белия дроб и ако бъде диагностициран от опитни рентгенолози, може да се постигне висока чувствителност. В допълнение, образните технологии на гръден кош, особено CXR, са широко достъпни и икономични. Понастоящем диагностиката чрез КТ на гръдния кош зависи от визуалната находка, интерпретирана от рентгенолозите, която има някои проблеми. Първо, КТ на гръден кош съдържа стотици срезове, което отнема много време за диагностициране. На второ място, COVID-19, като ново белодробно заболяване, има подобни прояви с различни видове пневмонии [6]. Рентгенолозите трябва да натрупат много КТ диагностичен опит, за да постигнат висока диагностична ефективност, особено при диференциране на подобни заболявания. COVID-19 все още може да бъде заплаха за дълго време, тъй като ситуацията в някои страни не е оптимистична. Ако COVID-19 и грипът избухнат заедно, което е възможно, натрупването с КТ диагностика вероятно ще бъде далеч над броя на квалифицираните рентгенолози [45].

Съгласно изследванията на Jin и съавт. [45], броят на инфекциозните полета се променя с възрастта, а също и диагностичната ефективност. Може да се направи извода, че младите хора могат да имат по-малка инфекциозна зона, което води до по-ниска диагностична ефективност. Резултатите за подгрупите, разделени по пол, показват малка разлика в инфекциозните полета, но средните стойности за мъжете са по-високи от тези за жените. Това е в съответствие със заключенията на Xiong и сътр. [46, 47], че жените имат по-висок анти-вирусен имунитет, отколкото мъжете, така че дори и за система, базирана на изкуствен интелект за компютърен анализ на КТ резултати, е по-трудно да открие диагностични белези в КТ при жените. Резултатите от различни етапи показват, че находките при такава система имат малка корелация с етапите на КТ сканирането. Сливането на отделни етапи може леко да подобри находките.

Рентгенография на гръден кош (CXR)

CXR се разглежда също като възможен начин за диагностициране на COVID-19. Според фиг. 2d и 6, CXR има определена диагностична стойност, но тя не е по-висока от тази на КТ. Jin и сътр. са първите, които проучват в сравнителен аспект КТ и CXR изображенията в сдвоена кохорта, което прави резултатите от сравнението по-убедителни. Важно е, че находката на CXR може да бъде подценена, тъй като локализираното сканиране е с лошо качество

supply of it. As a result, some countries used chest imaging, such as chest CT or chest x-ray (CXR) as a first-line investigation and patient management tools [4, 5]. Chest imaging, especially CT, can show early lesions in the lung and, if diagnosed by experienced radiologists, can achieve high sensitivity. In addition, chest imaging technologies, especially CXR, are widely available and economic. At present, the diagnosis of chest CT depends on the visual diagnosis of radiologists, which creates some problems. Firstly, the chest CT contains hundreds of slices, which takes a long time to diagnose. Secondly, COVID-19, as a new lung disease, has similar manifestations with various types of pneumonia [6]. Radiologists need to accumulate a lot of CT diagnostic experience to achieve high diagnostic performance, especially in differentiating similar diseases. COVID-19 can still be a threat for a long time since the situations in some countries are not optimistic. If COVID-19 and influenza were to break out together, which is possible, the CT diagnosis workload would likely be far beyond the number of qualified radiologists [45].

According to the findings of Jin et al. [45], the number of infectious slices was changed with age, and the diagnostic performance was also changed with age. Thus, the authors concluded that young people might have a less infectious area, resulting in lower diagnostic performance. The results on the subsets divided by gender showed little difference in infectious slices, but the average area under the curve for men was higher than that for women. This was consistent with the conclusions of Xiong et al. that women have higher antiviral immunity than men so that it was harder even for a computer-based artificial intelligence system to find out diagnostic clues in CTs of women [46, 47]. The results of different stages showed that the performance of such a system had little correlation with the stages of CT scans. The fusion of stages can slightly improve the performances.

Chest X-ray (CXR)

CXR is also considered as a possible way to diagnose COVID-19. According to Figs. 2d and 6, CXR had diagnostic value though it was generally not better than CT. Jin et al. (2020) are the first who compare CT and CXR performances in a paired cohort, which makes the comparison result more convincing. Importantly, the performance of CXR might be underestimated because localizer scans are of poor quality compared to normal CXR. Nevertheless, localizer CXR might

в сравнение с нормалното CXR. Независимо от това, локализираната CXR може да даде най-добрите възможни данни за сравняване на КТ срещу CXR, тъй като понастоящем няма набор от данни със съдвоени КТ и нормален CXR, заснети в много малък интервал [45].

Рентгенографията на гръдния кош е полезна като рентгенологично изследване на първа линия, за проследяване и за бърза оценка на някои белодробни/гръдни спешни състояния. Тя е бърза и лесна за изпълнение и в случай на необходимост може да се извърши с помощта на преносими системи. Гръдният филм е нечувствителен в началото на заболяването. Сравнителен анализ на рентгенография на гръдния кош и КТ изображение разкрива, че непрозрачността на „матово стъкло“ в десния долен лоб на КТ не се вижда на рентгенография на гръдния кош, която е направена 1 час преди КТ изследване [10]. Снимките на гръдния кош могат да бъдат полезни при проследяване на заболяването. При постъпване в болницата рентгеновата находка на гръдния кош е била нормална. Четири дни по-късно пациентът е на механична вентилация и има двустранни уплътнения на снимката на гръдния кош.

Компютърна томография на гръден кош (КТ)

Ранното откриване на COVID-19 на базата на КТ на гръден кош дава възможност за навременно лечение на пациентите и помага за контролиране на разпространението на болестта [45]. КТ без контраст има висока чувствителност при идентифициране и количествено определяне на белодробното паренхимно засягане. Тя трябва да се извършва при всеки пациент със засегнат бял дроб и причинена дихателна недостатъчност. Използването на контраст се препоръчва само при специфични клинични случаи, като например белодробна емболия. Докладът за КТ на гръден кош трябва да се анализира заедно с отговорния специалист по интензивно лечение. Ролята на КТ се изразява в: 1) предвиждане на влошаващо се състояние; 2) предвиждане на подобрение и 3) решаване на проблеми. Триажът на пациентите е 1) няма COVID-19; 2) възможен или най-вероятен COVID-19; 3) тежест на заболяването.

Някои публикувани клинични насоки препоръчват КТ на гръдния кош за пациенти със съмнение за COVID-19. Решението за използване на КТ за триаж зависи от следните съображения: 1) априори шанс за инфекция с COVID-19; 2) наличност на компютърен томограф, например може ли един компютърен томограф да се използва за Corona-КТ или има компютърен томограф близо до спешното отделение; 3) клинично подозрение при пациенти с отрицателна RT-PCR.

Находки при КТ

Матово стъкло. „Непрозрачно матово стъкло“ (GGO) е най-честата находка при

be the best possible data to compare CT against CXR, since there is currently no dataset with paired CT and normal CXR captured in a very small interval [45].

Chest X-ray is useful as a first-line radiological examination, for follow-up and a rapid assessment of certain pulmonary/thoracic emergencies. Quick and easy to perform; in case of necessity, it can be performed using portable systems. The chest film is insensitive early in the disease. A comparative analysis of a chest radiograph and CT image reveal that the ground glass opacities in the right lower lobe on the CT are not visible on the chest radiograph, which was taken 1 hour prior to the CT-study [10]. Chest-films can be useful in the follow-up of the disease. On admission to the hospital, the chest film was normal. Four days later the patient is on mechanical ventilation and there are bilateral consolidations on the chest film.

Chest computed tomography (CT)

Early detection of COVID-19 based on chest CT enables timely treatment of patients and helps control the spread of the disease [45]. The CT without contrast has a high sensitivity in identifying and quantifying lung parenchymal involvement. It should be performed in every patient affected by lung involvement causing respiratory failure. The use of contrast is recommended only in case of specific clinical questions such as, for example, pulmonary embolism. Chest CT report should be evaluated together with the intensive care specialist in charge. The role of CT is expressed in 1) Prediction of worsening; 2) Prediction of improvement and 3) Problem solver. The triage of patients is 1) no COVID-19; 2) possible or most likely COVID-19; 3) severity of the disease.

Some published clinical guidelines recommend chest CT for patients with suspected COVID-19. The decision to use CT for triage depends on the following considerations: 1) a priori chance of COVID-19 infection; 2) CT availability, for instance, can one CT be used as Corona-CT or is there a CT near the emergency room; 3) clinical suspicion in patients with negative RT-PCR.

Findings in CT

Ground glass. Ground glass opacities (GGO) pattern is the most common finding in COVID-19

reviews

NEW DIAGNOSTIC APPROACHES AND THEIR IMPACT ON THE PREVENTION AND CONTROL OF SARS-COV-2 INFECTION

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

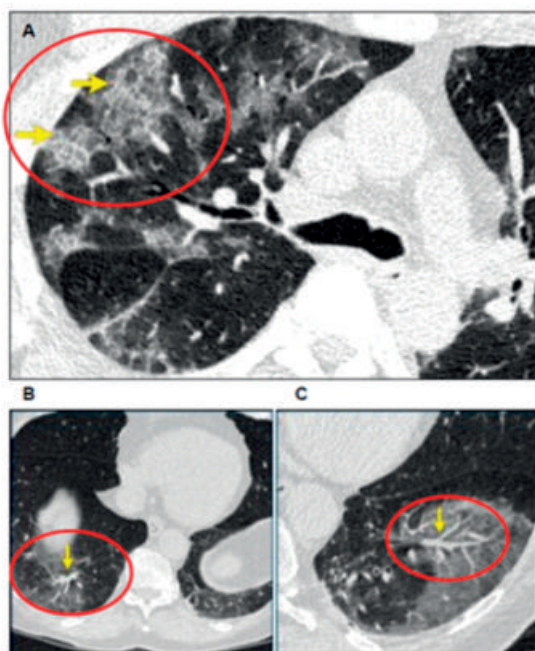
инфекции на COVID-19. Те обикновено са мултифокални, двустранни и периферни, но в ранната фаза на заболяването GGO може да се прояви като унифокална лезия, най-често локализирана в долния лоб на десния бял дроб [48] (Фигура 1).

Луда настилка (crazy paving). Понякога има удебелени интерлобуларни и интралобуларни линии в комбинация с участък на непрозрачно матово стъкло. Това се нарича „луда настилка“. Смята се, че този модел се вижда в малко по-късен етап.

Съдова дилатация. Типична находка в областта на „матовото стъкло“ е разширяването на съдовете (Фигура 1С, стрелка).

Тракционни бронхиектазии. Друга често срещана находка в зоните на „матовото стъкло“ са тракционните бронхиектазии (стрелки).

Субплеврални ленти и архитектурно изкривяване. В някои случаи има архитектурно изкривяване с образуването на субплеврални ленти.



Фиг. 1. Обичайни находки при КТ на гръдния кош.

Резултат за участие на КТ е тежестта на белодробното засягане на КТ, корелираща с тежестта на заболяването. Тежестта на КТ може да бъде оценена чрез визуална оценка. Това е най-лесният начин да се оцени тежестта. КТ изображенията показват 25% участие чрез визуална оценка.

Оценката за тежест е друг метод за анализ чрез изчисляване на процентите на всеки от петте дяла, които участват:

1. <5% участие;
2. 5% - 25% участие;
3. 26% - 49% участие;
4. 50% - 75% участие;
5. >75% участие.

Общият КТ резултат е сумата от отделните лобарни резултати и може да варира от 0 (без участие) до 25 (максимално участие), когато всичките пет лоба показват повече от 75% участие.

infections. They are usually multifocal, bilateral, and peripheral, but in the early phase of the disease, the GGO may present as a unifocal lesion, most commonly located in the inferior lobe of the right lung [48] (Figure 1).

Crazy paving. Sometimes there are thickened interlobular and intralobular lines in combination with a ground opacities glass pattern. This is called crazy paving. It is believed that this pattern is seen in a somewhat later stage.

Vascular dilatation. A typical finding in the area of ground glass is the widening of the vessels (Figure 1C, arrow).

Traction Bronchiectasis. Another common finding in the areas of ground glass is traction bronchiectasis (arrows).

Subpleural bands and Architectural distortion. In some cases, there is architectural distortion with the formation of subpleural bands.

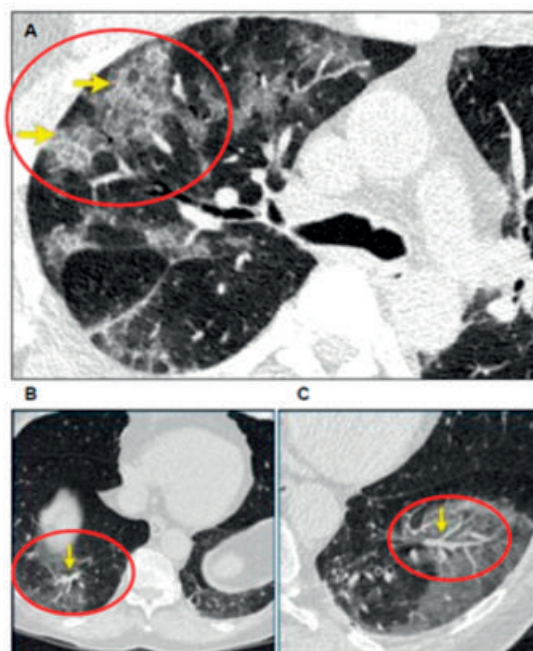


Fig. 1. Common findings in chest CT.

CT involvement score is the severity of the lung involvement on the CT correlates with the severity of the disease. The severity of CT can be estimated by visual assessment. This is the easiest way to score the severity. The CT images show a 25% involvement by visual assessment.

Severity score is another method is by scoring the percentages of each of the five lobes that are involved:

1. <5% involvement;
2. 5%-25% involvement;
3. 26%-49% involvement;
4. 50%-75% involvement;
5. >75% involvement.

The total CT score is the sum of the individual lobar scores and can range from 0 (no involvement) to 25 (maximum involvement) when all the five lobes show more than 75% involvement.

Първоначалните КТ находки в случаите на COVID-19 включват двустранно, многолобарно замъгляване тип „матово стъкло“ (GGO) с периферно или задно разпределение, главно в долните лобове и по-рядко в средния лоб [49]. Уплътняване, наложено върху GGO като първоначално изображение, се открива в по-малък брой случаи, главно при възрастната популация от хора. Удебеляването на преградата, бронхиектазиите, удебеляването на плеврата и субплевралното засягане са едни от по-рядко срещаните находки, главно в по-късните стадии на заболяването.

Първоначални КТ профили при COVID-19	
Непрозрачно матово стъкло	88%
Двустранно участие	88%
Задно разпределение	80%
Мутилобарно участие	79%
Периферно разпределение	76%
Уплътняване	32%

Плеврален излив, перикарден излив, лимфаденопатия, кавитация, КТ хало и пневмоторакс са някои от необичайните, но възможни находки, наблюдавани при прогресиране на заболяването. Има много припокриване на КТ-профила на COVID-19 с други вирусни пневмонии.

Промени във времето. Болестта в напреднала фаза се свързва със значително повишена честота на: 1) GGO плюс ретикуларен профил (луда настилка); 2) вакуоларен знак; 3) фиброзни ивици; 4) въздушна бронхограма; 5) изкривяване на бронха; 6) субплеврална линия или субплеврална прозрачна линия и 7) плеврален излив.

КТ-доклад		
Продължителност на оплакванията в дни		
Матово стъкло/Уплътняване	Разпределение:	Периферно-централно-задни-долни дялове
	Демаркация:	Кръгло-остро-неостро Обърнат ореол / Хало
	Участие:	% от засегнатите бели дробове
Други находки	Фиброзни ленти Съдово удебеляване Плеврална течност Увеличени лимфни възли	

Ехокардиография
Ехокардиографията е показана в случай на съмнение за сърдечна недостатъчност като фактор, допринасящ за засягането на белите дробове и настъпила дихателна недостатъчност.

Допълнителни микробиологични тестове
Редица експертни мнения препоръчват допълнителни микробиологични тестове в зависимост от тежестта на случая. В случай на асимптоматична или лека инфекция (без клинични характеристики, предполагащи услож-

Initial CT-findings in COVID-19 cases include bilateral, multilobar ground glass opacification (GGO) with a peripheral or posterior distribution, mainly in the lower lobes and less frequently in the middle lobe [49]. Consolidation superimposed on GGO as the initial imaging presentation is found in a smaller number of cases, mainly in the elderly population. Septal thickening, bronchiectasis, pleural thickening, and subpleural involvement are some of the less common findings, mainly in the later stages of the disease.

Initial CT-patterns in COVID-19	
Ground-glass opacification	88%
Bilateral involvement	88%
Posterior distribution	80%
Multilobar involvement	79%
Peripheral distribution	76%
Consolidation	32%

Pleural effusion, pericardial effusion, lymphadenopathy, cavitation, CT halo sign, and pneumothorax are some of the uncommon but possible findings seen with disease progression. There is much overlap of the CT-pattern of COVID-19 with other viral types of pneumonia.

Changes over time. Advanced-phase disease is associated with a significantly increased frequency of 1) GGO plus a reticular pattern (crazy paving); 2) vacuolar sign; 3) fibrotic streaks; 4) air bronchogram; 5) bronchus distortion; 6) subpleural line or a subpleural transparent line and 7) pleural effusion.

CT-Report		
Duration of complaints in days		
Ground glass/Consolidation	Distribution:	Peripheral-central-posterior-lower lobes
	Demarcation:	Round-sharp-unsharp Reversed halo/ Halo sign
	Involvement:	% of lung affected
Other findings	Fibrotic bands Vascular thickening Pleural fluid Enlarged lymph nodes	

Echocardiography
Echocardiography is indicated in case of suspected heart failure as a contributing factor to lung involvement/respiratory failure.

Additional microbiologic tests
The experts' opinions recommend additional microbiological tests depending on the case severity. In case of asymptomatic or mild infection (no clinical features suggesting a complicated course) minimal additional microbiological

нено протичане) е необходима минимална допълнителна микробиологична диагностика, а именно – тестване за грипен вирус и/или откриване на дихателни патогени чрез прилагане на мултиплексен PCR върху единична проба от ринофарингеален тампон. За стабилен пациент с респираторни и/или системни симптоми се препоръчват други диагностични тестове, като серологично изследване за SARS-CoV-2, ако е възможно, тест за HIV, откриване на *Pneumocystis jirovecii* в респираторни течности, MRSA върху назален тампон, откриване на антиген на *Legionella pneumophila* и *Streptococcus pneumoniae*, оцветяване по Грам и култура на проби от долните дихателни пътища и/или храчки. В случай на треска ($>38^{\circ}\text{C}$) трябва да се анализират поне 2 кръвни култури, за да се оптимизира антимикробната терапия. За клинично нестабилни, но не критични пациенти, може да се извърши друга евентуална диагностика въз основа на специфичната клинична картина. Този подход се отнася и до критични пациенти [6, 10].

Въздействие на диагностичните подходи върху профилактиката и контрола на инфекцията със SARS-CoV-2.

Както бе описано във въведението, навременната диагностика е от решаващо значение не само за изхода от заболяването на заразените лица, но и за ефективния контрол на разпространението на SARS-CoV-2. CDC е разработил с приоритет система от тестове за SARS-CoV-2, за да се предотврати в по-голяма степен разпространението на инфекцията и да се осигури здравната система с достатъчен брой тестове. Според тази система, с висок приоритет за тестване трябва да бъдат хоспитализираните пациенти със симптоми, здравните специалисти и първите реагиращи със симптоми, както и жители със симптоми в заведения за дългосрочни грижи, вкл. затвори и приюти. Следващи по приоритет са хората със симптоми, подозрителни за инфекция с COVID-19, като треска, кашлица, задух, мускулна болка, загуба на вкус или мирис, повръщане или диария и/или възпалено гърло. Няколко проучвания доказват, че асимптоматичните индивиди могат да предават SARS-CoV-2 [50, 51] с неизвестна степен, което несъмнено допринася за увеличаване на разпространението. По този начин, тестовете трябва да се извършват и на лица без симптоми, ако са били в контакт с болни хора или са включени в наблюдение от органите на общественото здраве, контролно наблюдение или други скринингови проучвания. Правилният избор на тест е от решаващо значение. Въз основа на установената си чувствителност, наличните тестове могат да бъдат класифицирани както следва: RT-qPCR > Откриване на антиген (LFI, CLIA) $\approx$ Откриване на антитела (ELISA, CLIA, ECLIA).

Методът RT-qPCR има 100% специфичност, докато специфичността на другите два подхо-

diagnostics are needed, namely - testing for influenza virus and/or detection of respiratory agents by applying multiplex PCR on a single rhinopharyngeal swab sample. For a stable patient with respiratory and/or systemic symptoms other diagnostic tests are recommended such as SARS-CoV-2 serology if available, HIV test, *Pneumocystis jirovecii* detection in respiratory fluids, MRSA on a nasal swab, urinary *Legionella pneumophila* and *Streptococcus pneumoniae* antigen detection, Gram stain and culture of lower respiratory tract samples and/or sputum. In case of fever ($>38^{\circ}\text{C}$) at least 2 blood cultures should be analysed in order to optimize the antimicrobial therapy. For clinically unstable but not critical patients other eventual diagnostics based on the specific clinical picture could be performed. This approach refers also to critical patients [6, 10].

Impact of the diagnostic approaches on the prevention and control of SARS-CoV-2 infection

As described in the introduction the on-time diagnostics is crucial not only for the disease outcome of infected persons but also to control the SARS-CoV-2 transmission. The CDC has developed a priority system for SARS-CoV-2 testing in order to prevent better the spreading of the infection and to ensure the health care system based on the availability of tests. According to this system, a high priority for testing should be given to hospitalized patients with symptoms, health professionals, and first responders with symptoms, as well as residents with symptoms in long-term care facilities, incl. prisons and shelters. Next in priority are persons with symptoms suspicious for COVID-19 infection, such as fever, cough, shortness of breath, muscle pain, loss of taste or smell, vomiting or diarrhea, and/or sore throat. Several studies proved that asymptomatic individuals could transmit SARS-CoV-2 [50, 51] to an unknown extent which undoubtedly contributes to the amount of transmission. Thus, testing should be performed also on persons without symptoms if they were in contact with ill people or are included in public health monitoring, sentinel surveillance, or other screening trials. The right choice of a test is crucial. Based on the sensitivity the available tests could be classified as follows: qPCR > Antigen detection (LFI, CLIA) $\approx$ Antibody detection (ELISA, CLIA, ECLIA).

The qPCR technique has 100% specificity, whereas the specificity of the other two approa-

да също е близо до 100%, но все още по-ниска от тази на qPCR.

Фалшиво отрицателни резултати могат да бъдат получени също и след молекулярната диагностика и антигенните тестове. Следователно, когато става въпрос за хора с анамнеза за експозиция и/или клинична картина, инфекцията със SARS-CoV-2 не може да бъде напълно изключена и трябва да се направи повторно тестване с RT-qPCR. Антигенният тест е по-подходящ за бързо тестване, ако няма достъп до молекулярна диагностика, при условие че отрицателните резултати трябва да бъдат потвърдени с други диагностични подходи при наличие на клинични симптоми. Серологичният тест може да се използва най-вече за скрининг на населението, но не и за вземане на решения относно: 1) Групиране на лица в училища, общежития, социални заведения и др.; 2) Вземане на решение дали хората трябва да се върнат на работното си място, или не.

Точната и навременна диагностика ще допринесе значително за ограничаване и на тази пандемия чрез идентифициране на групите от заразени индивиди и карантина на безсимптомни, но заразени лица, което от своя страна ще намали коефициента на предаване, като по този начин ще се намали смъртността и продължителността на болничния престой. Освен това ще бъде предотвратено претоварването на болниците и на здравните специалисти.

Заклучение и бъдещи аспекти

Към днешна дата развоят на пандемията от Covid-19 е в критичната си фаза, поставяйки важни и все по-неотложни за решаване пред обществото въпроси, продиктувани от движещата се нагоре крива на разпространение и смъртност, медицинските рискове, и натиска на икономическите фактори, проникващи всички обществени слоеве. Достигнатото разпространение до степен на пандемия остава без възможност за ефективно противодействие – липсват ефективни терапевтични средства, ваксини и дори основни технически средства, задължителни за такива случаи.

Важен фактор за ограничаване на разпространението на Covid-19 и вземането на адекватни управленски решения е бързата и прецизна диагностика.

Времето и техниката на вземане и подготовка на пробите, правилният избор на диагностичен тест, подкрепен от клиничните наблюдения и цялостният анализ на резултатите от добре обучени клиницисти, са основните стълбове на успешния диагностичен подход. Чувствителността на диагностичните тестове е тясно свързана с: 1) фазата на заболяването и вирусното натоварване и 2) вида на пробата и метода за получаването ѝ, които остават съществени, независимо от платформата за доказване на инфекцията. Всички стъпки трябва да бъдат изпълнени прецизно, за да се постигнат надеждни резултати. Тестът RT-qPCR

ches is also near to 100% but still lower than that of the qPCR.

False-negative results could be obtained after molecular diagnostics and antigen tests. Therefore, when it comes to people with exposure history and/or clinical presentation SARS-CoV-2 infection couldn't be completely excluded, and repeat qPCR testing should be done. Antigen tests are more suitable for rapid testing if there is no access to molecular diagnostics provided that negative results should be confirmed with other diagnostic approaches in the presence of clinical symptoms. A serological test could be used mostly for a screening of the population but not for making decisions about 1) Grouping of persons in schools, dormitories, social care facilities, etc.; 2) Determine whether persons should return to the workplace or not.

Right, and on-time diagnostics will contribute substantially to limit the pandemics by identifying clusters of infected individuals and quarantine asymptomatic but ill persons, which in turn will lower transmission coefficient thereby decreasing the mortality rate and the length of hospital stay. In addition, the overloading of the hospitals and the overwhelming of the healthcare professionals will also be prevented.

Conclusions and future aspects

To date, the development of the Covid-19 pandemic is in a critical phase, raising important and increasingly pressing issues for society, driven by the upward spread and mortality curve, medical risks, and the pressure of economic factors pervading all social strata. The achieved spread to the level of a pandemic remains without the possibility of effective counteraction – there is a lack of effective therapeutic agents, vaccines, and even basic technical means required for such cases.

An important factor in limiting the spread of Covid-19 and making adequate management decisions is the rapid and precise diagnosis.

Timing and technique of sample collection and preparation, the right choice of diagnostic test supported by clinical findings and complex analysis of the results by well-trained clinicians are the main pillars of the successful diagnostic approach. The sensitivity of the diagnostic tests is strongly related to 1) the illness phase and the viral load and 2) the type of sample and the collection method which remain essential regardless of the sample detection platform. All steps should be precisely performed in order to achieve reliable results. The qPCR test is considered for now the golden standard for SARS-CoV-2 detection. In parallel, antibody and antigen detection

reviews

NEW DIAGNOSTIC APPROACHES AND THEIR IMPACT ON THE PREVENTION AND CONTROL OF SARS-COV-2 INFECTION

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

засега се счита за златен стандарт за откриване на SARS-CoV-2. Успоредно с това, методите за откриване на антитела и антигени, които имат своите ограничения по отношение на по-ниската си чувствителност и специфичност в сравнение с RT-qPCR, могат да представляват (като се има предвид необходимостта от по-дълъг цикъл на развитие) икономически ефективен метод за масово скриниране на населението.

Свидетели сме на тяхното непрекъснато усъвършенстване и все по-широко приложение на летища, спортни и културни прояви и др. масови мероприятия с цел ограничаване разпространението на Covid-19 и частичното минимизиране на неблагоприятните социални и икономически ефекти.

И за в бъдеще, разработването на диагностичните инструменти трябва да бъде в съответствие с нуждите от персонализирана медицина и изискванията, свързани с пандемичния отговор. Изкуствени интелигентни системи за анализ на CT и CXT, ddPCR, NGS и метатеномни протоколи се разработват в подкрепа на диагностиката и за повишаване на специфичността и чувствителността на анализите.

methods which have their limitations regarding lower sensitivity and specificity as compared to qPCR may represent (considering the need for a longer development cycle) a cost-effective method for population-wide mass-screening.

We are witnesses of their continuous improvement and wider application at airports, sports, and cultural events, and other mass events in order to limit the spread of Covid-19 and to partially minimize adverse social and economic effects.

In the future, the development of the diagnostic tools should be in line with the needs for personalized medicine and requirements associated with the pandemic response. Artificial intelligence systems for analysing CT and CXT, ddPCR, NGS, and metagenomic protocols are being developed to support the diagnostics and to increase the specificity and sensitivity of the assays.

Книгопис: References:

1. Jayamohan, H., et al., SARS-CoV-2 pandemic: a review of molecular diagnostic tools including sample collection and commercial response with associated advantages and limitations. *Anal Bioanal Chem*, 2020.
2. Chams, N., et al., COVID-19: A Multidisciplinary Review. *Frontiers in Public Health*, 2020. 8(383).
3. Asselah, T., et al., COVID-19: discovery, diagnostics and drug development. *J Hepatol*, 2020.
4. World Health Organization. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. 2020 2020/11/21, 11:47am CEST [cited] 2020 11/22]; Available from: https://covid19.who.int/?gclid=CjwKCAjwlbr8BRA0EiwAnt4MTg6WFhPP0yFfLc1-eAs1VBmwL95Ig8vGjwu6w6lpsCduKOUTBepWSBoC0CgQAvD_BwE.
5. Raskin, S., Genetics of COVID-19. *Jornal de pediatria*, 2020: p. S0021-7557(20)30211-4.
6. NIH. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. 2020 October 9, 2020 [cited] 2020/10/20]; Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>.
7. Shuren, J. and T. Stenzel, Covid-19 Molecular Diagnostic Testing - Lessons Learned. *New England Journal of Medicine*, 2020.
8. Wyllie, A.L., et al., Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. *New England Journal of Medicine*, 2020. 383(13): p. 1283-1286.
9. Kinloch, N.N., et al., Suboptimal Biological Sampling as a Probable Cause of False-Negative COVID-19 Diagnostic Test Results. *The Journal of infectious diseases*, 2020. 222(6): p. 899-902.
10. Nicastri, E., et al., National Institute for the Infectious Diseases "L. Spallanzani", IRCCS. Recommendations for COVID-19 Clinical Management. *Infectious Disease Reports*, 2020. 12(1).
11. Wölfel, R., et al., Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 2020. 581(7809): p. 465-469.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from persons for coronavirus disease 2019 (COVID-19). 2020 [cited] 2020 06/05]; Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>.
13. ECDC. Laboratory support for COVID-19 in the EU/EEA. Testing for SARS-CoV-2 virus. 2020 [cited] 2020 10/21]; Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/novel-coronavirus/laboratory-support>.
14. WHO, Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19: Interim guidance, in WHO/2019-nCoV/lab_testing/2020.1, World Health Organization, Editor. 2020.
15. WHO, Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019-2020, in WHO/WHE/CPI/2019.20, World Health Organization, Editor. 2019: Geneva.
16. Vogels, C.B.F., et al., Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT-qPCR primer-probe sets. *Nature Microbiology*, 2020. 5(10): p. 1299-1305.
17. Barreto, H.G., et al., Diagnosing the novel SARS-CoV-2 by quantitative RT-PCR: variations and opportunities. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*, 2020: p. 1-10.
18. Falzone, L., et al., Sensitivity assessment of droplet digital PCR for SARS-CoV-2 detection. *International journal of molecular medicine*, 2020. 46(3): p. 957-964.
19. Suo, T., et al., ddPCR: a more accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens. *Emerging microbes & infections*, 2020. 9(1): p. 1259-1268.

20. Liu, X., et al., Analytical comparisons of SARS-CoV-2 detection by qRT-PCR and ddPCR with multiple primer/probe sets. *Emerging microbes & infections*, 2020. 9(1): p. 1175-1179.

21. Yu, F., et al., Quantitative Detection and Viral Load Analysis of SARS-CoV-2 in Infected Patients. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2020. 71(15): p. 793-798.

22. Alteri, C., et al., Detection and quantification of SARS-CoV-2 by droplet digital PCR in real-time PCR negative nasopharyngeal swabs from suspected COVID-19 patients. *PLOS ONE*, 2020. 15(9): p. e0236311.

23. Zhen, W., et al., Clinical Evaluation of Three Sample-to-Answer Platforms for Detection of SARS-CoV-2. *Journal of Clinical Microbiology*, 2020. 58(8): p. e00783-20.

24. Brandsma, E., et al., Rapid, sensitive and specific SARS coronavirus-2 detection: a multi-center comparison between standard qRT-PCR and CRISPR based DETECTR. *J Infect Dis*, 2020.

25. Babiker, A., et al., Metagenomic sequencing to detect respiratory viruses in persons under investigation for COVID-19. *J Clin Microbiol*, 2020.

26. First NGS-based COVID-19 diagnostic. *Nature Biotechnology*, 2020. 38(7): p. 777-777.

27. Brigger, D., et al., Accuracy of serological testing for SARS-CoV-2 antibodies: first results of a large mixed-method evaluation study. *Allergy*, 2020.

28. Nguyen, N.N., et al., Correlation of ELISA method with three other automated serological tests for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies. *PLOS ONE*, 2020. 15(10): p. e0240076.

29. Pieri, M., et al., SARS-CoV-2 infection serology validation of different methods: Usefulness of IgA in the early phase of infection. *Clin Chim Acta*, 2020. 511: p. 28-32.

30. Caruana, G., et al., Diagnostic strategies for SARS-CoV-2 infection and interpretation of microbiological results. *Clinical Microbiology and Infection*, 2020. 26(9): p. 1178-1182.

31. FDA. EUA Authorized Serology Test Performance. 2020 [cited] 2020 26/10]; Available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-disease-2019-covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/eua-authorized-serology-test-performance>.

32. Ibarrondo, F.J., et al., Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 2020. 383(11): p. 1085-1087.

33. Kong, W.-H., et al., Serologic Response to SARS-CoV-2 in COVID-19 Patients with Different Severity. *Virologica Sinica*, 2020.

34. Mathuria, J.P., R. Yadav, and Rajkumar, Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 - A review of current methods. *Journal of infection and public health*, 2020. 13(7): p. 901-905.

35. Xiang, F., et al., Antibody Detection and Dynamic Characteristics in Patients with COVID-19. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2020: p. ciaa461.

36. WHO - Department of Communicable Disease Surveillance and Response, WHO guidelines for the global surveillance of severe acute respiratory syndrome (SARS), in WHO/CDS/CSR/ARO/2004.1, W.H. Organization, Editor. 2020.

37. WHO. List of SARS-CoV-2 Diagnostic test kits and equipments eligible for procurement according to Board Decision on Additional Support for Country Responses to COVID-19 (GF/B42/EDP11). 2020 [cited] 2020 November 22]; Available from: https://www.theglobalfund.org/media/9629/covid19_diagnosticproducts_list_en.pdf
https://www.who.int/diagnostics_laboratory/eual/listing/en/.

38. Sheridan, C., Fast, portable tests come online to curb coronavirus pandemic. *Nature Biotechnology*, 2020. 38 p. 509-522.

39. Diao, B., et al., Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. *medRxiv*, 2020: p. 2020.03.07.20032524.

40. Grant, B.D., et al., SARS-CoV-2 Coronavirus Nucleocapsid Antigen-Detecting Half-Strip Lateral Flow Assay Toward the Development of Point of Care Tests Using Commercially Available Reagents. *Analytical Chemistry*, 2020. 92(16): p. 11305-11309.

41. Lin, Q., et al., Microfluidic Immunoassays for Sensitive and Simultaneous Detection of IgG/IgM/Antigen of SARS-CoV-2 within 15 min. *Analytical Chemistry*, 2020. 92(14): p. 9454-9458.

42. Hirotsu, Y., et al., Comparison of automated SARS-CoV-2 antigen test for COVID-19 infection with quantitative RT-PCR using 313 nasopharyngeal swabs, including from seven serially followed patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 2020. 99: p. 397-402.

43. Best Rocha, A., et al., Detection of SARS-CoV-2 in formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections using commercially available reagents. *Laboratory Investigation*, 2020. 100(11): p. 1485-1489.

44. Hossein, H., et al., Value of chest computed tomography scan in diagnosis of COVID-19; a systematic review and meta-analysis. *Clin Transl Imaging*, 2020: p. 1-13.

45. Jin, C., et al., Development and evaluation of an artificial intelligence system for COVID-19 diagnosis. *Nature Communications*, 2020. 11(1): p. 5088.

46. Xiong, Y., et al., Clinical and High-Resolution CT Features of the COVID-19 Infection: Comparison of the Initial and Follow-up Changes. *Investigative Radiology*, 2020. 55(6).

47. Xiong, Y., et al., Clinical and CT characteristics of healthcare workers with COVID-19: A single-centered, retrospective study. *Medicine*, 2020. 99(30): p. e21396-e21396.

48. Zhou, S., et al., CT Features of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia in 62 Patients in Wuhan, China. *AJR Am J Roentgenol*, 2020. 214(6): p. 1287-1294.

49. Salehi, S., et al., Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Systematic Review of Imaging Findings in 919 Patients. *American Journal of Roentgenology*, 2020. 215(1): p. 87-93.

50. Yu, P., et al., A Familial Cluster of Infection Associated With the 2019 Novel Coronavirus Indicating Possible Person-to-Person Transmission During the Incubation Period. *J Infect Dis*, 2020. 221(11): p. 1757-1761.

51. Rothe, C., et al., Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *New England Journal of Medicine*, 2020. 382(10): p. 970-971.

reviews

NEW DIAGNOSTIC APPROACHES
AND THEIR IMPACT ON THE
PREVENTION AND CONTROL OF
SARS-COV-2 INFECTION

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

Кореспонденция

Д-р Севда Найденска, дм
Клиника по Пропедевтика
на Вътрешните болести
УМБАЛ „Александровска“
МФ, МУ-София

Correspondence

Sevda Naydenska, MD, PhD
Department of Propaedeutic
of Internal medicine
UMHAT “Alexandrovskia”
MF, MU-Sofia
Bulgaria

e-mail:
sevda.naydenska@abv.bg

ТОРАКАЛЕН УЛТРАЗВУК В ЕРАТА НА COVID-19

Т. Михалова ¹, Й. Ямакова ², Р. Петков ¹

Медицински университет – София:

¹ Клиника за лечение на неспецифични белодробни болести и фтизиатрия,
УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ ЕАД

² КАИЛ, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД

Резюме

Ултразвуковото изследване на торакс е метод на образна диагностика, който заема все по-значимо място в диагностичния процес при пациентите с COVID-19. Подходящ за бърза ориентация при леглото на болния, без лъчево натоварване и демонстриращ много висока чувствителност още преди наличието на видими изменения на входящата рентгенография, торакалният ултразвук може да ориентира клинициста в последващото терапевтично поведение при конкретния пациент, като значително скъсява времетраенето на диагностичния процес. Настоящата обзорна статия представя предимствата и недостатъците на изградените до момента протоколи за торакално ултразвуково изследване при пациенти с COVID-19 и анализира тяхната приложимост в условията на българската действителност по време на пандемията.

Ключови думи: торакален ултразвук, COVID-19, пандемия

THORACIC ULTRASOUND IN THE COVID-19 ERA

T. Mihalova ¹, Y. Yamakova ², R. Petkov ¹

Medical University of Sofia:

¹ Clinic for Treatment of Non-specific Lung Diseases and Tuberculosis,
UMHAT "St. Ivan Rilski"

² Clinic for Anesthesiology and Intensive Care, UMHAT "Alexandrovska"

Abstract

The ultrasound examination of the thorax is a method of diagnostic imaging, which takes up an increasingly important place in the diagnostic process in patients with COVID-19. Suitable for quick orientation at the patient's bedside, without radiation exposure and demonstrating a very high sensitivity even before the presence of visible changes in the incoming chest radiography, thoracic ultrasound can guide the clinician in the subsequent therapeutic behavior of the patient, significantly shortening the duration of the diagnostic process. The current review article presents the advantages and disadvantages of the proposed so far protocols for chest ultrasound examination in patients with COVID-19 and analyzes their applicability in the conditions of the Bulgarian reality during the pandemic.

Keywords: thoracic ultrasound, COVID-19, pandemic

Въведение

Пандемията от новия коронавирус SARS CoV-2 изправи човечеството пред сериозно изпитание. Въпреки всички научни постижения до момента, тя все още не е достигнала своя край. Все още са налице множество диагностични затруднения и терапевтични неудачи. Златният стандарт в диагностиката на инфекцията в микробиологичен аспект е верифицирането на вируса чрез проба от секрет от горни или долни дихателни пътища и детектирането му чрез RT PCR. По отношение на обрзната диагностика за най-показателен е приет методът на КТ на торакс, като същият е приложим в условията на повечето триажни отделения на многопрофилните лечебни заведения и при наличие на патогномоничните паренхимни промени в белите дробове пациентът се разпределя за лечение в COVID-19 единица, дори преди получаване на резултата от пробата за RT PCR.

Своето място в етапите на диагностичния процес бързо намира и торакалното ултразвуково изследване. Демонстриращо висока информативност и подпомагащо клинициста в критични ситуации, същото би могло в бъдеще да се превърне в неизменен златен стандарт наравно с гореизброените два.

Торакален ултразвук при леглото на пациента с COVID-19

Ултразвуковото изследване на торакс в спешните и интензивни сектори е често важна част от клиничния, лабораторен и инструментален преглед на пациента, с огромна роля при диагностициране на патологии като пневмоторакс, остър респираторен дистрес синдром, белодробен оток, пневмония, интерстициални патологии, плеврални и перикардни изливи (1). Първите данни за ползата от торакалния ултразвук се съобщават от авторски колективи от Китай и Италия, впоследствие се разработват различни протоколи за сканиране в Италия, Германия, Австралия и др. (2,3,4,5).

Детектирането на вируса на SARS CoV-2 чрез RT PCR значително отстъпва по чувствителност от КТ - сканирането – 59% срещу 88% съответно (6), докато ултразвуковото изследване корелира чудесно с КТ - образа, много по-прецизно е в сравнение с рентгенографията на торакс и в същото време не подлага пациента на лъчево натоварване (2,3). Не е за пренебрегване и фактът, че при експериментални модели на ARDS, ултразвуковото изследване установява наличието на белодробен увреда преди развитието на хипоксемия (7).

Ехографски образи при COVID-19

Нормалният образ на белодробния паренхим предполага т. нар. образ, подобен на „крила на прилеп“ – налице е акустична сянка в зоните, в които ребрата спират разпространението на ултразвуковите вълни, като между тези акустични засенчвания се визуализира нормалният белодробен паренхим с проляващата линия на висцералната плевра. Висцералната плевра, за разлика от париетална-

Introduction

The pandemic with the novel coronavirus SARS CoV-2 has established serious trials for the humanity. Despite all the scientific advances so far, it has still not come to an end. Many diagnostic difficulties and therapeutic failures are remaining. The gold standard in the diagnosis of the infection in microbiological aspect is the verification of the virus by a sample of secretions from the upper or lower respiratory tract and its detection by RT PCR. Regarding the imaging diagnosis, the chest CT method is considered to be the most indicative and sensitive, as it is applicable in the conditions of the most triage wards in the multidisciplinary medical institutions and in the presence of pathognomonic parenchymal changes in the lungs the patient is directed for treatment in a COVID-19 unit, even before obtaining the RT PCR test result.

The thoracic ultrasound examination quickly finds its place in the stages of the diagnostic process. Demonstrating a high informativeness and assisting the clinician in critical situations, the same could become in the future a permanent gold standard equally to the above two – PCR and CT.

Thoracic ultrasound at the bedside of the patient with COVID-19

In emergency and intensive care units the ultrasound examination of the thorax is often an important part of the clinical, laboratory and instrumental examination of the patient, with a huge role in diagnosing of pathologies such as pneumothorax, acute respiratory distress syndrome (ARDS), pulmonary edema, pneumonia, interstitial pathologies, pleural and pericardial effusions (1). The first data on the benefits of thoracic ultrasound are reported by author teams from China and Italy, subsequently various scanning protocols are developed in Italy, Germany, Australia and other countries (2,3,4,5).

Detection of SARS CoV-2 virus by RT PCR is significantly less sensitive than CT scan - 59% vs. 88% respectively (6), while chest ultrasound correlates very well with the CT image, it is much more accurate than chest X-ray and does not expose the patient to radiation at the same time (2,3). The fact that in experimental models of ARDS ultrasound revealed the presence of lung damage even before the development of hypoxemia is also not to be overlooked (7).

Ultrasound images in COVID-19

The normal image of the lung parenchyma suggests the so-called picture similar to "bat wings" ("bat view") - there is an acoustic shadow in the areas where the ribs stop the propagation of the ultrasound waves, and between these acoustic shadows the lung with the shining line of the visceral pleura is visualized. The visceral pleura, unlike the parietal one, is clearly visible, as it is located on the border between two media

та, е много добре видима, тъй като се намира на границата между две среди с различна акустична плътност – плевралната кухина с капилярно количество течност в нея и аерираният в нормални условия белодробен паренхим (8,9). Подлежащата белодробна тъкан се представя ехографски чрез А-линии, които са хоризонтален реверберационен артефакт, успореден на плевралната линия и образуван от многократното отразяване на ултразвуковите вълни, и от малък брой В-линии, които подобно на „опашки на комети“ се спускат до края на екрана на ехографския апарат и представляват интерферирането на ултразвуковите вълни с интерстициалните структури. При намаляване на въздушното съдържание в белодробния паренхим и увеличаване на съдържанието на течност, клетки или матриксни компоненти в алвеолите или интерстициума, броят на В-линиите се увеличава (10, 11).

При нормални условия висцералната плевра е тънка и идеално гладка, приплъзва спрямо париеалната, а в белодробния паренхим се визуализират необилно количество А-линии с В-линии < 3 бр. в едно междуребрено пространство (8, 9). Различните патологични образи при белодробни и плеврални заболявания в условията на спешност са разисквани подробно в т. нар. BLUE-протокол (12).

Инфекцията с вируса на SARS CoV-2 води след себе си до реакция в интерстициума на белодробния паренхим, която може да бъде визуализирана във вид на В-линии при ултразвуковото изследване, често билатерални, но възможно и с „мозаично“ разпределение. Вирусът предилекционно уврежда микроциркулацията на различните органи, в т. ч. и на белите дробове, като основни усложнения са възпалението на ендотела с формиране на множество тромби в микросъдовете, съпътстваща лимфоцитарна интерстициална и периваскуларна възпалителна реакция, некроза на пневмоцитите в алвеолите с последваща интраалвеоларна депозиция на фибрин и ексудат с последващи процеси на опит за регенерация на увредите (13). Изброените патофизиологични механизми кореспондират впоследствие с различните образи, визуализирани при ултразвуковото изследване, вариращи от интерстициален синдром, до обширни пневмонични инфилтрати, възможно с аваскуларни зони поради тенденцията за формиране на автохтонни тромбози.

Анализ на данните от КТ на торакс при пациенти с COVID-19 – пневмония показват големи пръснати билатерални лезии, понякога конфлуиращи, представящи се като зони тип „матово стъкло“ или съставени от консолидативна и тип „матово стъкло“ компонента. Около 10% от лезиите са с образ „crazy paving“. Измененията са плеврално базирани, но плеврални изливи не се развиват (14).

Ехографските образи при COVID-19 пневмонията са (1,2):

- Увеличен брой на В-линиите, повече от 3 бр. в едно междуребрено пространство, като същите могат да бъдат дискретни, конфлуиращи, мултифокални или билатерални;

with different acoustic densities – the pleural cavity containing a capillary amount of fluid and the aerated lung tissue (8,9). The underlying lung tissue is represented during the ultrasound examination by A-lines, the same being a horizontal reverberation artifact parallel to the pleural line and formed by repeated reflection of ultrasound waves, and by a small number of B-lines, which like "comet tails" descend to the end of the screen and represent the interference of the waves with the interstitial structures. The number of B-lines can increase if for some reason the air content in the lung parenchyma is reduced and the amount of fluid, cells, or matrix components in the alveoli or interstitium is enlarged (10,11).

Usually, the visceral pleura is very thin and perfectly smooth, it is sliding to the parietal one, and in the lung parenchyma a small amount of A-lines with B-lines <3 in one intercostal space are visualized (8,9). The various pathological images in pulmonary and pleural diseases in emergency situations are discussed in detail in the so-called BLUE protocol (12).

An infection with the SARS CoV-2 virus leads to a reaction in the interstitial component of the lung parenchyma, which can be visualized with the ultrasound as B-lines, often bilateral, but possibly with a "mosaic" distribution. The virus predominantly damages the microcirculation of various organs, incl. lungs, the main complications being inflammation of the endothelium with the formation of multiple thrombi in the microvessels, a concomitant lymphocytic interstitial and perivascular inflammatory response, necrosis of pneumocytes in the alveoli with a subsequent intraalveolar deposition of fibrin and exudate, with following processes of regeneration of the damages (13). The above listed pathophysiological mechanisms subsequently correspond to the various images visualized in the ultrasound examination, ranging from interstitial syndrome to extensive pneumonic infiltrates, possibly with avascular zones due to the tendency of autochthonous thrombosis establishment.

An analysis of the available thoracic CT data from patients with COVID-19 pneumonia showed large patchy bilateral lesions, sometimes confluent, presenting as "ground glass" areas or composed of a consolidative and "ground glass" component. About 10% of the lesions have a "crazy paving" pattern. The changes are pleural based, but pleural effusions do not develop (14).

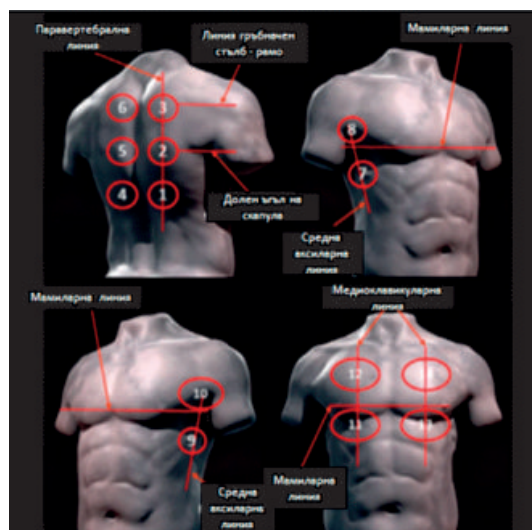
The ultrasound features of COVID-19 pneumonia are (1,2):

- Increased number of B-lines, more than 3 in one intercostal space, which may be discrete, confluent, multifocal or bilateral;

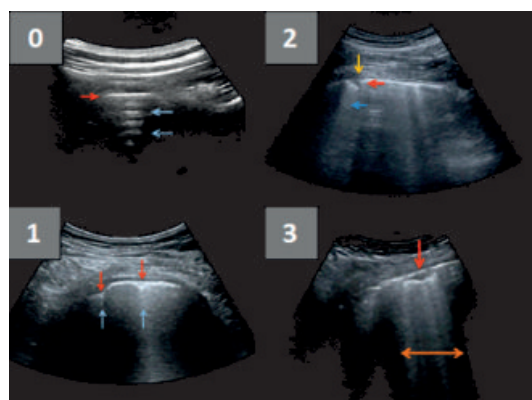
- Задебеляване на плеврата с плеврални неравности (най-често по висцералната плевра);
- Малки субплеврално локализирани консолидации (<1 см височина), които могат да прогресират в големи, слабо васкуларизирани или аваскуларни консолидации (>1 см височина), възможно с наличие на въздушни бронхограми (15).
- Плевралните изливи не са обичайна находка при COVID-19.

Алгоритми на ултразвуковото изследване

Различните авторски колективи предлагат разнообразие от протоколи за обработка на болния с COVID-19 чрез ултразвуково изследване на торакс, съобразено с възможностите на съответните школи в тази методика.



Фиг. 1. Зони на торакалното ултразвуково изследване според протокола на Soldati et al (17).



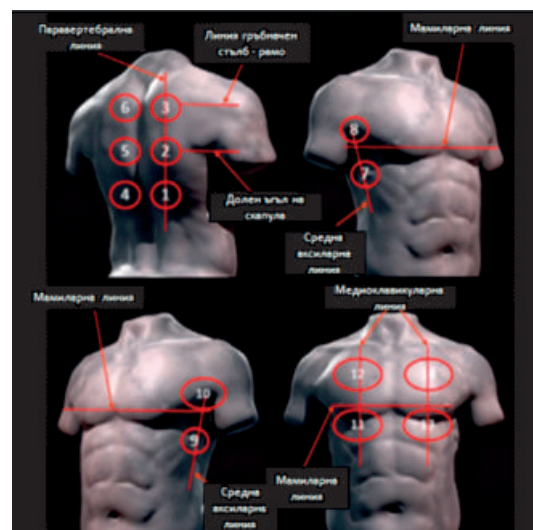
Фиг. 2. Патологични находки в белите дробове при COVID-19 и тяхната точкова оценка според Soldati et al (17).

Опит за стандартизация на ултразвуковото изследване при пациенти с COVID-19 правят колективи от Италия, една от най-засегнатите от пандемията страни. Soldati G. et al предлагат сканиране на белите дробове в общо **14 зони: по 3 задни, 2 латерални и 2 предни зони** за всеки от двата бели дроба симетрично, като за начална точка на изследването предлагат диафрагмалната повърхност с последващо движение на трансдюсера в краниална посока (фиг. 1). Предпочитани от тях са абдоминалният и линеарният трансдюсери и нисък механичен индекс (< 0.7), тъй като по-висок такъв при продължително наблюдение

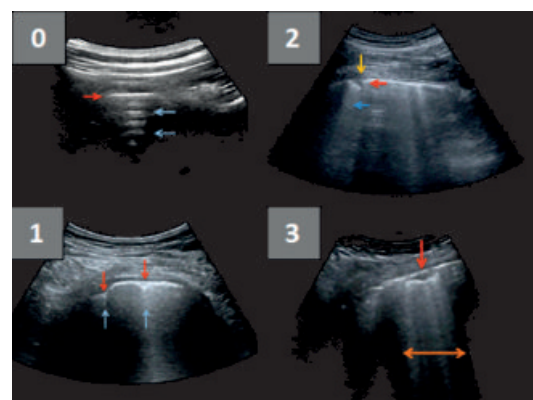
- Thickening of the pleura with pleural line irregularities (most often of the visceral pleura);
- Small subpleural localized consolidations (<1cm height), which may progress to large, poorly vascularised or avascular consolidations (> 1cm height), possibly with the presence of air bronchograms (15).
- Pleural effusions are not a common finding in COVID-19.

Algorithms of the ultrasound examination

The different author teams offer a variety of research protocols for ultrasound examination of the thorax in COVID-19 patients, in consistence with the capabilities of the respective schools using this methodology.



Фиг. 1. Lung zones in the chest ultrasound examination according to the protocol of Soldati et al (17).



Фиг. 2. Pulmonary pathological findings in COVID-19 and their evaluation according to the scoring system of Soldati et al (17).

Attempts to standardize ultrasound examination in patients with COVID-19 are made by teams from Italy, one of the countries most affected by the pandemic. Soldati G. et al offer scanning of the lungs in a total of **14 zones: 3 posterior, 2 lateral and 2 anterior zones** for each of the two lungs symmetrically, using the diaphragmatic surface as a starting point of the study with a subsequent movement of the transducer in the cranial direction (fig. 1). Preferred are abdominal and linear transducers and a low mechanical index (< 0.7), as a higher one with a prolonged monitoring of the lung could lead to additional damages (16). Soldati G. et al

на белия дроб би могъл да доведе до допълнителната му увреда (16). Soldati et al. обозначават чрез точкова система различните патологични находки (фиг. 2), като във всяко поле (зона) поставят най-високото наблюдавано число на точкуване (10,11,17):

0 точки: ситуация, при която висцералната плеврална линия е гладка и непрекъсната, с наличие на А-линии, визуализирани при нормален белодробен паренхим.

1 точка: висцералната плеврална линия е загубила своята гладкост, назъбена е, с визуализация на В-линии поради зони на поражение в белодробния паренхим, където въздушното съдържимо е заместено от течност, кръв или тъкан, същите провеждащи респективно ултразвуковите вълни във вид на вертикални артефакти.

2 точки: висцералната плевра е със силно нарушена гладкост, като непосредствено под нея са налице малки консолидации, където паренхимът е обезвъздушен и провежда ултразвуковите вълни с акустичната способност на меки тъкани, а на места е налице и интерфериране на вълните със зони със запазена аерация.

3 точки: сканираната зона демонстрира плътни и големи зони на консолидация с или без въздушна бронхограма или мултипли конфлуирани помежду си В-линии („бял“ бял дроб).



Фиг. 3. CLUE – протоколът, използван от Manivel et al (5).

Нагледен пример е и предложеният от Manivel V. et al. (Австралия) протокол CLUE (COVID-19 lung ultrasound in emergency department, фиг. 3) за сканиране на болния в условията на спешно отделение (5). Manivel et al. прилагат гореизброените ехографски критерии за наличие на патологичен образ при сканиране на белодробния паренхим, като разделят същия на **12 симетрични зони (по-лета) – 6 зони вдясно (R1-6) и 6 зони вляво (L1-6)**. Техните резултати при пациенти демонстрират по-тежко и предоминантно засягане от инфекцията на постериорните зони на белите дробове, респективно затрудняващо обработването на болен в принудително легнало положение (15). Manivel et al. предлагат и използването на **системата за оценка на установените белодробни изменения LUSS (lung ultrasound scoring system)**, въз основа на която може да се осъществи триаж на пациентите в съответните звена за лечение – у дома, в терапевтична клиника или в интензивно отделение в зависимост от събраните

denote by a point system the various pathological findings (fig. 2), setting in each field (zone) the highest observed number of scoring (10,11, 17):

0 points: A situation in which the visceral pleural line is smooth, regular and continuous, with the presence of A-lines visualized in a normal lung parenchyma.

1 point: The visceral pleural line has lost its smoothness, is indented, with visualization of B-lines due to areas of damage in the lung parenchyma where the air contents are replaced by fluid, blood or tissue, the same conducting respectively the ultrasound waves in the form of vertical artifacts.

2 points: The visceral pleura has a severely disturbed smoothness, and immediately below the indentations there are small consolidations, where the parenchyma is deaerated and conducts ultrasound waves with the acoustic ability of soft tissues, in some places demonstrating interference of waves with areas of preserved aeration.

3 points: The scanned zone shows dense and large areas of consolidations with or without air bronchogram or multiple confluent B-lines ("white" lung).



Fig. 3. CLUE – the protocol, applied by Manivel et al (5).

An illustrating example is also the CLUE-protocol (COVID-19 lung ultrasound in emergency department, fig. 3), proposed by Manivel V. et al (Australia) for scanning evaluation of patients in emergency departments (5). Manivel et al applied the above mentioned ultrasound criteria for the presence of pathological images when scanning the lung parenchyma, dividing the same suitably into **12 symmetrical zones (fields) – 6 zones on the right (R1-6) and 6 zones on the left (L1-6)**. Their results in patients establish more severe and predominant involvement from the infection of the posterior areas of the lungs, respectively complicating the performance of the examination of a patient in a forced supine position (15). Manivel et al also suggest the use of the **lung ultrasound scoring system (LUSS)**, which can be applied for a triage of patients to the relevant treatment units – at home, in a therapeutic clinic or in an intensive care unit, depending on the points collected during the review (2,18). According to this scoring system, the normal lung parenchyma shows 0 points,

при прегледа точки (2, 18). Според тази система нормалният белодробен паренхим демонстрира 0 точки, леко засягане от COVID-19 е със сбор 1-5 точки, умерено тежко > 5-15 точки и тежко > 15 точки. Тази система на оценка те предлагат да бъде използвана паралелно с клиничния обективен статус на пациента и показателите на оксигенация с цел по-бързо взимане на решение къде болният да бъде настанен. Болните с изменения тип „леки“ се предлагат за менажиране в домашни условия, „умерено тежкото“ засягане е индикация за хоспитализация, а „тежкото“ за прием в интензивно отделение. Като недостатък е упоменат фактът, че този протокол към момента е подложен на мащабно клинично тестване в Австралия и Нова Зеландия при пациенти с COVID-19 и досега още не са известни данните до каква степен ултразвуковите образи корелират с прогнозата и финалния изход от заболяването. Също така методът може да бъде приложен от оператор с добър опит в торакалното ултразвуково изследване и Manivel et al. го считат за неуместен при тепърва обучаващи се в приложението му.

Друг предложен за ултразвуково изследване протокол при COVID-19 е този на Frierdich S. et al, Техническият университет в Мюнхен (Klinikum rechts der Isar), възприет за приложение от Европейската Федерация на Асоциациите по Ултразвук в Медицината и Биологията (EFSUMB). При него белите дробове също са разделени на симетрични полета – **6 вдясно и 6 вляво**: съответно по 2 предни краиални, 2 предни каудални, 2 латерални краиални, 2 базални каудални, 2 дорзални краиални и 2 дорзални каудални (фиг. 4).

mild COVID-19 involvement has a total amount of 1-5 points, moderately severe > 5-15 points, and severe > 15 points. The team proposes the application of this evaluation system to be used in parallel with the patient's clinical objective status and oxygenation parameters in order to make a quicker decision where to place and whether to hospitalize the patient. Patients with alterations typed as "mild" are offered for management at home, "moderately" affected are indicated for hospitalization, and "severe" – for admission to the intensive care unit. A disadvantage is the fact that this protocol is currently undergoing large scale clinical trials in Australia and New Zealand in patients with COVID-19, and it is not yet known to what extent the ultrasound images correlate with prognosis and final outcome. Furthermore, the method can be applied by an operator with a good experience in thoracic ultrasound examination and Manivel et al consider it inappropriate for beginners.

Another ultrasound protocol proposed for COVID-19 examination is the one of Frierdich S. et al from the Technical University of Munich (Klinikum rechts der Isar), accepted for application by the European Federation of Ultrasound Associations in Medicine and Biology (EFSUMB). According to this document the lungs are also divided into symmetrical fields – **6 on the right and 6 on the left side**: 2 anterior cranial, 2 anterior caudal, 2 lateral cranial, 2 basal caudal, 2 dorsal cranial and 2 dorsal caudal, respectively (fig. 4).

Lung Ultrasound (LUS) Protocol | DEGUM | SGUM | ÖGUM

Name: _____ Age: _____ Examiner: _____ Sex: ☐ m ☐ f ☐ d
Smoker: ☐ yes ☐ no

Patients position: ☐ prone position ☐ supine position ☐ sitting position
Respiration: ☐ spontaneous ventilation ☐ assisted ventilation ☐ controlled ventilation
Ultrasound device: ☐ Convex transducer ☐ Linear transducer ☐ Pocket ultrasound device Documentation: ☐ image ☐ video

Clinical signs: _____
Date of first complaints: _____ Clinical suspicion of COVID-19: ☐ no ☐ yes
☐ positive test for COVID-19 ☐ chest X-ray ☐ CT of the thorax ☐ follow-up via ultrasound

Comorbidities: ☐ no ☐ yes, which:
☐ asthma ☐ COPD ☐ other lung diseases ☐ heart disease ☐ diabetes ☐ cancer ☐ HIV ☐ hypertension
☐ renal failure ☐ cirrhosis of the liver ☐ immunosuppression ☐ hepatitis

RIGHT LUNG

please check: yes/no (y/n) empty = not examined

pleural effusion: ☐ no ☐ yes: ☐ small volume ☐ moderate volume ☐ large volume

LEFT LUNG

please check: yes/no (y/n) empty = not examined

pleural effusion: ☐ no ☐ yes: ☐ small volume ☐ moderate volume ☐ large volume

Others (for example pneumothorax, ARDS, „interstitial syndrome“): _____

Conclusion: _____

Version 3 english - 2020.04.10

Фиг. 4. Протоколът за ултразвуково изследване на Frierdich et al, възприет от EFSUMB (4).

В този протокол липсва система на точкуване, а във всяко поле се отбелязва за наличие на фрагментиране по висцералната плевра, консолидации, въздушна бронхограма, В-линии и е поставено отделно поле за наличие на плеврални изливи (4). Този протокол е удобен за работа ако непосредствено присъства

Fig. 4. The protocol for ultrasound examination of Frierdich et al, adopted by EFSUMB (4).

There is no evaluated scoring system in this protocol, and in each field it is noted for the presence of fragmentation of the visceral pleura, consolidations, air bronchogram, B-lines. A separate field for the presence of pleural effusions is placed (4). This protocol is convenient for working if it is directly present printed in front of the

разпечатан пред оператора, като предимно е пригоден за хора в принудително легнало положение, респективно такива, намиращи се на лечение в интензивни единици. Важен недостатък обаче е липсата на точкуване и съответно на стадиране на тежестта на ангажиране от инфекцията.

Българската действителност

В България към момента все още няма разработен единен протокол за ултразвуково изследване на торакс при пациенти с COVID-19. Възможни причини за това са както липсата на ехографско оборудване от висок клас и широката достъпност на същото в различните лечебни заведения и структури за доболнична помощ, така и недостатъчният брой квалифицирани кадри, които да изпълняват методиката в пълен обем, също и все още разпространеното „схващане“, че ултразвукът не е метод с достатъчно голяма информативност по отношение на изследване на торакални структури. Считаме, че приложено в ръцете на достатъчно квалифициран оператор, ултразвуковото изследване на торакс е в състояние да ориентира бързо клинициста за тежестта на патологията, разпространеността на същата в структурите на белите дробове и съответно да подпомогне навременния избор за терапия при пациента и да насочи в повечето случаи прогнозата към най-благоприятния изход. Предстои обобщаване на данните от сканирани пациенти с COVID-19 в условията на неинтензивни структури за лечение, както и оценка на приложимостта на различните разработени чуждестранни протоколи в условията на работата на българските екипи.

Книгопис:

References:

1. Mayo PH, Copetti R, Feller-Kopman D, et al. Thoracic ultrasonography: a narrative review. *Intensive Care Med.* 2019; 45: 1200-11.
2. Peng QY, Wang XT, Zhang LN. Findings of lung ultrasonography of novel corona virus pneumonia during 2019-2020 epidemic. *Intensive Care Med.* 2020; 46: 849-50.
3. Poggiali E, Dacrema A, Bastoni D, et al. Can lung US help critical care clinicians in the early diagnosis of novel coronavirus (COVID-19) pneumonia? *Radiology* 2020; 295: E6.
4. EFSUMB Lung Ultrasound (LUS) Protocol: https://efsumb.org/wp-content/uploads/2021/01/Poster-A4-Lungenultraschall-Protokoll_DEGUM_SGUM_OEGM_V3_englisch_100420....pdf
5. Manivel V, Lesnewski A, Shamim S, et al. CLUE: COVID-19 lung ultrasound in emergency department. *Emergency Medicine Australasia* 2020; 32: 694-6.
6. Ai T, Yang Z, Hou H, et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. *Radiology* 2020; <https://doi.org/10.1148/radiol.20200642>
7. Soldati G, Smargiassi A, Inchingolo R, et al. Is There a Role for Lung Ultrasound During the COVID-19 Pandemic? *J Ultrasound Med* 2020; 9999: 1-4.
8. Lumb Ph., Karakitsos D.: *Critical Care Ultrasound*, ELSEVIER Saunders 2015; p. 106-114.
9. Mathis G., Sparchez Z., Volpicelli G.: *EFUMB – European Course Book: Chest Sonography*; Editor: Christoph F. Dietrich - 2010; p. 2-5; 10-25.
10. Soldati G, Demi M, Smargiassi A, et al. The role of ultrasound lung artifacts in the diagnosis of respiratory diseases. *Expert Rev Respir Med* 2019; 13: 163-172.
11. Soldati G, Demi M, Inchingolo R, et al. On the physical basis of pulmonary sonographic interstitial syndrome. *J Ultrasound Med.* 2016; 35: 2075-2086. <https://doi.org/10.7863/ultra.15.08023>
12. Lichtenstein D.A. and Meziere G.A. Relevance of Lung Ultrasound in the Diagnosis of Acute Respiratory Failure: The BLUE Protocol. *Chest* 2008; 134: 117-25.
13. Ackermann M, Verleden St E, Kuehnel M, et al.: Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med* 2020; 383: 120-8.
14. Bernheim A, Mei X, Huang M, et al. Chest CT findings in coronavirus disease-19 (COVID-19): relationship to duration of infection. *Radiology* 2020. <https://doi.org/10.1148/radiol.20200463>.
15. Huang Y, Wang S, Liu Y, et al. A preliminary study on the ultrasonic manifestations of peripulmonary lesions of non-critical novel coronavirus pneumonia (COVID-19). *SSRN* 2020; <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3544750>.
16. Miller DL, Dong Z, Dou C, et al. Pulmonary capillary hemorrhage by different imaging modes of diagnostic ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2018; 44: 1012-21.
17. Soldati G, Smargiassi A, Inchingolo R, et al. Proposal for International Standardization of the Use of Lung Ultrasound for Patients With COVID-19. *J Ultrasound Med* 2020; 39: 1413-19.
18. Mongodi S, Bouhemad B, Orlando A et al. Modified lung ultrasound score for assessing and monitoring pulmonary aeration. *Ultraschall Med.* 2017; 38: 530-7.

operator, and is mainly suitable for people in a forced lying position, respectively those who are being treated in intensive care units. However, an important disadvantage is the lack of scoring and the staging of the severity of involvement from the infection.

The Bulgarian reality

In Bulgaria, there is currently no unified protocol for chest ultrasound examination in patients with COVID-19. Possible reasons are the lack of high-class ultrasound equipment and its availability in the various medical institutions and structures for pre-hospital care, as well as the insufficient number of qualified staff performing the methodology. A "perception" is still widespread that ultrasound scanning is not a sufficiently informative method for the study of thoracic structures. We believe that applied in the hands of a sufficiently qualified operator, the ultrasound examination of the thorax is able to orientate enough quickly the clinician for the severity of the pathology, its prevalence in the structures of the lungs and in this way to guide the right treatment decision on time and the prognosis to the most favorable outcome. A summary of the data from ultrasound-scanned patients with COVID-19 in terms of non-intensive care structures is forthcoming, as well as an assessment of the applicability of the various developed foreign protocols during the work of the Bulgarian teams.

reviews

THORACIC ULTRASOUND IN THE COVID-19 ERA

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

Кореспонденция

Гл. ас. д-р Теодора Михалова, дм
Медицински университет – София
УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ ЕАД
София, бул. „Акад. Иван Гешов“ №17

Correspondence

Head assist. prof. Teodora Mihalova,
MD, PhD;
Medical University – Sofia
UMHAT “St. Ivan Rilski”
“Acad. Ivan Geshov” Blvd. №17
Sofia, Bulgaria

e-mail:

teodora_mihalova@yahoo.com

ЕОЗИНОФИЛИ ПРИ ХОББ

Е. Меков¹, Н. Янев², Р. Петков², Й. Ямакова³, Д. Костадинов²

¹ Медицински университет - София, Медицински факултет,
Катедра по професионални заболявания, гр. София

² Медицински университет - София, Медицински факултет,
Катедра по белодробни болести, гр. София

³ Университетска специализирана болница за активно лечение
по онкология, гр. София

Резюме

Хроничната обструктивна белодробна болест (ХОББ) е често срещана, предотвратима и изискваща лечение болест, характеризираща се с персистиращи респираторни симптоми и бронхиална обструкция вследствие на нарушения в дихателните пътища и/или алвеолите, обичайно предизвикани от вредни частици и газове. Патогенезата на ХОББ е сложна и подлежащите клетъчни и молекулни механизми все още не са напълно проучени. В последните години се установи, че еозинофилите вероятно участват във възпалителния отговор при ХОББ.

Хетерогенността при ХОББ е свързана с редица диагностични, прогностични и терапевтични предизвикателства. Липсват надеждни, достъпни и клинично значими биомаркери за разграничаване на отделните фенотипи.

Настоящата статия разглежда ролята на еозинофилите в протичането на ХОББ и възможностите за употребата им като биомаркер. GOLD препоръчва употребата на еозинофилния брой като биомаркер за ефект от лечението с ICS при пациенти с чести екзацербации на ХОББ. Въпреки че някои проучвания потвърждават тези резултати, липсва валидиран критерий за употребата им в реалната клинична практика. До момента няма и данни за подкрепа на биологичната терапия при пациенти с еозинофилен ХОББ.

Ключови думи: ХОББ, еозинофили, биомаркер, екзацербации, ICS

EOSINOPHILS IN COPD

E. Mekov¹, N. Yanev², R. Petkov², Y. Yamakova³, D. Kostadinov²

¹ Medical University - Sofia, Medical Faculty,
Department of occupational diseases

² Medical University - Sofia, Medical Faculty,
Department of Pulmonary Diseases, Sofia

³ Specialized Hospital for Active Treatment
of Oncological Diseases, Sofia

Abstract

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common, preventable, and treatable disease characterized by persistent respiratory symptoms and airway obstruction due to disturbances in the airways and/or alveoli, usually caused by harmful particles and gases. The pathogenesis of COPD is complex and the underlying cellular and molecular mechanisms have not yet been fully studied. In recent years, it has been found that eosinophils are likely to be involved in the inflammatory response in COPD.

Heterogeneity in COPD is associated with many diagnostic, prognostic, and therapeutic challenges. There are no reliable, accessible, and clinically relevant biomarkers for distinguishing individual phenotypes.

This manuscript examines the role of eosinophils in the course of COPD and the possibilities for their use as a biomarker. GOLD recommends the use of the eosinophil count as a biomarker for the effect of ICS treatment in patients with frequent exacerbations of COPD. Although some studies confirm these results, there is no validated criterion for their use in clinical practice. There are currently no data to support biological therapy in patients with eosinophilic COPD.

Keywords: COPD, eosinophils, biomarker, exacerbations, ICS

Въведение

Хроничната обструктивна белодробна болест (ХОББ) е често срещана, предотвратима и изискваща лечение болест, характеризираща се с персистиращи респираторни симптоми и бронхиална обструкция вследствие на нарушения в дихателните пътища и/или алвеолите, обичайно предизвикани от вредни частици и газове (1). Патогенезата на ХОББ е сложна и подлежащите клетъчни и молекулни механизми все още не са напълно проучени (2).

Хетерогенността при ХОББ е свързана с редица диагностични, прогностични и терапевтични предизвикателства. Липсват надеждни, достъпни и клинично значими биомаркери за разграничаване на отделните фенотипи. Въпреки че възпалителната компонента вече не е част от определението, GOLD въвежда броя на еозинофилите в кръвта (БЕК, blood eosinophil count) като маркер за оценка на ефикасността на инхалаторните кортикостероиди (ICS) при превенцията на екзацербациите.

Настоящата статия разглежда ролята на еозинофилите в протичането на ХОББ и възможностите за употребата им като биомаркер.

Еозинофилно възпаление при ХОББ

Основна характеристика на ХОББ е неутрофилното възпаление (2), но 20-40% от пациентите демонстрират еозинофилен фенотип (3-6). Последният се характеризира с експресия на тип 2 медиатори в дихателните пътища, които са характерни за бронхиалната астма (7). Съществуват дори и смесени (неутрофилни и еозинофилни) фенотипи, при които отделните компоненти са застъпени в различни съотношения. Така профилът на белодробното възпаление при ХОББ и астма е сходен, като разликите между еозинофилния и неоеозинофилния фенотип не зависят от заболяването.

Еозинофилите са възпалителни левкоцити, съставляващи 1-4% от левкоцитите (8). Диференциацията от хемопоетична стволова клетка в зрял еозинофил е зависима от гранулоцит-моноцитния колония-стимулиращ фактор (GM-CSF) и IL-3, а по-късно и от IL-5, който е специфичен еозинофилен растежен фактор. След като узреят, те навлизат в системната циркулация и мигрират в гастроинтестиналния тракт и тимуса (8). Описани са два типа еозинофили – IL-5-независими, намиращи се нормално в белодробния паренхим, и IL-5-зависими, мигриращи по време на алергично възпаление (9). Т. нар. „хомеостатични еозинофили“ се намират в белодробния паренхим, където е наблюдавана връзка между тяхното присъствие, развитието на микробиота и ролята им в инхибиране на Th2-обусловени отговори (10).

Еозинофилите участват във възпалителния отговор при ХОББ. Еозинофилната инфилтрация настъпва, когато възпалителни сигнали стимулират експресия и/или актива-

Introduction

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common, preventable, and treatable disease characterized by persistent respiratory symptoms and airway obstruction due to disturbances in the airways and/or alveoli, usually caused by harmful particles and gases (1). The pathogenesis of COPD is complex and the underlying cellular and molecular mechanisms have not yet been fully studied (2).

Heterogeneity in COPD is associated with many diagnostic, prognostic, and therapeutic challenges. There are no reliable, accessible, and clinically relevant biomarkers for distinguishing individual phenotypes. Although the inflammatory component is no longer part of the definition, GOLD introduces the blood eosinophil count (BEC) as a marker for assessing the efficacy of inhaled corticosteroids (ICS) in preventing exacerbations.

This manuscript examines the role of eosinophils in the course of COPD and the possibilities for their use as a biomarker.

Eosinophilic inflammation in COPD

The main feature of COPD is neutrophilic inflammation (2), but 20-40% of patients demonstrate an eosinophilic phenotype (3-6). The latter is characterized by the expression of type 2 mediators in the airways, which are characteristic of bronchial asthma (7). There are even mixed (neutrophilic and eosinophilic) phenotypes in which the individual components are present in different proportions. Thus, the profile of pulmonary inflammation in COPD and asthma is similar, with differences between the eosinophilic and non-eosinophilic phenotypes independent of the disease.

Eosinophils are inflammatory leukocytes that represent 1-4% of leukocytes (8). Differentiation from a hematopoietic stem cell to a mature eosinophil is dependent on the granulocyte-monocyte colony-stimulating factor (GM-CSF) and IL-3, and later on IL-5, which is a specific eosinophilic growth factor. Once mature, they enter the systemic circulation and migrate to the gastrointestinal tract and thymus (8). Two types of eosinophils have been described - IL-5-independent, normally found in the lung parenchyma, and IL-5-dependent, migrating during allergic inflammation (9). The so-called "homeostatic eosinophils" are found in the lung parenchyma, where a link has been observed between their presence, the development of the microbiota, and their role in inhibiting Th2-mediated responses (10).

Eosinophils are involved in the inflammatory response in COPD. Eosinophilic infiltration occurs when inflammatory signals stimulate the expression and/or activation of adhesion mole-

ция на адхезионни молекули върху бронхиалния съдов ендотел и епител. Възпалителни стимули привличат еозинофили в белите дробове, където редица хемокини (CCL5, CCL11, CCL13), цитокини (интерлевкин (IL)-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-25) и цитотоксични продукти усилват възпалението (11–15). Еозинофилният възпалителен отговор все още не е напълно проучен, но може да улесни възникването на екзацербации (16). Най-вероятните причини за увеличената честота на екзацербации при еозинофилно възпаление са оток, ремоделиране на дихателните пътища, производство на мукус и промяна на геометрията на дихателните пътища (17).

Нарушената функция на макрофагите за унищожаване на апоптозни еозинофили при ХОББ води до освобождаване на вътреклетъчни проинфламаторни цитокини и е свързана с увеличена тежест и честота на екзацербациите (18). Тимусният стромален лимфопоетин и IL-33, секретирани от епителните клетки, водят до привличането и активацията на Th2 и T2 лимфоидни клетки (19). Те произвеждат редица Th2 цитокини като IL-4, IL-5 и IL-13. IL-5 стимулира диференциацията на еозинофили от костномозъчните прекурсори и удължава живота им в дихателните пътища (2). Както пациентите с астма, така и тези с ХОББ, имат увеличена експресия на IL-33 в бронхиалната мукоза в сравнение със здравни контроли (20). В допълнение, установена е повишена концентрация на IL-33 в храчка и кръв при пациенти с ХОББ и висок еозинофилен брой в храчка (21).

Броят на еозинофилите варира в различните белодробни отдели и съответно има различни референтни стойности (индуцирана храчка, бронхиална биопсия, БАЛ) (22). Еозинофилията в храчка обичайно е дефинирана като $\geq 3\%$ от всички неепителни клетки (23), докато в БАЛ е приета гранична стойност от $\geq 1\%$ (24). Липсва обаче корелация между еозинофилите в индуцирана храчка, БАЛ и бронхиална биопсия (22,25,26).

Клинични характеристики

Еозинофилният ХОББ представлява ХОББ с устойчив БЕК $\geq 2\%$ (4%), ≥ 150 (≥ 300) клетки/ μL и/или еозинофили в храчка $\geq 2\%$ ($\geq 3\%$). Той обхваща 32–40% от пациентите (5,27–29). Данните за потенциалните разлики в клиничните характеристики при пациенти с ХОББ и еозинофилно и неутрофилно възпаление са ограничени, а резултатите – разнопосочни. Някои автори установяват по-висок ФЕО1 при „неозинофилни“ пациенти в сравнение с пациенти с висок БЕК (5,30). Други проучвания обаче не намират разлика в тежестта на обструкцията (27,31). Установено е значимо по-висок дял на еозинофили в храчка при пациенти с висока обратимост на обструкцията (увеличение на ФЕО1 $> 15\%$ и > 400 ml) (31), но не и при гранични стойности за увеличение на ФЕО1 $> 12\%$ и > 200 ml (31,32).

cules on the bronchial vascular endothelium and epithelium. Inflammatory stimuli attract eosinophils in the lungs, where several chemokines (CCL5, CCL11, CCL13), cytokines (interleukin (IL)-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-25) and cytotoxic products enhance inflammation (11–15). The eosinophilic inflammatory response has not yet been fully studied, but may facilitate the occurrence of exacerbations (16). The most likely causes of the increased incidence of exacerbations in eosinophilic inflammation are edema, airway remodeling, mucus production, and changes in airway geometry (17).

Impaired macrophage function to destroy apoptotic eosinophils in COPD results in the release of intracellular proinflammatory cytokines and is associated with increased severity and frequency of exacerbations (18). Thymic stromal lymphopoietin and IL-33 secreted by epithelial cells lead to the attraction and activation of Th2 and T2 lymphoid cells (19). They produce several Th2 cytokines such as IL-4, IL-5, and IL-13. IL-5 stimulates the differentiation of eosinophils from bone marrow precursors and prolongs their life in the airways (2). Both patients with asthma and those with COPD have increased expression of IL-33 in the bronchial mucosa compared to healthy controls (20). Also, higher concentrations of IL-33 in sputum and blood have been found in patients with COPD, and high eosinophil counts in sputum (21).

The number of eosinophils varies in different lung compartments and accordingly has different reference values (induced sputum, bronchial biopsy, BAL) (22). Eosinophilia in sputum is usually defined as $\geq 3\%$ of all non-epithelial cells (23), while a cut-off value of $\geq 1\%$ is accepted in BAL (24). However, there is no correlation between eosinophils in induced sputum, BAL, and bronchial biopsy (22,25,26).

Clinical features

Eosinophilic COPD is a COPD with persistent БЕК $\geq 2\%$ (4%), ≥ 150 (≥ 300) cells/ μL and/or eosinophils in sputum $\geq 2\%$ ($\geq 3\%$). It represents 32–40% of patients (5,27–29). Data on potential differences in clinical characteristics in patients with COPD and eosinophilic and neutrophilic inflammation are limited and the results are mixed. Some authors found a higher FEV1 in "non-eosinophilic" patients than in patients with high БЕК (5,30). However, other studies have found no difference in the obstruction severity (27,31). Significantly higher proportions of sputum eosinophils were found in patients with high bronchial reversibility (increase in FEV1 $> 15\%$ and > 400 ml) (31), but not at cut-off values for an increase in FEV1 $> 12\%$ and > 200 ml (31,32).

Нивото на еозинофилите в кръвта не показва връзка с тежестта на симптомите (26,33). Едно проучване обаче установява право-пропорционално подобрене в качеството на живот при пациенти с висок еозинофилен брой и лечение с ICS/LABA (34).

Като цяло пациентите с $\geq 2\%$ еозинофилен брой са по-възрастни, предимно мъже, бивши пушачи, имат по-висок ФЕО1 и по-нисък резултат на скалата на задуха и BODE (6,35,36).

Терапия и екзацербации

Еозинофилният брой може да прогнозира отговора към ICS. Ефектът на ICS нараства право-пропорционално с увеличаване на еозинофилния брой (1,16,37,38). GOLD препоръчва гранична точка за БЕК ≥ 300 клетки/ μL като прогностичен маркер за отговор към терапия с ICS, или ≥ 100 клетки/ μL при пациенти с поне две средно тежки или една тежка екзацербация при липса задоволителен контрол от терапията с бронходилататори. Рандомизирани проучвания показват право-пропорционално на еозинофилния брой намаление в честотата на екзацербациите при терапия с ICS/LABA спрямо LABA (33,37,39,40).

Тъй като тези гранични стойности попадат в референтните граници за показателя, лечението с ICS трябва да се съобрази с честотата на екзацербациите (27,41–43). Така например проучването FLAME показва, че комбинацията LAMA/LABA е по-ефективна в намаляването на честотата на екзацербациите и забавяне на първата екзацербация спрямо ICS/LABA при пациенти с висок ($\geq 2\%$) и нисък ($< 2\%$) еозинофилен брой (44,45), но ефектът намалява с нарастване на еозинофилния брой (45). Трябва да се отбележи, че в това проучване са изключени пациенти с еозинофили > 600 клетки/ μL , а 80% от пациентите са имали само 1 екзацербация в предходната година (44).

Два метаанализа изследват ефикасността на тройната терапия срещу двойна терапия (ICS/LABA, LAMA/LABA) и монотерапия (LAMA, LABA). Ефикасността на тройната комбинация не зависи от еозинофилния брой в сравнение с ICS/LABA (46). От друга страна добавяне на ICS е свързано с намаляване на честотата на екзацербациите при пациентите с повишени еозинофили (47).

Трети метаанализ показва, че пациентите с висок еозинофилен брой имат по-добра прогноза по отношение на болничен престой, вътреболнична смъртност, ФЕО1 и риск от аритмии (48). Острите екзацербации на ХОББ с еозинофилия ≥ 300 клетки/ μL имат сигнификантно (49):

- по-кратък болничен престой (5 срещу 7 дни);
- по-нисък терапевтичен неуспех (10.3% срещу 27.4%);
- по-добър терапевтичен отговор към системни кортикостероиди (КС), ICS и бронходилататори;
- по-висока честота на рехоспитализация (72% срещу 42.2%).

The level of eosinophils in the blood does not correlate with the severity of symptoms (26,33). However, one study found a proportional improvement in quality of life in patients with high eosinophil count and ICS/LABA treatment (34).

In general, patients with $\geq 2\%$ eosinophils are older, males, ex-smokers, with higher FEV1 and lower scores on the dyspnea scale and BODE (6,35,36).

Therapy and exacerbations

Eosinophil count could predict the response to ICS. The effect of ICS increases in direct proportion to the increase in eosinophil count (1,16,37,38). GOLD recommends a cut-off point for BEC ≥ 300 cells/ μL as a prognostic marker for response to ICS therapy, or ≥ 100 cells/ μL in patients with at least two moderate or severe exacerbations without satisfactory control of bronchodilator therapy. Randomized trials show that the frequency of exacerbations decreases proportionally to the eosinophil count with ICS/LABA versus LABA therapy (33,37,39,40).

As these cut-off values fall within the reference range for the indicator, ICS treatment should take into account the frequency of exacerbations (27,41–43). For example, the FLAME study showed that the LAMA/LABA combination is more effective in reducing the frequency of exacerbations and delaying the first exacerbation compared to ICS/LABA in patients with high ($\geq 2\%$) and low ($< 2\%$) eosinophils (44,45), but the effect decreases with increasing eosinophil count (45). It should be noted that patients with eosinophils > 600 cells/ μL were excluded from this study, and 80% of patients had only 1 exacerbation in the previous year (44).

Two meta-analyses examined the efficacy of triple therapy versus dual therapy (ICS/LABA, LAMA/LABA) and monotherapy (LAMA, LABA). The efficacy of the triple combination was independent of eosinophil count compared to ICS/LABA (46). On the other hand, the addition of ICS has been associated with a reduction in the frequency of exacerbations in patients with elevated eosinophils (47).

A third meta-analysis shows that patients with high eosinophil count had a better prognosis in terms of length of hospital stay, in-hospital mortality, FEV1, and risk of arrhythmias (48). Acute exacerbations of COPD with eosinophilia ≥ 300 cells/ μL have significantly (49):

- shorter hospital stay (5 vs. 7 days);
- lower treatment failure (10.3% vs. 27.4%);
- better therapeutic response to systemic corticosteroids (CS), ICS, and bronchodilators;
- higher frequency of rehospitalization (72% vs. 42.2%).

Голям систематичен анализ на 11 рандомизирани проучвания не показва връзка между еозинофилния брой и риска от екзацербация (50). Повишеният БЕК е рисков фактор за екзацербация в някои проучвания (51–53), но други автори не потвърждават тези резултати (54,55). Това най-вероятно е свързано с характеристиките на популацията (липса на екзацербации в предходната година) и лечение с ICS, които могат да намалят честотата на екзацербациите в началото на проучването, особено при пациенти с висок еозинофилен брой. Връзката между честотата на екзацербациите и еозинофилния брой е най-силна при пациенти с ≥ 2 екзацербации в предходната година (53). Същевременно, премахване на ICS от терапията при пациенти с висок БЕК увеличава значимо честотата на екзацербациите, особено при чести екзацербатори (56–60). В проучването IMPACT намалението на честотата на екзацербациите при тройна терапия спрямо LAMA/LABA обаче не зависи от еозинофилния брой (61).

БЕК показва зависимост не само с отговора към ICS, но и към **орални кортикостероиди** (ОКС), риска за екзацербация, смъртността и продължителността на болничния престой (16,51,62–64). Терапията с ОКС намалява еозинофилния брой средно със 71 клетки/ μL (65), докато за ICS данните са смесени (65–67). Наличието на спад в броя на еозинофилите след двуседмично лечение с ОКС е предиктор за полза от ICS (намаление на честотата на екзацербациите) (68). Това предполага ефективност на ICS само при пациенти с намаление на еозинофилния брой след терапия с ОКС.

Пациентите с ХОББ и висок еозинофилен брой в стабилно състояние имат по-висока честота на екзацербации. Същевременно, „еозинофилните“ екзацербации са свързани с по-бързо възстановяване и по-висок терапевтичен успех при лечение със системни КС (49,63,69), а ниският еозинофилен брой е свързан с влошена прогноза (16,64,70). Няколко проучвания изследват ролята на еозинофилния брой като биомаркер за прогнозиране на **ефекта от системните КС при екзацербация**. Не е установена разлика в терапевтичния неуспех при пациентите с $>2\%$ еозинофили, които са получавали КС, спрямо пациентите с $<2\%$ еозинофили, които не са получавали КС (63). Голямо рандомизирано проучване също не показва терапевтична разлика при лечение с КС само на пациентите с >300 клетки/ μL спрямо контролна група, получаваща КС, независимо от еозинофилния брой (71).

Употребата на ICS при пациенти с ХОББ и еозинофили $\geq 2\%$ е свързано със забавяне на **спад на ФЕО1** (68), но не във всички проучвания (72). Този ефект се запазва дори и при пушачи, които обичайно имат по-слаб отговор към ICS спрямо непушачи (37,73).

ICS не подобряват **ФЕО1** при пациенти с еозинофилен брой $\geq 2\%$ (33). Други проучвания обаче установяват, че терапията с ICS/

A large systematic analysis of 11 randomized trials did not show an association between eosinophil count and the risk of exacerbation (50). Elevated BEC is a risk factor for exacerbation in some studies (51–53), but other authors do not confirm these results (54,55). This is most likely related to population characteristics (lack of exacerbations in the previous year) and ICS treatment, which could reduce the incidence of exacerbations at baseline, especially in patients with high eosinophils. The relationship between the frequency of exacerbations and eosinophil count is strongest in patients with ≥ 2 exacerbations in the previous year (53). At the same time, withdrawal of ICS from therapy in patients with high BEC significantly increases the frequency of exacerbations, especially in frequent exacerbators (56–60). However, in the IMPACT study, the reduction in the frequency of exacerbations with triple therapy compared to LAMA/LABA did not depend on the eosinophil count (61).

BEC correlates not only with the response to ICS but also to **oral corticosteroids** (OCS), the risk of exacerbation, mortality, and length of hospital stay (16,51,62–64). OCS therapy reduces the eosinophil count by an average of 71 cells/ μL (65), while ICS data are mixed (65–67). The decrease in the number of eosinophils after two weeks of OCS treatment is a predictor of the benefit from ICS (reduction in the frequency of exacerbations) (68). This suggests that ICS are effective only in patients with decreasing eosinophil count after OCS therapy.

Patients with COPD and a high eosinophil count in stable condition have a higher incidence of exacerbations. At the same time, "eosinophilic" exacerbations are associated with faster recovery and higher therapeutic success in treatment with systemic CS (49,63,69), and low eosinophil counts are associated with a worse prognosis (16,64,70). Several studies have investigated the role of eosinophil count as a biomarker in predicting **the effect of systemic CS on exacerbation**. No difference in treatment failure was found in patients with $>2\%$ eosinophils who received CS compared to patients with $<2\%$ eosinophils who did not receive CS (63). A large randomized study also did not show a treatment difference in CS treatment in patients with >300 cells/ μL compared to the control group receiving CS, regardless of eosinophil count (71).

The use of ICS in patients with COPD and eosinophils $\geq 2\%$ is associated with a slower **decline in FEV1** (68), but not in all studies (72). This effect persists even in smokers, who usually have a lower response to ICS than non-smokers (37,73).

ICS did not improve **FEV1** in patients with an eosinophil count $\geq 2\%$ (33). However, other studies have found that ICS/LABA therapy signi-

LABA значимо подобрява ФЕО1 при пациенти с висок БЕК без анамнеза за астма, като ефектът е правопрпорционален на еозинофилния брой (34,37,40). От друга страна тройната терапия в едно проучване значимо подобрява ФЕО1 при пациенти с еозинофилен брой ≥ 150 клетки/ μL (74), а преустановяването на ICS при пациенти с висок БЕК без чести екзацербации е свързано с намаление на ФЕО1. Такова намаление не се наблюдава при пациенти с нисък еозинофилен брой.

Моноклоналните антитела срещу IL-5 (mepolizumab), IL-5R- α (benralizumab), IL-13 (tralokinumab) и IL-4R- α (dupilumab) имат за цел да повлияят еозинофилното възпаление (75–78). При пациенти с еозинофилен фенотип средната честота на умерено-тежки и тежки екзацербации е по-ниска при лечение с mepolizumab спрямо плацебо в две големи рандомизирани проучвания (METREX и METREO) (79). Подобни резултати са наблюдавани в две други рандомизирани проучвания при пациенти с чести екзацербации на ХОББ и повишен БЕК, въпреки двойна или тройна инхалаторна терапия (GALATHEA и TERRANOVA). И в двете проучвания честотата на екзацербациите е по-ниска в групата с benralizumab спрямо плацебо, но статистическа значимост не е достигната (80). Въпреки че броят на еозинофилите не може да се използва като прогностичен фактор за ефективността от терапията с anti-IL-5R, терапията с benralizumab значимо намалява честотата на екзацербациите при подгрупата пациенти с висок еозинофилен брой и наличие на поне един показател от: ≥ 3 екзацербации в предходната година; ФЕО1 $< 40\%$ или бронхиална реверзибилност $\geq 15\%$.

Въпреки че ползите от ICS превъзхождат рисковете, **рискът от пневмония** трябва да се вземе под внимание дори при пациенти с висок еозинофилен брой (81,82). Рискът от пневмония при терапия с ICS не зависи от нивото на еозинофилите (83). Друго проучване показва повишен риск от пневмония при еозинофили ≥ 340 клетки/ μL и ФЕО1 $< 50\%$, но само при пациентите с ICS терапия (84). В допълнение, при пациентите с ФЕО1 $\geq 50\%$ и висок еозинофилен брой се наблюдава намаляване на риска от пневмонии, предполагащо протективна роля на еозинофилите (85). Някои автори смятат, че терапията с ICS е оправдана само при пациенти с еозинофилен брой $\geq 4\%$ (83). В противен случай LAMA притежава сходна ефективност спрямо ICS/LABA (86).

Вариабилност

БЕК показва вариабилност както в хода на заболяването, така и в периоди на обостряне, и еднократното му измерване не е надежден предиктор за отговора към ICS. Въпреки че съществува корелация между еозинофилния брой в храчка и в кръв, БЕК не може надеждно да прогнозира еозинофилния брой в храчка (30). По време на екзацербация обаче тази корелация е силна (41,63).

ficantly improves FEV1 in patients with high BEC without a history of asthma, with the effect being directly proportional to the eosinophil count (34,37,40). On the other hand, triple therapy in one study significantly improved FEV1 in patients with an eosinophil count ≥ 150 cells/ μL (74), and discontinuation of ICS in patients with high BEC without frequent exacerbations was associated with a reduction in FEV1. Such a reduction was not observed in patients with low eosinophil count.

Monoclonal antibodies against IL-5 (mepolizumab), IL-5R- α (benralizumab), IL-13 (tralokinumab), and IL-4R- α (dupilumab) target the eosinophilic inflammation (75–78). In patients with an eosinophilic phenotype, the average number of moderate and severe exacerbations was lower with mepolizumab compared to placebo in two large randomized trials (METREX and METREO) (79). Similar results were observed in two other randomized trials in patients with frequent exacerbations of COPD and elevated BEC, despite double or triple inhalation therapy (GALATHEA and TERRANOVA). In both studies, the incidence of exacerbations was lower in the benralizumab group compared to placebo, but no statistical significance was achieved (80). Although eosinophil count cannot be used as a prognostic factor for the effectiveness of anti-IL-5R therapy, benralizumab therapy significantly reduces the incidence of exacerbations in the subgroup of patients with high eosinophil counts and the presence of at least one of the following: ≥ 3 exacerbations in the previous year; FEV1 $< 40\%$, or bronchial reversibility $\geq 15\%$.

Although the benefits of ICS outweigh the risks, **the risk of pneumonia** should be considered even in patients with high eosinophils (81, 82). The risk of pneumonia with ICS therapy is independent of eosinophil levels (83). Another study showed an increased risk of pneumonia in eosinophils ≥ 340 cells/ μL and FEV1 $< 50\%$, but only in patients with ICS therapy (84). Moreover, a reduction in the risk of pneumonia has been observed in patients with FEV1 $\geq 50\%$ and a high eosinophil count, suggesting a protective role of eosinophils (85). Some authors believe that ICS therapy is justified only in patients with eosinophil count $\geq 4\%$ (83). Otherwise, LAMA has similar efficacy compared to ICS/LABA (86).

Variability

BEC shows variability both in the course of the disease and in the periods of exacerbation, and its single measurement is not a reliable predictor of the response to ICS. Although there is a correlation between eosinophil count in sputum and blood, BEC cannot reliably predict eosinophil count in sputum (30). During an exacerbation, however, this correlation is strong (41,63).

37.4% от пациентите трайно запазват стойности $\geq 2\%$ БЕК при тригодишно проследяване (6), докато други обсервационни проучвания установяват моментна честота съответно 70% за стойности $> 2\%$ (87) и 75% за ≥ 150 клетки/ μL (36). Персистиращият висок еозинофилен брой (> 300 клетки/ μL) не показва връзка с честотата на екзацербациите, но е свързан с по-ниска смъртност (88,89). Стабилността на стойностите е по-висока при пациенти с нисък еозинофилен брой спрямо тези с висок (88,90–92) и се влияе от лечение с кортикостероиди, антибиотици, възраст и пол (39,44, 91,92). Външни фактори като физическа активност и тютюнопушене също могат да повлияят нивото на еозинофилите, но ролята им при ХОББ не е проучена (93,94). Полуживотът на еозинофилите е кратък и съществува вариация в рамките на деня, с най-високи стойности вечер. В тази връзка се препоръчва изследването им в едно и също време от деня (93,95).

Няма консенсус за употребата на абсолютния (клетки/ μL) и/или относителния еозинофилен брой (%). Въпреки това съществува силна корелация между двата параметъра ($r=0.92$) при гранични точки съответно 150 клетки/ μL и 2% (6).

Заклучение

Еозинофилният брой в кръвта е потенциален биомаркер при пациенти с ХОББ. Няколко проучвания установяват връзка между еозинофилния брой и терапевтичният ефект на ICS за намаление на честотата на екзацербациите. Спорен е обаче въпросът за граничната точка и начина на изследване с оглед вариативността на еозинофилите.

GOLD препоръчва употребата на БЕК като биомаркер за ефект от лечението с ICS при пациенти с чести екзацербации на ХОББ. Въпреки че някои проучвания потвърждават тези резултати, липсва валидиран критерий за употребата им в реалната клинична практика. До момента няма и данни за подкрепа на биологичната терапия при пациенти с еозинофилен ХОББ.

37.4% of patients consistently maintained $\geq 2\%$ BEC for three years of follow-up (6), while other observational studies found a point prevalence of 70% for values $> 2\%$ (87) and 75% for ≥ 150 cells/ μL (36), respectively. Persistent high eosinophil count (> 300 cells/ μL) shows no association with exacerbation rates but is associated with lower mortality (88,89). The stability of the values is higher in patients with low eosinophils compared to those with high (88,90–92) and is influenced by treatment with corticosteroids, antibiotics, age, and gender (39,44,91,92). External factors such as physical activity and smoking could also affect eosinophil levels, but their role in COPD has not been studied (93,94). The half-life of eosinophils is short and there is a variation throughout the day, with the highest values in the evening. In this regard, their examination is recommended at the same time of day (93,95).

There is no consensus on the use of absolute (cells/ μL) and/or relative eosinophil count (%). However, there is a strong correlation between the two parameters ($r = 0.92$) at a cut-off of 150 cells/ μL and 2%, respectively (6).

Conclusion

The blood eosinophil count is a potential biomarker in patients with COPD. Several studies have established an association between eosinophil count and the therapeutic effect of ICS in reducing the frequency of exacerbations. However, the question of the cut-off point and the method of examination given the variability of eosinophils is controversial.

GOLD recommends the use of BEC as a biomarker for the effect of ICS treatment in patients with frequent exacerbations of COPD. Although some studies confirm these results, there is no validated criterion for their use in clinical practice. There are currently no data to support biologic therapy in patients with eosinophilic COPD.

Книгопис:

References:

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease, 2021. Available: https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2020/11/GOLD-REPORT-2021-v1.1-25Nov20_WMVPdf
2. Barnes PJ. Inflammatory endotypes in COPD. *Allergy* 2019;74:1249–56.
3. Pizzichini E, Pizzichini MM, Gibson P, et al. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1511–7.
4. Brightling CE, Monteiro W, Ward R, et al. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000;356:1480–5.
5. Leigh R, Pizzichini MM, Morris MM, Maltais F, Hargreave FE, Pizzichini E. Stable COPD: predicting benefit from high-dose inhaled corticosteroid treatment. *Eur Respir J* 2006;27:964–71.
6. Singh D, Kolsum U, Brightling CE, et al. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics. *Eur Respir J* 2014;44(6):1697–700.
7. Narendran DK, Hanania NA. Targeting IL-5 in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2019;14:1045–51.
8. Camp J, Cane JL, Bafadhel M. Shall we focus on the eosinophil to guide treatment with systemic corticosteroids during acute exacerbations of COPD? *PRO Med Sci* 2018;6:74.
9. Mesnil C, Raulier S, Paulissen G, et al. Lung-resident eosinophils represent a distinct regulatory eosinophil subset. *J Clin Invest* 2016;126:3279–95.
10. Marichal T, Mesnil C, Bureau F. Homeostatic eosinophils: characteristics and functions. *Front Med* 2017;4:101.
11. Moqbel R, Levi-Schaffer F, Kay AB. Cytokine generation by eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:1183–8.
12. Davoine F, Lacy P. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Front Immunol* 2014;5:570.
13. George L, Brightling CE. Eosinophilic airway inflammation: role in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ther Adv Chronic Dis* 2016;7:34–51.

14. Tashkin DP, Wechsler ME. Role of eosinophils in airway inflammation of chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2018;13:335–49.
15. Hirai H, Tanaka K, Yoshie O, et al. Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2. *J Exp Med* 2001;193:255–62.
16. Bafadhel M, Pavord ID, Russell REK. Eosinophils in COPD: just another biomarker? *Lancet Respir Med* 2017;5:747–59.
17. Eltboli O, Brightling CE. Eosinophils as diagnostic tools in chronic lung disease. *Expert Rev Respir Med* 2013;7(1):33–42.
18. Eltboli O, Bafadhel M, Hollins F, et al. COPD exacerbation severity and frequency is associated with impaired macrophage efferocytosis of eosinophils. *BMC Pulm Med* 2014;14:112.
19. Ying S, O'Connor B, Ratoff J, et al. Expression and cellular provenance of thymic stromal lymphopoietin and chemokines in patients with severe asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol* 2008;181:2790–8.
20. Gorska K, Nejman-Gryz P, Paplinska-Goryca M, Korczynski P, Prochorec-Sobieszek M, Krenke R. Comparative study of IL-33 and IL-6 levels in different respiratory samples in mild-to-moderate asthma and COPD. *COPD* 2018;15:36–45.
21. Tworek D, Majewski S, Szewczyk K, et al. The association between airway eosinophilic inflammation and IL-33 in stable non-atopic COPD. *Respir Res* 2018;19:108.
22. Rutgers SR, Timens W, Kaufmann HF, van der Mark TW, Koeter GH, Postma DS. Comparison of induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies in COPD. *Eur Respir J* 2000;15:109–15.
23. Weiszhar Z, Horvath I. Induced sputum analysis: step by step. *Breathe* 2013;9:300–6.
24. Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;185:1004–14.
25. Gorska K, Maskey-Warzechowska M, Nejman-Gryz P, Korczynski P, Prochorec-Sobieszek M, Krenke R. Comparative study of periostin expression in different respiratory samples in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Pol Arch Med Wewn* 2016;126:124–37.
26. Hartjes F, Vonk JM, Faiz A, et al. Predictive value of eosinophils and neutrophils on clinical effects of ICS in COPD. *Respirology* 2018;23:1023–31.
27. Proboszcz M, Mycroft K, Paplinska-Goryca M, et al. Relationship between blood and induced sputum eosinophils, bronchial hyperresponsiveness and reversibility of airway obstruction in mild to moderate chronic obstructive pulmonary disease. *COPD* 2019;16:354–61.
28. Kim VL, Coombs NA, Staples KJ, et al. Impact and associations of eosinophilic inflammation in COPD: analysis of the AERIS cohort. *Eur Respir J* 2017;50:1700853.
29. Negewo NA, McDonald VM, Baines KJ, et al. Peripheral blood eosinophils: a surrogate marker for airway eosinophilia in stable COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2016;11:1495–504.
30. Hastie AT, Martinez FJ, Curtis JL, et al. Association of sputum and blood eosinophil concentrations with clinical measures of COPD severity: an analysis of the SPIROMICS cohort. *Lancet Respir Med* 2017;5:956–67.
31. Chou K-T, Su K-C, Hsiao Y-H, et al. Postbronchodilator reversibility of FEV1 and eosinophilic airway inflammation in COPD. *Arch Bronconeumol* 2017;53:547–53.
32. Reid DW, Wen Y, Johns DP, Williams TJ, Ward C, Walters EH. Bronchodilator reversibility, airway eosinophilia and anti-inflammatory effects of inhaled fluticasone in COPD are not related. *Respirology* 2008;13:799–809.
33. Pavord ID, Lettis S, Locantore N, et al. Blood eosinophils and inhaled corticosteroids/long-acting B-2 agonist efficacy in COPD. *Thorax* 2016;71:118–25.
34. Siddiqui SH, Pavord ID, Barnes NC, et al. Blood eosinophils: a biomarker of COPD exacerbation reduction with inhaled corticosteroids. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2018;13:3669–76.
35. Vedel-Krogh S, Nielsen SF, Lange P, Vestbo J, Nordestgaard BG. Blood eosinophils and exacerbations in COPD: the Copenhagen General Population Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;193(9):965–74.
36. Landis S, Suruki R, Bonar K, Hilton E, Compton C. Blood eosinophil levels in COPD patients in the UK Clinical Practice Research Datalink (CPRD). *Am J Respir Crit Care Med* 2016;193:A6329.
37. Bafadhel M, Petersson S, De Blas MA, et al. Predictors of exacerbation risk and response to budesonide in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a posthoc analysis of three randomised trials. *Lancet Respir Med* 2018;6:117–26.
38. Bafadhel M. Eosinophils in COPD: are we nearly there yet? *Lancet Respir Med* 2017;5:913–4.
39. Pascoe S, Locantore N, Dransfield MT, et al. Blood eosinophil counts, exacerbations, and response to the addition of inhaled fluticasone furoate to vilanterol in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a secondary analysis of data from two parallel randomised controlled trials. *Lancet Respir Med* 2015;3:435–42.
40. Siddiqui SH, Guasconi A, Vestbo J, et al. Blood Eosinophils: a biomarker of response to extrafine beclomethasone/formoterol in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2015;192:523–5.
41. Kolsum U, Donaldson GC, Singh R, et al. Blood and sputum eosinophils in COPD: relationship with bacterial load. *Respir Res* 2017;18:88.
42. Turato G, Semenzato U, Bazzan E, et al. Blood eosinophilia neither reflects tissue eosinophils nor worsens clinical outcomes in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2018;197:1216–9.
43. Vogelmeier CF, Kostikas K, Fang J, et al. Evaluation of exacerbations and blood eosinophils in UK and US COPD populations. *Respir Res* 2019;20:178.
44. Roche N, Chapman KR, Vogelmeier CF, et al. Blood eosinophils and response to maintenance chronic obstructive pulmonary disease treatment: data from the FLAME trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195:1189–97.
45. Wedzicha JA, Banerji D, Chapman KR, et al. Indacaterol-glycopyrronium versus salmeterol-fluticasone for COPD. *N Engl J Med* 2016;374:2222–34.
46. Calzetta L, Cazzola M, Matera MG, Rogliani P. Adding a LAMA to ICS/LABA therapy: a meta-analysis of triple combination therapy in COPD. *Chest* 2019;155:758–70.
47. Cazzola M, Rogliani P, Calzetta L, Matera MG. Triple therapy versus single and dual long-acting bronchodilator therapy in COPD: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 2018;52:1801586.
48. You Y, Shi GC. Blood Eosinophils and Clinical Outcome of Acute Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Respiration* 2021;100(3):228–37.
49. Prins HJ, Duijkers R, Lutter R, et al. Blood eosinophilia as a marker of early and late treatment failure in severe acute exacerbations of COPD. *Respir Med* 2017;131:118–24.
50. Singh D, Wedzicha JA, Siddiqui S, et al. Blood eosinophils as a biomarker of future COPD exacerbation risk: pooled data from 11 clinical trials. *Respir Res* 2020;21:240.
51. Vedel-Krogh S, Nielsen SF, Lange P, et al. Blood eosinophils and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease. The Copenhagen General Population Study. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;193:965–74.
52. Kerkhof M, Sonnappa S, Postma DS, et al. Blood eosinophil count and exacerbation risk in patients with COPD. *Eur Respir J* 2017;50:1700761.
53. Yun JH, Lamb A, Chase R, et al. Blood eosinophil count thresholds and exacerbations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 2018;141:2037–47.e10.
54. Adir Y, Hakrush O, Shteinberg M, Schneer S, Agusti A. Circulating eosinophil levels do not predict severe exacerbations in COPD: a retrospective study. *ERJ Open Res* 2018;4:00022–2018.
55. Miravittles M, Monteagudo M, Solntseva I, Alcázar B. Blood eosinophil counts and their variability and risk of exacerbations in COPD: a population based study. *Arch Bronconeumol* 2021;57(1):13–20.
56. Watz H, Tetzlaff K, Wouters EF, et al. Blood eosinophil count and exacerbations in severe chronic obstructive pulmonary disease after withdrawal of inhaled corticosteroids: a posthoc analysis of the WISDOM trial. *Lancet Respir Med* 2016;4:390–8.
57. Vestbo J, Papi A, Corradi M, et al. Single inhaler extrafine triple therapy versus long-acting muscarinic antagonist therapy for chronic obstructive pulmonary disease (TRINITY): a double-blind parallel group randomised controlled trial. *Lancet* 2017;389:1919–29.

58. Lipson DA, Barnhart F, Brealey N, et al. Once-daily single-inhaler triple versus dual therapy in patients with COPD. *New Engl J Med* 2018;378:1671–80.
59. Papi A, Vestbo J, Fabbri L, et al. Extrafine inhaled triple therapy versus dual bronchodilator therapy in chronic obstructive pulmonary disease (TRIBUTE): a double-blind, parallel group, randomised controlled trial. *Lancet* 2018;391:1076–84.
60. Chapman KR, Hurst JR, Frent SM, et al. Longterm triple therapy de-escalation to indacaterol/glycopyrronium in patients with chronic obstructive pulmonary disease (SUNSET): a randomized, double-blind, triple-dummy clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2018;198:329–39.
61. Lipson DA, Barnhart F, Brealey N, et al. Oncedaily single-inhaler triple versus dual therapy in patients with COPD. *N Engl J Med* 2018;378:1671–80.
62. Hoppers JJ, Schouten JP, Weiss ST, et al. Asthma attacks with eosinophilia predict mortality from chronic obstructive pulmonary disease in a general population sample. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1869–74.
63. Bafadhel M, McKenna S, Terry S, et al. Blood eosinophils to direct corticosteroid treatment of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease a randomized placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;186:48–55.
64. MacDonald MI, Osadnik CR, Bulfin L, et al. Low and high blood eosinophil counts as biomarkers in hospitalized acute exacerbations of COPD. *Chest* 2019;156:92–100.
65. Kreindler J, Locantore N, Watkins M, Lettis S, Tal-Singer R. Minimal effect of inhaled corticosteroids (ICS) on blood eosinophil count in steroid-naïve COPD patients. *Eur Respir J* 2015;46(Suppl 59):PA2959.
66. Barnes NC, Qiu YS, Pavord ID, et al. Antiinflammatory effects of salmeterol/fluticasone propionate in chronic obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173(7):736–43.
67. Bourbeau J, Christodouloupoulos P, Maltais F, Yamauchi Y, Olivenstein R, Hamid Q. Effect of salmeterol/fluticasone propionate on airway inflammation in COPD: a randomised controlled trial. *Thorax* 2007;62(11):938–43.
68. Barnes NC, Sharma R, Lettis S, Calverley PM. Blood eosinophils as a marker of response to inhaled corticosteroids in COPD. *Eur Respir J* 2016;47:1374–82.
69. Bafadhel M, Greening NJ, Harvey-Dunstan TC, et al. Blood eosinophils and outcomes in severe hospitalized exacerbations of COPD. *Chest* 2016;150:320–8.
70. Holland M, Alkhalil M, Chandromouli S, et al. Eosinopenia as a marker of mortality and length of stay in patients admitted with exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology* 2010;15:165–7.
71. Sivapalan D, Lapperre TS, Janner J, et al. Eosinophil-guided corticosteroid therapy in patients admitted to hospital with COPD exacerbation (CORTICOCOP): a multicentre, randomised, controlled, open-label, noninferiority trial. *Lancet Respir Med* 2019;7:699–709.
72. Whittaker HR, Müllerova H, Jarvis D, et al. Inhaled corticosteroids, blood eosinophils, and FEV1 decline in patients with COPD in a large UK primary health care setting. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2019;14:1063–73.
73. Pascoe S, Barnes N, Brusselle G, et al. Blood eosinophils and treatment response with triple and dual combination therapy in chronic obstructive pulmonary disease: analysis of the IMPACT trial. *Lancet Respir Med* 2019;7:745–56.
74. Ferguson GT, Rabe KF, Martinez FJ, et al. Triple therapy with budesonide/glycopyrrolate/formoterol fumarate with co-suspension delivery technology versus dual therapies in chronic obstructive pulmonary disease (KRONOS): a double-blind, parallel-group, multicentre, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Respir Med* 2018;6:747–58.
75. Bel EH, Ten Brinke A. New anti-eosinophil drugs for asthma and COPD: targeting the trait! *Chest* 2017;152:1276–82.
76. Brightling CE, Chaney P, Leigh R, et al. Efficacy and safety of tralokinumab in patients with severe uncontrolled asthma: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2B trial. *Lancet Respir Med* 2015;3:692–701.
77. Feng H-R, Zhang C, Ying S-M. Classical and emerging therapies against chronic obstructive pulmonary disease. *Chin Med J* 2018;131:1894–7.
78. Markham A. Benralizumab: first global approval. *Drugs* 2018;78:505–11.
79. Pavord ID, Chaney P, Criner GJ, et al. Mepolizumab for eosinophilic chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2017;377:1613–29.
80. Criner GJ, Celli BR, Brightling CE, et al. Benralizumab for the prevention of COPD exacerbations. *N Engl J Med* 2019;381:1023–34.
81. Izquierdo JL, Cosío BG. The dose of inhaled corticosteroids in patients with COPD: when less is better. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2018;13:3539–47.
82. Cheng S-L. Blood eosinophils and inhaled corticosteroids in patients with COPD: systematic review and meta-analysis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2018;13:2775–84.
83. Suissa S, Ernst P. Precision medicine urgency: the case of inhaled corticosteroids in COPD. *Chest* 2017;152:227–31.
84. Vedel-Krogh S, Nordestgaard BG, Lange P, Vestbo J, Nielsen SF. Blood eosinophil count and risk of pneumonia hospitalisations in individuals with COPD. *Eur Respir J* 2018;51:1800120.
85. Ernst P. Blood eosinophils in COPD and the future risk of pneumonia. *Eur Respir J* 2018;52:1800981.
86. Suissa S, Dell'Aniello S, Ernst P. Comparative effectiveness of LABA-ICS versus LAMA as initial treatment in COPD targeted by blood eosinophils: a population-based cohort study. *Lancet Respir Med* 2018;6:855–62.
87. DiSantostefano RL, Hinds D, Le HV, Barnes NC. Relationship between blood eosinophils and clinical characteristics in a cross-sectional study of a US population based COPD cohort. *Respir Med* 2016;112:88–96.
88. Casanova C, Celli BR, De-Torres JP, et al. Prevalence of persistent blood eosinophilia: relation to outcomes in patients with COPD. *Eur Respir J* 2017;50:1701162.
89. Shin SH, Park HY, Kang D, et al. Serial blood eosinophils and clinical outcome in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2018;19:134.
90. Southworth T, Beech G, Foden P, Kolsum U, Singh D. The reproducibility of COPD blood eosinophil counts. *Eur Respir J* 2018;52:1800427.
91. Oshagbemi OA, Burden AM, Braeken DCW, et al. Stability of blood eosinophils in patients with chronic obstructive pulmonary disease and in control subjects, and the impact of sex, age, smoking, and baseline counts. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195:1402–4.
92. Landis SH, Suruki R, Hilton E, Compton C, Galwey NW. Stability of blood eosinophil count in patients with COPD in the UK Clinical Practice Research Datalink. *COPD* 2017;14:382–8.
93. Szefer SJ, Wenzel S, Brown R, et al. Asthma outcomes: biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129(3 Suppl):S9–S23.
94. Mensinga TT, Schouten JP, Weiss ST, Van der Lende R. Relationship of skin test reactivity and eosinophilia to level of pulmonary function in a community-based population study. *Am Rev Respir Dis* 1992;146(3):638–43.
95. Winkel P, Statland BE, Saunders AM, Osborn H, Kupperman H. Within-day physiologic variation of leukocyte types in healthy subjects as assayed by two automated leukocyte differential analyzers. *Am J Clin Pathol* 1981;75(5):693–700.

Кореспонденция

Д-р Евгени Меков, дм
УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД
Бул. „Акад. Иван Гешов“ 15, София

Correspondence

Evgeni Mekov, MD, PhD
UMHAT 'Sv. Ivan Rilski'
15 'Acad. Ivan Geshov' Blvd.
Sofia, Bulgaria

e-mail:

Evgeni.mekov@gmail.com

ЧУВСТВИТЕЛНОСТ И СПЕЦИФИЧНОСТ НА ТЕЧНА БИОПСИЯ ОТ БРОНХОАЛВЕОЛАРЕН ЛАВАЖ И КРЪВНА ПЛАЗМА ПРИ УСТАНОВЯВАНЕ НА EGFR МУТАЦИОНЕН СТАТУС НА ПАЦИЕНТИ С ПЪРВИЧЕН БЕЛОДРОБЕН АДЕНОКАРЦИНОМ

Н. Янев¹, Е. Меков¹, Д. Димитрова¹, Н. Габровска¹, Вл. Миланов¹,
С. Бичев², С. Иванова³, Д. Маринова⁴, Д. Вълев⁵, М. Михайлов¹,
И. Попова⁶, Д. Костадинов¹

¹ Медицински университет София, Катедра по белодробни болести,
МБАЛББ "Света София" ЕАД

² Национална генетична лаборатория, Лаборатория по Клинична генетика,
СБАЛАГ "Майчин дом"

³ МБАЛББ "Света София" ЕАД, Отделение по патология

⁴ УМБАЛ "Медика" Русе – ООД

⁵ Университетска Първа МБАЛ - София "Св. Йоан Кръстител" ЕАД

⁶ Медицински център "Свети Врач", София

Резюме

Провеждането на таргетна терапия при пациенти с белодробен аденокарцином и чувствителни мутации в EGFR забавя значимо прогресията на заболяването спрямо "класическата" химиотерапия. Генетичното изследване на биопсичен материал след хистологично и имунохистохимично потвърждение за аденокарцином към момента е „златен стандарт“. Предимството е свързано с високата чувствителност и специфичност, но методът има и известни ограничения. За целта разработихме и предложихме метод за изследване на EGFR мутационен статус при пациенти с първичен белодробен аденокарцином чрез изработване на течна биопсия от бронхоалвеоларен лаваж (БАЛ).

Изследвани са 13 пациента с установена EGFR мутация при генетичен анализ на хистологичен препарат. От същите пациенти EGFR мутация е идентифицирана при 38,5% (5/13) пациенти от периферна кръв, докато EGFR мутация от БАЛ е идентифицирана при 92,3% (12/13). За контролна група се подбраха съответстващи 13 пациента с аденокарцином и EGFR от див тип – при тях се проведе контролно изследване на БАЛ и периферна кръв за наличие на чувствителна мутация, които бяха негативни.

Изследването на EGFR мутационен статус от БАЛ при пациенти с белодробен аденокарцином е едноетапен метод с висока чувствителност, лесно приложим и с допълваща информативна стойност по отношение на туморната хетерогенност. Поради тези предимства е възможно в бъдеще да се наложи като стандарт при определяне на терапевтичното поведение при пациенти с аденокарцином.

Ключови думи: бронхоалвеоларен лаваж, белодробен аденокарцином, течна биопсия, EGFR

SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF BRONCHOALVEOLAR LAVAGE AND BLOOD PLASMA LIQUID BIOPSY IN THE ASSESSMENT OF EGFR MUTATION STATUS IN PATIENTS WITH PRIMARY LUNG ADENOCARCINOMA

N. Yanev¹, E. Mekov¹, D. Dimitrova¹,
N. Gabrovksa¹, V. Milanov¹, S. Bichev², S. Ivanova³,
D. Marinova⁴, D. Vulev⁵, M. Mihailov¹, I. Popova⁶, D. Kostadinov¹

¹ Medical University of Sofia, Department of Pulmonary Diseases,
University Hospital for Pulmonary Diseases "St. Sofia"

² National Genetics Laboratory,
University Hospital of Obstetrics and Gynecology "Maichin Dom"

³ University Hospital for Pulmonary Diseases "St. Sofia"

⁴ University Hospital "Medica" Ruse

⁵ University Hospital "St. Ioan Krustitel", Sofia, Bulgaria

⁶ Medical Centre "Sveti Vrach", Sofia

Abstract

Targeted therapy in patients with lung adenocarcinoma and drug-sensitive EGFR mutations significantly slows the progression of the disease, compared to "classical" chemotherapy. Tissue biopsy genomic testing after histological and immunohistochemical confirmation of adenocarcinoma is currently accepted as a "gold standard" test. Despite the high sensitivity and specificity, the method also has some limitations. According to this, we aimed to develop and propose a method for assessment of EGFR mutation status in patients with primary lung adenocarcinoma from bronchoalveolar lavage (BAL) liquid biopsy.

Thirteen patients with an established EGFR mutation from tissue biopsy genomic testing were studied. An EGFR mutation from peripheral blood was confirmed in 38.5% (5/13 pts) and from BAL - in 92.3% (12/13 pts). A control group from 13 patients with adenocarcinoma and wild-type EGFR were selected. They were negative for a sensitive EGFR mutation from BAL and peripheral blood.

The assessment of EGFR mutation status from bronchoalveolar lavage (BAL) in patients with primary lung adenocarcinoma is a one-step method with high sensitivity, easy to apply in clinical practice, and with additional informative value in terms of tumor heterogeneity identification. Because of these advantages, BAL liquid biopsy may become in the future a standard in determining therapeutic management in patients with lung adenocarcinoma.

Keywords: bronchoalveolar lavage, lung adenocarcinoma, liquid biopsy, EGFR

Въведение

Провеждането на таргетна терапия при пациенти с белодробен аденокарцином и чувствителни мутации в EGFR забавя значимо прогресията на заболяването спрямо "класическата" химиотерапия. Тази терапевтична възможност налага уточняване на мутационния статус при всеки един пациент с първичен белодробен аденокарцином.

Генетичното изследване на биопсичен материал след хистологично и имунохистохимично потвърждение за аденокарцином към момента е „златен стандарт“. Предимството е свързано с високата чувствителност и специфичност, но методът има и известни ограничения. На първо място – туморната хетерогенност – биопсиите се вземат от различни участъци на видимото ендобронхиално изменение, но е възможно взетият материал да не е представителен и да не съдържа мутационни участъци. На второ място е състоянието на пациента, тъй като методът е инвазивен и е с ограничено приложение при пациенти в увредено общо състояние.

Поради тези недостатъци е предложен методът за течна биопсия от периферна кръв за генетично изследване – неинвазивен избор при пациенти, които не могат да бъдат подложени на инвазивна оценка или нямат достатъчно материал след проведена такава. Теоретично предимство на течната биопсия е и избягването на проблема с туморната хетерогенност, тъй като постъпилите фрагменти туморна ДНК в кръвната плазма са от различни участъци на туморната строма. Основен недостатък на течната биопсия от периферна кръв е ниската чувствителност (60-75%) при висока специфичност (80-95%) (1). Този факт вероятно е следствие на много краткия полуживот на свободната туморна ДНК в периферната кръв (2). Негативна течна биопсия от периферна кръв не изключва дефинитивно наличието на таргетна мутация, докато позитивният резултат е достатъчен, за да бъде започнато съответното таргетно лечение.

Идеалният вариант комбинира предимствата на двата представени метода. За целта разработихме и предложихме метод за изследване на EGFR мутационен статус при пациенти с първичен белодробен аденокарцином чрез изработване на течна биопсия от бронхоалвеоларен лаваж (БАЛ).

Материали и методи

В проучването бяха включени всички пациенти, предвидени за диагностично уточнение поради съмнение за белодробен тумор в периода между октомври 2018 г. и август 2019 г. Изключващите критерии не се различават от тези на стандартните противопоказания за провеждане на бронхоскопия.

Фибробронхоскопията се извършва под местна анестезия с лидокаин (10% лидокаинов спрей) в носните ходове, последвано от назално впръскване на 2% разтвор по време на процедурата през работния канал до обща

Introduction

Targeted therapy in patients with lung adenocarcinoma and drug-sensitive EGFR mutations significantly slows the progression of the disease, compared to "classical" chemotherapy. This therapeutic option requires a determination of the mutational status in each patient with primary lung adenocarcinoma.

Tissue biopsy genomic testing after histological and immunohistochemical confirmation of adenocarcinoma is currently accepted as a "gold standard" test. Despite the high sensitivity and specificity, the method also has some limitations. The first limitation is linked with the tumor heterogeneity - biopsies are taken from different areas of visible endobronchial changes, but there is a possibility that the tissue sample not to be representative and not to contain gene mutations areas. Also, the tissue biopsy method is invasive and has limited use in patients with an impaired general condition.

Due to these limitations, a liquid biopsy method from a peripheral blood sample has been proposed for genomic testing – a non-invasive choice for patients who are contraindicated for an invasive procedure or the tissue sample is not sufficient after one. A theoretical advantage of the liquid biopsy is the avoidance of the problem with tumor heterogeneity, as the circulating tumor DNA fragments in the blood plasma are from different tumor stroma areas. The main disadvantage of peripheral blood liquid biopsy is low sensitivity (60-75%) with high specificity (80-95%) (1). This fact is probably due to the very short half-life of free tumor DNA in peripheral blood (2). Negative peripheral blood liquid biopsy does not definitively rule out the presence of a target mutation, while a positive result is sufficient to initiate appropriate target treatment.

The ideal option combines the advantages of the two presented methods. According to this data, we aimed to develop and propose a method for assessment of EGFR mutation status in patients with primary lung adenocarcinoma from bronchoalveolar lavage (BAL) liquid biopsy.

Materials and methods

Patients referred for diagnostic bronchoscopy due to suspected lung cancer between October 2018 and August 2019 were included in the study. The exclusion criteria did not differ from those of the standard contraindications for a bronchoscopy.

Fibrobronchoscopy was performed under local anesthesia with lidocaine (10% lidocaine spray) in the nasal passages, followed by nasal injection of 2% solution during the procedure through the working canal to a total dose of up

доза до 8 mg/kg. Бронхоскопиите са извършени с оптични и видео устройства Olympus Exera II CV-180, Pentax EPK-1000 и Fujinon EB-530T. Използваните биопсични техники са форцепс биопсия, трансbronхиална биопсия със или без флуорографски контрол, базирана на предварителни КТ данни и ЕУЗД. На всички пациенти е взет и БАЛ от съответния сегмент, както и периферна кръв непосредствено след манипулацията.

Получените материали от биопсията се етикетират и се транспортират незабавно до отделението по клинична патология, като хистологичните материали се фиксират във формалинов разтвор, а цитологичните материали се нанасят върху предметно стъкло – общо 4 броя. БАЛ и серумните проби се замразяват незабавно при -10°C.

Хистологичните материали се оценяват от специалист по клинична патология на светлинна микроскопия и се оцветяват с хематоксилин-еозин. При необходимост бяха извършени допълнителни имунохистохимични и генетични тестове.

В случаите, когато аденокарциномът е потвърден от тъканна проба, замразеният серум и БАЛ са изпратени за ДНК анализ в Националната генетична лаборатория. Там се извършва екстракция на ДНК с комплект за циркулираща нуклеинова киселина QiaAmp за проби от плазма и БАЛ. За проби с фиксирана във формалин парафинова тъкан (FFPET) е използван QIAamp DNA FFPE Tissue Kit. EGFR генотипизирането се извършва с theascreen EGFR плазма или тъкан RGQ PCR комплекти.

Резултати

За периода на проучването са проведени 140 бронхоскопии. Аденокарцином се установи при 33,6% (47/140) от пациентите, което е потвърдено и с имунохистохимия.

При 13 пациента се установи EGFR мутация при генетичен анализ на хистологичен препарат. От същите пациенти EGFR мутация е идентифицирана при 38,5% (5/13) пациенти от периферна кръв, докато EGFR мутация от БАЛ е идентифицирана при 92,3% (12/13). При един пациент и в двете течни биопсични проби (БАЛ и плазма) открихме допълнителна мутация T790M, заедно с делеция в екзон 19, което не беше установено в съответния хистологичен препарат.

За контролна група се подбраха съответстващи 13 пациента с аденокарцином и EGFR от див тип – при тях се проведе контролно изследване на БАЛ и периферна кръв за наличие на чувствителна мутация, които бяха негативни. Контролната и изследваната група не се различават по отношение на възрастта и максималния диаметър на тумора.

На базата на получените резултати се изчисли и специфичността и чувствителността на метода течна биопсия от БАЛ и кръвна плазма (Таблица 1).

to 8 mg/kg. Bronchoscopies were performed with optical and video devices Olympus Exera II CV-180, Pentax EPK-1000, and Fujinon EB-530T. The following biopsy techniques were used: forceps biopsy, transbronchial biopsy with or without fluorographic control based on preliminary CT data and EBUS. In all patients, BAL fluid was collected from the corresponding segment and peripheral blood was taken immediately after the manipulation.

The materials obtained from the biopsy are labeled and transported immediately to the ward of clinical pathology – the histological materials are fixed in formalin solution and the cytological materials are applied on a glass slide – 4 pieces in total. BAL and blood samples are frozen immediately at -10°C.

Histological materials were evaluated by a specialist in clinical pathology by light microscopy and stained with hematoxylin-eosin. If necessary, additional immunohistochemical and genetic tests were performed.

In cases of confirmed adenocarcinoma from biopsy, the frozen blood samples and BAL were sent for DNA analysis to the National Genetic Laboratory. DNA was extracted with a circulating QiaAmp nucleic acid kit for plasma and BAL samples. For samples with formalin-fixed paraffin tissue (FFPET), the QIAamp DNA FFPE Tissue Kit was used. EGFR genotyping is performed with theascreen EGFR plasma or tissue RGQ PCR kits.

Results

During the study period, 140 bronchoscopies were performed. Adenocarcinoma was found in 33.6% (47/140) of all cases and the diagnose was confirmed by immunohistochemistry.

An EGFR mutation from tissue biopsy genomic testing was detected in 13 patients. An EGFR mutation from peripheral blood was identified in 38.5% (5/13 patients) and 92.3% (12/13 patients) from BAL. In one patient, in both liquid biopsy samples (BAL and plasma), we have found an additional T790M mutation, along with a deletion in exon 19, which was not detected in the corresponding histological specimen.

A control group from 13 patients with adenocarcinoma and wild-type EGFR were selected. They were negative for a sensitive EGFR mutation from BAL and peripheral blood. The control and study groups did not differ in terms of age and maximum tumor diameter.

Based on the obtained results, the specificity and sensitivity of the BAL and blood liquid biopsy methods were calculated (Table 1).

Табл. 1. Чувствителност и специфичност на течна биопсия от БАЛ и кръвна плазма за определяне на EGFR мутационен статус.

	Течна биопсия - БАЛ		Течна биопсия - кръвна плазма	
	%	95% CL	%	95% CL
Чувствителност	92.3	63.9 – 99.8	41.6	15.1 – 72.3
Специфичност	100		100	
Позитивна предиктивна стойност	100		100	
Негативна предиктивна стойност	97.1	83.8 – 99.5	82.9	75.1 – 88.6
Точност на метода	97.9	88.7 – 99.9	84.7	71.1 – 93.6

Дискусия

Това проучване потвърждава значителното предимство в чувствителността и точността на метода течна биопсия от БАЛ спрямо течна биопсия от периферна кръв (92,3% срещу 41,6%). Този факт прави резултатите от БАЛ сравними с тези от тъканните проби. Висока чувствителност на БАЛ е установена и в други проучвания, но не е съпоставена с чувствителността на метода от периферна кръв (3,4). Високата чувствителност на БАЛ може да бъде обяснена с наличието на клетъчни остатъци в локализирана област в белите дробове в резултат на апоптоза и некроза на туморната тъкан (5, 6). Изолирането на EGFR мутации от БАЛ в настоящото проучване, които не са установени в съответстващия хистологичен препарат, също са в подкрепа на хипотезата за туморната хетерогенност.

Освен високата чувствителност на метода от БАЛ, предимство е и едноетапното провеждане – хистологичните проби и БАЛ се вземат едновременно и лаважът се съхранява до необходимост от допълнително изследване при температура от -10 °C. По този начин се избягва проблемът с краткия полуживот (1) на свободните туморни ДНК – замразените проби с БАЛ могат да бъдат подложени на генетичен анализ до 12 месеца след вземане.

Заклучение

Изследването на EGFR мутационен статус от БАЛ при пациенти с белодробен аденокарцином е едноетапен метод с висока чувствителност, лесно приложим и с допълваща информативна стойност по отношение на туморната хетерогенност. Поради тези предимства е възможно в бъдеще да се наложи като стандарт при определяне на терапевтичното поведение при пациенти с аденокарцином.

Финансирането на проучването е осигурено по програма "Грант 2019" на Медицински университет София с идентификатор Д-72/23.04.2019.

Table 1. Sensitivity and specificity of BAL and blood plasma liquid biopsy in the assessment of EGFR mutation status in patients with primary lung adenocarcinoma.

	Liquid biopsy - BAL		Liquid biopsy - blood plasma	
	%	95% CL	%	95% CL
Sensitivity	92.3	63.9 – 99.8	41.6	15.1 – 72.3
Specificity	100		100	
Positive predictive value	100		100	
Negative predictive value	97.1	83.8 – 99.5	82.9	75.1 – 88.6
Accuracy of the method	97.9	88.7 – 99.9	84.7	71.1 – 93.6

Discussion

This study confirms the significant advantage in the sensitivity and accuracy of the BAL liquid biopsy method over the peripheral blood liquid biopsy (92.3% vs. 41.6%). This makes the results from BAL liquid biopsy comparable to those from tissue samples. A high sensitivity of BAL has been found also in other studies, but it has not been compared with the sensitivity of the peripheral blood liquid biopsy method (3,4). The high sensitivity of BAL can be explained by the presence of cellular residues in a localized area in the lungs as a result of apoptosis and necrosis of tumor tissue (5, 6). The isolation of EGFR mutations from BAL in the present study, which was not found in the corresponding histological specimen, also supports the hypothesis of tumor heterogeneity.

In addition to the high sensitivity of the BAL liquid biopsy, an advantage in our study is the simultaneous collection of histological samples and BAL. The BAL samples were stored until the need for additional examination at a temperature of -10 ° C. This avoids the problem of the short half-life (1) of free tumor DNA – frozen BAL samples can be subjected to genetic analysis up to 12 months after collection.

Conclusion

The assessment of EGFR mutation status from bronchoalveolar lavage (BAL) in patients with primary lung adenocarcinoma is a one-step method with high sensitivity, easy to apply in clinical practice, and with additional informative value in terms of tumor heterogeneity identification. Because of these advantages, BAL liquid biopsy may become in the future a standard in determining therapeutic management in patients with lung adenocarcinoma.

Funding for the study is provided under the program "Grant 2019" of the Medical University of Sofia with identifier D-72/23.04.2019.

Книгопис:

References:

1. Rolfo C, Mack PC, Scagliotti GV, et al. Liquid Biopsy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): A Statement Paper from the IASLC. J Thorac Oncol 2018;13:1248-68.

2. Leung F, Kulasingam V, Diamandis EP, et al. Circulating Tumor DNA as a Cancer Biomarker: Fact or Fiction? Clin Chem 2016;62(8):1054-60.

3. Park S, Hur J, Lee K, et al. Assessment of EGFR mutation status using cell-free DNA from bronchoalveolar lavage fluid. CCLM 2017;55(10):1489-95.

4. Buttitta F, Felicioni L, Del Grammastro M, et al. Effective assessment of EGFR mutation status in bronchoalveolar lavage and pleural fluids by next-generation sequencing. Clin Cancer Res 2013;19:691–8.

5. Jahr S, Hentze H, Englisch S, et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. Cancer Res 2001;61:1659–65.

6. Stroun M, Lyautey J, Lederrey C, Olson-Sand A, Anker P. About the possible origin and mechanism of circulating DNA apoptosis and active DNA release. Clin Chim Acta 2001;313:139–42.

original articles

SENSITIVITY AND SPECIFICITY
OF BRONCHOALVEOLAR LAVAGE
AND BLOOD PLASMA
LIQUID BIOPSY ...

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

Кореспонденция

Д-р Евгени Меков, дм
УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ ЕАД
Бул. „Акад. Иван Гешов“ 15, София

Correspondence

Evgeni Mekov, MD, PhD
UMHAT 'Sv. Ivan Rilski'
15 'Acad. Ivan Geshov' Blvd.
Sofia, Bulgaria

e-mail:

Evgeni.mekov@gmail.com

РОЛЯ НА LDH В ДИАГНОСТИЧНИЯ ПРОЦЕС ПРИ ПЛЕВРАЛНИ ИЗЛИВИ С НЕЯСНА ЕТИОЛОГИЯ

Т. Михалова¹, Е. Меков¹, Н. Янев², Й. Ямакова³, Р. Петков¹

Медицински университет – София:

¹ Клиника за лечение на неспецифични белодробни болести и фтизиатрия, УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ ЕАД

² Бронхологично отделение, УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ ЕАД

³ КАИЛ, УМБАЛ „Александровска“ ЕАД

Резюме

Плевралният излив може да бъде клинична изява на голям брой бенигнени и малигнени заболявания. Диагностичният процес при наличен плеврален излив е насочен основно към бързо и минимално инвазивно достигане до окончателна клинична диагноза при конкретния пациент, която да определи предприемане на адекватното терапевтично поведение. Параметърът лактат дехидрогеназа (LDH) може да бъде полезен в диагностиката на плеврални изливи с неясна етиология и да ориентира клинициста за необходимите последващи диагностични интервенции. Настоящата статия разглежда резултатите от представени случаи от собствено клинично проучване, при което е тестван маркерът LDH в плеврална течност, като са разгледани неговите стойности при малигнени и бенигнени заболявания с плеврално ангажиране, неговата чувствителност, специфичност и акуратност.

Ключови думи: плеврален излив, LDH, биохимично изследване, критерии на Light

ROLE OF LDH IN THE DIAGNOSTIC PROCESS IN PLEURAL EFFUSIONS OF UNKNOWN ETIOLOGY

T. Mihalova¹, E. Mekov¹, N. Yanev², Y. Yamakova³, R. Petkov¹

Medical University of Sofia:

¹ Clinic for Treatment of Non-specific Lung Diseases and Tuberculosis,
UMHAT "St. Ivan Rilski"

² Department for Bronchology, UMHAT "St. Ivan Rilski"

³ Clinic for Anesthesiology and Intensive Care, UMHAT "Alexandrovska"

Abstract

Pleural effusion can be a clinical manifestation of a wide variety of benign and malignant diseases. The diagnostic process in the presence of a pleural effusion is focused mainly on the rapid and minimally invasive achievement of a definitive clinical diagnosis in the particular patient, which subsequently determines the undertaking of an adequate therapeutic behavior. The lactate dehydrogenase (LDH) parameter may be useful in the diagnosis of pleural effusions of unknown etiology and guide the clinician for the necessary follow-up diagnostic interventions. The current article considers the results of presented cases from our own clinical trial, which tested the marker LDH in pleural fluid, examining its values in malignant and benign diseases with pleural involvement, its sensitivity, specificity and accuracy.

Keywords: pleural effusion, LDH, biochemical tests, Light's criteria

Въведение

Плевралният излив може да съпътства голямо разнообразие от бенигнени и малигнени патологични процеси на белите дробове, плеврата, други интра- и екстраторакални органи, както и системни възпалителни заболявания. За да бъде последващото терапевтично поведение правилно, е важно диагностичният процес да протече в насока своевременно достигане до акуратната окончателна диагноза (1). Познанията за различните параметри на плевралната течност от нейното биохимично и цитологично изследване, както и наличните анамнестични и клинични данни при пациента, са в състояние да подпомогнат клинициста в около 75-78% от случаите при изясняването на произхода на неясен плеврален излив (2). Въпреки всички диагностични усилия, в около 10-20% от случаите етиологията на плевралния излив остава неясна (1).

LDH при плеврален излив с неясна етиология

Честотата на патологичното състояние „неясен плеврален излив“ и необходимостта от диагностицирането му е в основата на множество клинични проучвания и разработване на различни алгоритми на поведение. Задължителен елемент от диагностичния процес е извършването на торакоцентеза с оглед получаване на плеврална течност за биохимично, микробиологично, цитологично и имунологично изследване (3). Макар и с минимално инвазивен характер, торакоцентезата също крие рискове за пациента, поради което трябва да бъде предприемана когато е налице достатъчно за безопасното ѝ изпълнение минимално количество акумулирана течност в плевралната кухина (поне 10mm отсояване на плевралните листове при ултразвуково изследване на гръдния кош (1)), и при липсващи противопоказания при пациента от страна на коагулационния, сърдечния или белодробния статус. Уточняването на етиологията е задължително при всички пациенти, при които торакоцентезата е показала ексудативен излив. В някои случаи диагнозата може да бъде доста трудна и да наложи използването на различни допълнителни диагностични тестове, дори предприемане на интервенционално биопсично изследване. Важна за достигането до окончателната диагноза е съвкупността от получените резултати от изследванията на плевралната течност, а не отделният параметър от даден тест сам по себе си. За да бъдат избегнати диагностични грешки и евентуалното започване на грешно лечение, интерпретацията на изследванията винаги трябва да се извършва в контекста на клиничната картина, анамнестичните и физикалните данни (3).

Един от най-широко използваните алгоритми за поведение с цел диагноза при плеврални изливи е този на Light et al., своеобразен „златен стандарт“, публикуван през 1972 г., актуален и в наши дни. Light et al.

Introduction

A pleural effusion can accompany a wide variety of benign and malignant pathological processes of the lungs, pleura, other intra- and extrathoracic organs, as well as systemic inflammatory diseases. In order for the subsequent therapeutic behavior to be correctly implemented, it is important that the diagnostic process proceeds in the direction of reaching the accurate final diagnosis in time (1). The knowledge of the various parameters of pleural fluid samples for its biochemical and cytological examination, as well as the available anamnestic and clinical data from the patient, are able to assist the clinician in about 75-78% of cases in clarifying the origin of unknown pleural effusion (2). Despite all diagnostic techniques, in about 10-20% of cases the cause of the pleural effusion remains unclear (1).

LDH in pleural effusions of unknown etiology

The frequency of the pathological condition "pleural effusion of unknown origin" and the necessity to diagnose it forms the basis of many clinical trials and the development of different algorithms of behavior. An obligatory element of the diagnostic process is the performance of thoracentesis in order to obtain pleural fluid sample for biochemical, microbiological, cytological and immunological examination (3). Although minimally invasive, thoracentesis also poses risks to the patient, so it should be undertaken when there is a minimum amount of accumulated fluid in the pleural cavity (at least 10 mm detachment between parietal and visceral pleura in chest ultrasound examination (1)) and in the absence of contraindications for the patient from the coagulation, cardiac or pulmonary status. Clarification of the etiology is mandatory in all patients in whom thoracentesis has shown an exudative pleural effusion. In some cases, the diagnosis can be quite difficult and require the use of various additional diagnostic tests and even an interventional biopsy. Important for reaching the final diagnosis is the total set of the results obtained from the pleural fluid examinations, and not the individual parameter of a test in itself. In order to avoid diagnostic errors and the possible initiation of an incorrect treatment, the interpretation of the studies should always be performed in the context of the clinical picture, anamnestic and physical data (3).

One of the most widely used algorithms for the diagnosis of pleural effusions is the one of Light et al., a kind of "a gold standard", published in 1972, and still relevant today. Light et al. developed diagnostic biochemical criteria for

разработват диагностични биохимични критерии за разграничаване на ексудат от трансудат и отдиференциране на различните видове ексудати един от друг (табл. 1) (4). За критериите на Light et al. са съобщени чувствителност от 98% и специфичност от 74% (5), но по-късно направени проучвания като това на Heffner et al. се провалят в опитите да демонстрират по-точен тест или комбинация от тестове, които да превъзхождат въпросните критерии по диагностична точност (6). Опорен пункт в този алгоритъм заемат показателите белтък и лактат дехидрогеназа (LDH) в плевралната течност, съотнесени към стойностите на същите параметри в серума. Прави впечатление обаче, че LDH може да бъде и самостоятелен критерий за ексудативен характер на течността, когато стойността му в плевралния пунктат е повече от 2/3 от горната граница на референтните нива в серума. Стойности на LDH в този завишен диапазон са наблюдавани от Light често при малигнени плеврални изливи и верификацията на този маркер с голяма вероятност според Light би могла да предположи малигнен характер на излива (5).

Табл. 1. Критерии на Light за ексудативен плеврален излив (5). За отдиференциране на ексудативна от трансудативна по характер плеврална течност е достатъчно да бъде установен поне един от изброените 3 критерия (12).

ПАРАМЕТЪР И ДИАГНОСТИЧНА СТОЙНОСТ
Белтък в плеврална течност / белтък в серум > 0.5
LDH в плеврална течност/ LDH в серум > 0.6
LDH в плеврална течност > 2/3 от горната граница на нормата за LDH в серум

LDH като показател при малигнени плеврални изливи е съобщен за пръв път още през 1958 г. Тогава са установени много високи нива на ензима в плеврални изливи, съдържащи малигнени клетки, като тези нива многократно са надвишавали серумните (7). Впоследствие е установено, че LDH-активността се повишава при всички възпалителни състояния на плеврата – в т.ч. парапневмонични, туберкулозни и системни съединително-тъканни (8,9). Дори е изказано предложение през 1969 г. от Chandrasekhar et al. LDH да се прилага като по-чувствителен маркер от белтъка в плевралната течност за отдиференциране на ексудати от трансудати (10). При тестване на показателя белтък в плеврален излив/ белтък в серум, както и на по-късно предложения подобен маркер албумин в плевралния излив/албумин в серума, същите демонстрират много по-ниска чувствителност за отдиференциране на ексудати и резултат в некоректна класификация на голям брой от изследваните пунктати (11,12). В обобщение можем да констатираме, че определянето на една плеврална течност като ексудативна по характер с помощта на възможно най-малък брой надеждни биохимични критерии би могло да оправдае впоследствие необходимост-

distinguishing an exudate from a transudate and differentiating the variety types of exudates from each other (table 1) (4). For the criteria of Light et al. sensitivity of 98% and specificity of 74% were reported (5), but later performed studies such as that one of Heffner et al. failed in their attempts to demonstrate a more accurate test or a combination of tests that could exceed in diagnostic accuracy the Light's criteria (6). The basis of this algorithm are the indicators protein and lactate dehydrogenase (LDH) in the pleural fluid, divided to the values of the same parameters in the serum. It is remarkable, however, that LDH can also be an independent criterion for the exudative nature of the effusion when its value at the pleural fluid is more than 2/3 of the upper limit of the serum reference levels. LDH values in this elevated range have been frequently observed by Light in malignant pleural effusions, and the verification of this marker is likely to suggest a malignant nature of the effusion (5).

Table 1. Light's criteria for exudative pleural effusion (5). To differentiate between exudative and transudative pleural fluid, it is sufficient to establish at least one of the 3 criteria listed in the table (12).

PARAMETER AND DIAGNOSTIC VALUE
Protein in pleural fluid / protein in serum > 0.5
LDH in pleural fluid / LDH in serum > 0.6
Pleural fluid LDH > 2/3 of the upper limit of serum LDH

LDH as a parameter in malignant pleural effusions was first reported in 1958. Very high levels of the enzyme were then found in pleural effusions containing malignant cells, in values many times higher than the serum levels (7). Subsequently, it was found that LDH-activity was increased in all inflammatory conditions of the pleura – including parapneumonic, tuberculous and systemic connective tissue disorders (8,9). A proposal was even made in 1969 by Chandrasekhar et al. that LDH should be used as a more sensitive marker than protein in pleural fluid for the differentiation of exudates from transudates (10). When testing the pleural effusion protein / serum protein ratio, as well as the later proposed similar marker albumin in pleural effusion / serum albumin ratio, the same showed much lower sensitivity for differentiation of exudates and resulted in incorrect classification of a large number of the studied pleural fluids (11,12). In summary, it can be concluded that the determination of a pleural fluid as exudative in nature with the least possible number of reliable biochemical criteria could justify the need for more invasive interventions in order to reach a final diagnosis in time.

та от евентуално предприемане на по-инвазивни интервенционални мероприятия с оглед навременно достигане до окончателната диагноза.

Материал и методи

За периода 01.05.2016 г. – 01.05.2019 г. в проучване, базирано в МБАЛББ „Света София“ ЕАД, бяха обхванати общо 271 пациента с патология, ангажираща висцерална и/или париетална плевра, от тях 168 мъже и 103 жени, с или без наличие на съпътстващ плеврален излив. Възрастта на пациентите беше от 24 г. до 96 г., средна за мъжете – $66.51 \pm SD = 11.35$ г., средна за жените – $65.78 \pm SD = 12.55$ г. При пациентите бяха извършени ехография на торакс и интервенционални манипулации под ехографски контрол: торакоцентеза и/или ехографски-контролирана режещ тип иглена биопсия на торакална лезия.

Статистически методи: В анализа на данните се приложиха: Дескриптивна статистика; Графичен анализ с визуализация на посочените резултати; Оценка на разпределението на вариационните (количествени) признаци посредством Shapiro – Wilk W – тест (при $n < 50$) и Kolmogorov – Smirnov – тест (при $n > 50$); Статистика за проверка на вероятностите; Статистиката за проверка на хипотези: за вариационни признаци с нормално разпределение – Student t – тест; за признаците с разпределение, различно от нормалното – непараметрични методи на Kruskal-Wallis тест и Mann-Whitney rank U – тест. X2 тестът се използва за проверка на хипотези за наличие на връзка при категорийни признаци. За изчисляване на релативен риск и odds ratio бяха използвани “two by two” contingency tables с последваща обработка с Fisher's exact test за неголеми групи, подлежащи на изчисление, при които се търсеше статистически значима разлика по отношение на експресиран маркер. За изчисляване на показателите чувствителност (Se), специфичност (Sp), позитивна и негативна предиктивна стойност (PPV и NPV) и акуратност (Acc) използвахме общоприетите статистически формули. Стойности на $p < 0.05$ се приемаха за статистически сигнификантни (13).

Резултати

При обхванатите в настоящето проучване пациенти се извършиха общо 144 плеврални пункции на 126 от тях, предимно с диагностичен характер, в избрани случаи – отбрементелна торакоцентеза. Средно това правеше по 1.14 торакоцентези/пациент, тъй като някои от пациентите бяха пунктирани неколкократно.

Проследяването на преживяемостта на пациентите беше осъществено на базата на данните за наличието на здравни осигуровки и заличаване на лицето от регистъра на Националната осигурителна агенция поради смърт при справка чрез доброволно предоставените от пациентите лични данни (в

Materials and methods

For the period 01.05.2016 - 01.05.2019 a study based in MHATPD “St. Sophia” was implemented, including a total of 271 patients (168 men and 103 women respectively) with pathology involving visceral and / or parietal pleura, with or without a concomitant pleural effusion. The age of the patients was from 24 up to 96 years, average for men – $66.51 \pm SD = 11.35$ years, average for women – $65.78 \pm SD = 12.55$ years. Patients underwent thoracic ultrasound examination and interventional manipulations under ultrasound control: thoracentesis and / or ultrasound-controlled cutting type needle biopsy of thoracic lesions.

Following **statistical methods** were applied in the analysis of the data: Descriptive statistics; Graphic analysis with visualization of the indicated results; Estimation of the distribution of variational (quantitative) traits using Shapiro – Wilk W – test (when $n < 50$) and Kolmogorov – Smirnov – test (when $n > 50$); Probability statistics; Hypothesis testing statistics: for variational traits with a normal distribution the Student t – test was applied; and for traits with a distribution other than normal non-parametric methods like Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney rank U – test were used. The X2 test was used to check hypotheses for a relationship in categorical characteristics. “Two by two” contingency tables were used to calculate relative risk and odds ratio, followed by Fisher's exact test for small groups to be calculated, in which it was looked for a statistically significant difference in the expressed marker. We used generally accepted statistical formulas to calculate the indicators sensitivity (Se), specificity (Sp), positive and negative predictive value (PPV and NPV) and accuracy (Acc). Values of $p < 0.05$ were considered as statistically significant (13).

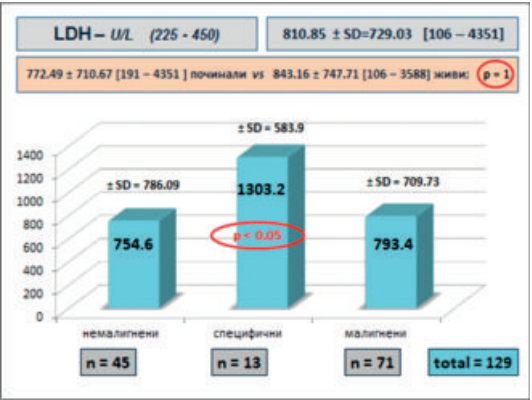
Results

To the patients included in the present study, a total of 144 pleural punctures were performed on 126 of them, mostly of a diagnostic nature, in selected cases for therapeutic purposes. On average, the calculated range was 1.14 thoracentesis / patient, as some patients were punctured several times.

The monitoring of the patient survival rate was realized on the basis of the data for the presence of health insurance and removal of the person from the register of the National Insurance Agency due to death on reference made through the voluntarily provided personal data (in this case unique personal identification

случая ЕГН), като е извършено 6 месеца след финалната дата на проучването при пълна анонимност на получената информация и разрешение за изпълнение на проучването от етичния комитет на МБАЛББ „Св. София“ ЕАД. Установи се, че към датата на проследяване на статуса на пациентите „жив/починал“ 151 души бяха починали и 120 души бяха живи. Починали бяха общо 95 мъже и 56 жени, на средна възраст съответно 67.31 ± 9.5 г. и 67.48 ± 12.51 г. Преживели бяха общо 73 мъже и 47 жени, на средна възраст съответно 65.47 ± 13.38 г. и 63.74 ± 12.43 г.

Фиг. 1. Стойности на LDH в изследваните плеврални пункти на различните групи болни в проучването с дадени средни стойности и стандартни отклонения (13).



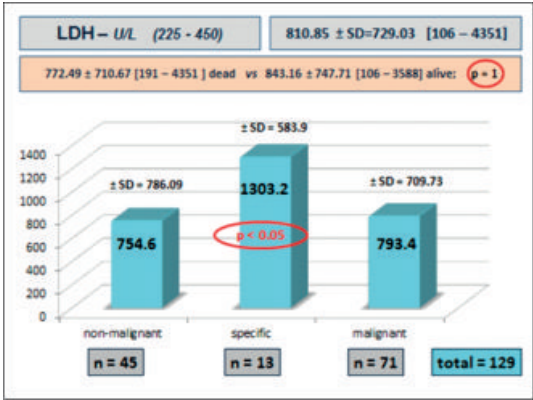
Параметърът LDH беше изследван в плевралния излив при 129 торакоцентези на общо 120 пациента от всички 126 пунктирани в проучването (фиг. 1), със средна стойност $810.84 \pm SD=729.03$ U/L [106 – 4351]. Средната стойност при починалите 65 пациента с извършени общо 70 пункции беше $843.16 \pm SD=747.71$ U/L [106 – 3588]. При преживелите 55 пациента с изпълнени 59 торакоцентези средното ниво беше $772.49 \pm SD=710.67$ U/L [191 – 4351]. При последващо директно сравнение с Mann-Whitney U – test не се установи статистически значима разлика в нивата за LDH при преживели и починали ($p = 1$, $p > 0.05$), което означаваше, че бяха налице заболявания сред изследваните в проучването 271 души (в конкретния случаи споменатите 120 пациента),

Табл. 2. LDH в плевралната течност при различните патологични процеси с плеврално ангажиране (13).

LDH при бенигни неспецифични заболявания (n = 45 пунктата; 3 пациента загиват)	LDH при бенигнен специфичен (ТБК) процес (n = 13 пунктата; 5 пациента загиват)	LDH при доказан малиген процес (n = 63 пунктата; 50 пациента загиват)	LDH при недоказан малиген процес (n = 8 пунктата; 7 пациента загиват)
средно 754.5556 U/L ± SD = 786.09	средно 1303.2307 U/L ± SD = 583.9	средно 768.484 U/L ± SD = 709.12	средно 986.5 U/L ± SD = 731.56
		средно 793.4 U/L след обединяване с недоказаните ± SD = 709.73	
средно 840.429 U/L при починалите ± SD = 863.575	средно 1193 U/L при починалите ± SD = 575.599	средно 802.88 U/L при починалите ± SD = 778.057	средно 971.143 U/L при починалите ± SD = 788.776
		средно 823.544 U/L след обединяване с недоказаните ± SD = 774.252	

number), achieved 6 months after the final date of the study in complete anonymity of the information received and after permission for accomplishment from the ethics committee of the MHATPD “St. Sophia”. It was found that at the date of follow-up of the “alive / dead” patient status, 151 people had died and 120 were alive. A total of 95 men and 56 women died, with a mean age of 67.31 ± 9.5 years, and 67.48 ± 12.51 years respectively. A total of 73 men and 47 women survived, with a mean age of 65.47 ± 13.38 years, and 63.74 ± 12.43 years respectively.

Fig. 1. LDH values in the pleural effusions of the different groups of patients in the study with given mean values and standard deviations (13).



The LDH parameter was examined in the pleural fluid in 129 thoracentesis in a total of 120 patients out of all 126 punctured in the study (fig. 1), with the average value of $810.84 \pm SD = 729.03$ U/L [106 - 4351]. The mean value of the 65 patients who died, with a total of 70 punctures performed, was $843.16 \pm SD = 747.71$ U/L [106 - 3588]. In the 55 patients who survived with 59 thoracentesis realized, the mean value was $772.49 \pm SD = 710.67$ U/L [191 - 4351]. A subsequent direct comparison with the Mann-Whitney U-test did not show a statistically significant difference in the LDH levels between survived and dead patients ($p = 1$, $p > 0.05$), which meant that there were diseases among the 271 people included in the study (in this case in the above mentioned 120 patients), which led

Table 2. LDH in pleural fluid in various pathological processes with pleural involvement (13).

LDH in benign non-specific diseases (n = 45 punctures; 3 patients died)	LDH in benign specific (TB) process (n = 13 punctures; 5 patients died)	LDH in a proven malignant process (n = 63 punctures; 50 patients died)	LDH in an unproven malignant process (n = 8 punctures; 7 patients died)
average 754.5556 U/L ± SD = 786.09	average 1303.2307 U/L ± SD = 583.9	average 768.484 U/L ± SD = 709.12	average 986.5 U/L ± SD = 731.56
		average 793.4 U/L after incorporation with the unproven ± SD = 709.73	
average 840.429 U/L in the dead patients ± SD = 863.575	average 1193 U/L in the dead patients ± SD = 575.599	average 802.88 U/L in the dead patients ± SD = 778.057	average 971.143 U/L in the dead patients ± SD = 788.776
		average 823.544 U/L after incorporation with the unproven ± SD = 774.252	

които водеха до повишаване на LDH, но не и до фатален изход. Потърсихме обяснение за тези факти, разглеждайки подробно какво се случваше с въпросния параметър в отделните групи пациенти (табл. 2): с бенигнени неспецифични заболявания; специфичен (туберкулозен) процес; доказан малигнитет и болни, при които въпреки всички диагностични усилия не се доказваше малигнено заболяване при силни клинични и образно – диагностични съмнения за наличие на такова ($n=8$ пациента, от които 7 впоследствие загинали).

Установи се при последвалата обработка с Mann-Whitney U – test статистически значима разлика между нивата на LDH при пациентите с неспецифични доброкачествени заболявания, сравнени с тези при пациенти със специфичен (туберкулозен) процес ($p = 0.00194$), в полза на завишени нива при туберкулозните. Наблюдаваше се и статистически значима разлика между нивата при специфични и малигнени плеврални изливи ($p = 0.00288$) в полза отново на по-високите нива при туберкулозните изливи. Нямаше обаче статистически значима разлика в нивата на LDH при общо сравнение между бенигнените неспецифични и малигнените плеврални изливи (при средни стойности както следва 754.56 U/L vs 793.4 U/L , $p = 0.3843$, $p > 0.05$). При интерпретиране на данните за немалигнени заболявания с плеврално ангажиране се оказва, че туберкулозният процес е една от доброкачествените причини за високи стойности на LDH.

Данните от нашето проучване не противоречаха на други подобни.

При детайлен анализ вътре в групите между стойностите на живи vs починали нямаше статистически значима разлика: в групата с бенигнени заболявания ($p = 0.75656$, $p > 0.05$, като групата починали беше малка), в групата със специфичните заболявания ($p = 0.9442$, $p > 0.05$) и в групата с малигнени заболявания ($p = 0.72634$, $p > 0.05$, като тук групата на живите в случая беше твърде малка).

Нямаше статистически значима разлика и при сравнение между LDH на починалите с бенигнени неспецифични заболявания vs специфични, специфични vs малигнени и доброкачествени vs малигнени (съответно $p = 0.42952$; $p = 0.1141$; $p = 0.6818$, $p > 0.05$ и в трите случая). Изчислен релативният риск за смъртност при завишена LDH беше $RR = 3.9375 (>1)$ при odds ratio $OR = 0.625 (<1)$, като разликата между починалите и преживелите в настоящето проучване не беше статистически значима ($p = 0.3791$, $p > 0.05$ с Fisher's exact test).

Общо 95 пациента демонстрираха в плевралния пунктат $LDH > 2/3$ от горната граница за серума (т.е. $> 300 \text{ U/L}$, при референтни стойности за LDH в лабораторията на МБАЛББ „Св. София“ ЕАД $225-450 \text{ U/L}$), като 50 от тях бяха починали. Пациентите с $LDH < 300 \text{ U/L}$ бяха 25, от които 15 впоследствие са починали. Използването на LDH като самостоятелен крите-

to increased LDH, but not to a fatal outcome. We searched an explanation for these results, looking in detail at what happened to the parameter in question in the different groups of patients (table 2): with benign non-specific diseases; specific (tuberculous) process; proven malignancy and patients in whom, despite all diagnostic efforts, no malignant disease was demonstrated but with strong clinical and imaging-diagnostic suspicions of its presence ($n = 8$ patients, of whom 7 subsequently died).

The subsequent processing with the Mann-Whitney U – test revealed a statistically significant difference between LDH levels in patients with non-specific benign diseases compared to those in patients with a specific (tuberculous) process ($p = 0.00194$), in favor of elevated levels in tuberculosis. There was also a statistically significant difference observed between the levels in specific and malignant pleural effusions ($p = 0.00288$) in favor again of higher levels in tuberculous effusions. However, there was no statistically significant difference in the LDH levels in the overall comparison between benign non-specific and malignant pleural effusions (average levels as follows 754.56 U/L vs 793.4 U/L , $p = 0.3843$, $p > 0.05$). The interpretation of the data for non-malignant diseases with pleural involvement found that the tuberculosis process is one of the benign causes of high LDH values.

The data from our study did not contradict those reported in other similar studies.

In a detailed analysis inside the groups between the values of alive vs dead patients there was no statistically significant difference: in the group with benign diseases ($p = 0.75656$, $p > 0.05$, the group of dead patients was small), in the group with specific diseases ($p = 0.9442$, $p > 0.05$), and in the group with malignant diseases ($p = 0.72634$, $p > 0.05$, as here the group of surviving patients in this case was too small).

There was no statistically significant difference when comparing the LDH levels of patients who died from benign non-specific diseases vs specific diseases, specific vs malignant and benign vs malignant pathologies (respectively $p = 0.42952$; $p = 0.1141$; $p = 0.6818$, $p > 0.05$ in all three cases). The relative risk of mortality at elevated LDH values was calculated $RR = 3.9375 (>1)$ at odds ratio $OR = 0.625 (<1)$, demonstrating no statistically significant difference between dead and alive people in the current study ($p = 0.3791$, $p > 0.05$ with Fisher's exact test).

A total number of 95 patients demonstrated in the pleural fluid $LDH > 2/3$ of the upper limit for serum (i.e. $> 300 \text{ U/L}$, at reference values for LDH in the laboratory of MHATPD "St. Sophia" $225 - 450 \text{ U/L}$), 50 of whom had died. There were 25 patients with $LDH < 300 \text{ U/L}$, of whom 15 had subsequently died. The use of LDH as an independent criterion for differentiating an exudate

рий за отдиференциране на ексудат от трансудат успешно верифицира пунктатите като ексудативни при 95 пациента от общо 120. В 7 случая плевралните изливи бяха адекватно определени като трансудати (потвърдени с критериите на Light), а при 18 бяха грешно определени като трансудати. Самостоятелно приложение на критерият $LDH > 2/3$ горната граница за серума, като маркер за верифициране на ексудат, в нашето проучване установи: сензитивност = 84.1%, специфичност = 100%, акуратност = 85%, позитивна предсказваща стойност = 100% и негативна предсказваща стойност = 28% (13).

from a transudate successfully verified pleural fluids as exudative in 95 patients out of 120. In 7 cases pleural effusions were adequately defined as transudates (confirmed by Light's criteria), and in 18 they were misdiagnosed as transudates. The substantive application of the criterion $LDH > 2/3$ of the upper limit for serum as a marker for exudate verification in our study found: sensitivity = 84.1%, specificity = 100%, accuracy = 85%, positive predictive value = 100% and negative predictive value = 28% (13).

original articles

ROLE OF LDH IN THE DIAGNOSTIC PROCESS IN PLEURAL EFFUSIONS OF UNKNOWN ETIOLOGY

Thoracic Medicine
Volume XIII, Issue 1
March 2024

Книгопис:

References:

1. Karkhanis VS, Joshi JM. Pleural effusion: diagnosis, treatment and management. Open Access Emergency Medicine 2012; 4:31-52.
2. Collins TR, Sahn SA. Thoracocentesis: clinical value, complications, technical problems and patient experience. Chest 1987; 91:817-22.
3. Т. Михалова, Р. Петков. Плеврален излив при ревматоиден артрит – в търсене на диагнозата. Торакална медицина, Том X, 2018; 1:40-59.
4. Light RW. Pleural Effusion, N Engl J Med. 2002; 346:1971-7.
5. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC Jr. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. Ann Intern Med 1972; 77: 507-513.
6. Heffner JE, Brown LK, Barbieri C. Diagnostic value of tests that discriminate between exudative and transudative pleural effusions. Chest 1997; 111:970-980.
7. Wroblewski F, Wroblewski R. The clinical significance of lactate dehydrogenase activity of serous effusions. Ann Intern Med 1958; 48:813-22.
8. Kirkeby K, Prydz H. Lactic dehydrogenase activity in pleural and peritoneal effusions. Scand J Clin Lab Invest 1959; 11:185-9.
9. Erickson RJ. Lactate dehydrogenase activity of effusion fluids as an aid to differential diagnosis. JAMA 1961; 176:794-6.
10. Chandrasekhar AJ, Palatao A, Dubin A et al. Pleural fluid lactic acid dehydrogenase activity and protein content. Arch Intern Med 1969; 123:48-50.
11. Romero-Candeira S, Hernandez L. The separation of transudates and exudates with particular reference to the protein gradient. Curr Opin Pulm Med 2004; 10:294-8.
12. Porcel JM, Light RW. Diagnostic Approach to Pleural Effusion in Adults. American Family Physician, Vol. 73; 7:1211-20.
13. Т. Михалова. Ултразвуково изследване в диагнозата на плевралните заболявания. Дисертационен труд, Медицински университет - София, 2021.

Кореспонденция

Гл. ас. д-р Теодора Михалова, дм
Медицински университет – София
УМБАЛ „Свети Иван Рилски“ ЕАД
София, бул. „Акад. Иван Гешов“ №17

Correspondence

Head assist. prof. Teodora Mihalova,
MD, PhD
Medical University – Sofia
UMHAT "St. Ivan Rilski"
"Acad. Ivan Geshov" Blvd. №17
Sofia, Bulgaria

e-mail:

teodora_mihalova@yahoo.com

ИЗИСКВАНИЯ КЪМ АВТОРИТЕ

За публикуване се приемат обзорни статии, оригинални статии, описание на случаи от клиничната практика и писма до редакторите.

Текстовете, таблиците и фигурите се предават в електронен ръкопис (на носител или в електронно писмо) на български и английски език, изработени с текстообработваща програма Word. Фигурите се предават във формат .tif или .jpg. Освен включени в електронния текст, фигурите трябва да се предоставят и като отделни файлове. Обемът на обзорните статии не трябва да надхвърля 15 стандартни страници, на оригиналните статии – 10 страници и на представените клинични случаи – 7 страници (до 30 реда, 60 – 66 знака на ред, формат А4).

Под заглавието на всяка публикация се посочват имената на авторите, както следва: инициал на собственото име и фамилия. Посочва се местоработата на авторите. Ако авторският колектив е от повече от една институции, имената се маркират с цифров индекс.

Всички статии задължително се придружават от резюме на български и английски език в обем до 250 думи и до 6 ключови думи.

Структурата на всяка оригинална статия задължително включва следните шест раздела: увод, цел, материал и методи, резултати, обсъждане и заключение (изводи).

Библиографията да съдържа до 40 литературни източника за обзорни статии и до 20 за оригинални статии, подредени по ред на цитиране, като имената на авторите се цитират в текста на оригинален език, а поредният номер на цитираната публикация се отбелязва с арабска цифра.

Библиографските източници се цитират по следния начин:

- цитат на статия: Автори (фамилно име, инициал на собствено име). Заглавие на статията. Заглавие на списанието (съкратено по Index Medicus), година, том, брой, страници (от-до).
- цитат на книга: Автор. Заглавие на книгата. Издателство, местоиздаване, година на издаване, страници.
- цитат на сборник: Автор. Заглавие на главата. Заглавие на сборника. Издателство, местоиздаване, година на издаване, страници.

В края на електронния ръкопис задължително се отбелязва адрес за кореспонденция, съдържащ името на първия автор, пощенски и електронен адрес, телефонен и факс номер. Авторите прилагат декларация, че предоставения материал не е публикуван или предаден за печат в друго печатно издание.

Електронни ръкописи не се връщат на авторите. Редакцията не изплаща хонорари.

Материалите се изпращат на адрес:

Проф. д-р Венцислава Пенчева
УМБАЛ "Александровска"
Медицински университет, София
e-mail: toracal.med@gmail.com
т. 0888 978 703

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The Thoracic Medicine is the official journal of the Bulgarian Respiratory Society. The Journal publishes papers in Bulgarian and in English including reviews, original articles, case presentations, and letters to the editor.

Text, tables and figures should be submitted in electronic manuscript (the copy or electronic mail) in Bulgarian and in English, made with a word processing program Word. Figures should be submitted in the format, .tif or .jpg. Furthermore, included in electronic text, figures should be provided as separate files.

The volume of review articles should not exceed 15 standard pages, of original articles – 10 pages, and submitted clinical cases – 7 pages (30 lines, 69 – 66 characters per line, A4).

Under the title of each publication the names of the authors as follows: initial of the first name and surname. Institution of work of the authors must be indicated. If authors are from more than one institution, the names are marked with a number index.

All publications must be accompanied by a summary in Bulgarian and in English which is restricted to 250 words, and up to 6 keywords.

The structure of each article must include the following six sections: introduction, aim, material and methods, discussions and conclusions.

References should include up to 40 literature sources for reviews and up to 20 for original articles, arranged in order of citation, with authors names quoted as the original title, and reference number should be marked with Arabic numeral.

References should be quoted as follows:

- article quote: Author (last name, first name initials). Article title. Journal title (abbreviated by Index Medicus). Year. Volume. Issue. Pages (from-to)
- book quote: Author. Book title. Publishing house. Place of publishing. Year of publishing. Pages.
- monography quote: Author. Chapter title. Monography title. Publishing house. Place of publishing. Year of publishing. Pages.

At the end of the manuscript a corresponding address is required, containing first author's name, post code and e-mail, telephone and fax number. Authors should attach a declaration, that the provided article is not published or submitted for printing in other journal.

Manuscripts won't be sending back to authors. The publisher doesn't pay honorarium.

Submissions shall be sent to:

Prof. Dr. Ventsislava Pencheva
UMHAT "Alexandrovska"
Medical University, Sofia
e-mail: thoracic.med@gmail.com
p. +359 888 978 703

ИЗДАТЕЛ

Българско дружество
по белодробни болести
<http://brsnet.bg/>

ГЛАВЕН РЕДАКТОР

Проф. Венцислава Пенчева, дм,
Катедра по пропедевтика
на вътрешните болести,
Медицински Университет – София
София, България

РЕДАКЦИОНЕН СЪВЕТ

Проф. д-р Диана Петкова
Доц. д-р Владимир Ходжев
Доц. д-р Явор Иванов
Проф. д-р Росен Петков
Проф. д-р Благой Маринов
Проф. д-р Ваня Юркова
Доц. д-р Милена Енчева
Доц. д-р Владимир Миланов
Д-р Кирил Палавеев
Д-р Светослав Дачев

ТЕХНИЧЕСКИ РЕДАКТОР

Нина Локмаджиева

СТИЛОВА РЕДАКЦИЯ, ТЕРМИНОЛОГИЧЕН И СЕМАНТИЧЕН КОНТРОЛ

д-р Венцислава Пенчева, д.м.

ДИЗАЙН И ПРЕДПЕЧАТ

Александър Калудов
Нира Комюникейшънс ЕООД
онлайн издание:
ISSN 3033-0165

PUBLISHER

Bulgarian Respiratory Society
<http://brsnet.bg/>

CHIEF EDITOR

Prof. Ventsislava Pencheva, MD, PhD
Department of Propedeutic
of Internal Diseases
Medical University – Sofia
Sofia, Bulgaria

ASSOCIATE EDITORS

Prof. Diana Petkova, MD, PhD
Assoc. Prof. Vladimir , MD, PhD
Assoc. Prof. Yavor Ivanov, MD, PhD
Prof. Rossen Petkov, MD, PhD
Prof. Blagoy Marinov, MD, PhD
Prof. Vanya Yurukova, MD, PhD
Assoc. Prof. Milena Encheva, MD, PhD
Assoc. Prof. Vladimir Milanov, MD, PhD
Dr. Kiril Palaveev
Dr. Svetoslav Dachev

TECHNICAL EDITOR

Nina Lockmadzhieva

STYLISTIC EDITING, TERMINOLOGICAL AND SEMANTIC CONTROL

Dr Ventsislava Pencheva, MD, PhD

DESIGN & PREPRESS

Alexander Kaludov
Nira Communications Ltd.
online:
ISSN 3033-0165

NUCALA  100 mg
mepolizumab

 **BERLIN-CHEMIE**
MENARINI

ПОЕМИ ОТНОВО ВЪЗДУХ

С ПО-МАЛКО ЕКЗАЦЕРБАЦИИ НА
АСТМАТА И ЗНАЧИТЕЛНО НАМАЛЯВАНЕ
НА УПОТРЕБАТА НА ОКС^{1,*}

Потвърдено в клинични проучвания^{1,*}

53%

Намаление на клинично
значимите екзацербации на
астма^{1,*}

50%

намаление на дневната
доза на ОКС^{1,*}

Nucala 100 mg инжекционен разтвор в предварително напълнена писалка.

Терапевтично показание: Тежка еозинофилна астма. Nucala е показан за допълващо лечение на тежка рефрактерна еозинофилна астма при възрастни, юноши и деца на възраст на и над 6 години.

Дозировка и начин на приложение: При възрастни и юноши на 12 и повече години препоръчителна доза при тежка еозинофилна астма е 100 mg меполизумаб, прилагана подкожно веднъж на всеки 4 седмици.

Предварително напълнената писалка трябва да се използва единствено за подкожно инжектиране. Nucala може да се прилага самостоятелно от пациента или може да му бъде прилаган от грижещия се за него, ако медицинският специалист реши, че това е подходящо и пациентът или грижещият се за него са обучени в техниките на инжектиране. Препоръчителните места на инжектиране за самостоятелно приложение са коремната област или бедрото. Грижещият се за пациента може също да инжектира Nucala в мишницата.

Противопоказание: Свръхчувствителност към активното вещество или към някое от помощните вещества.¹

*Проучването MENSA: сигнификантно намаление с 53% на годишната честота на клинично значими екзацербации на астмата (първична крайна точка; 95% CI 0,35-0,64; p<0,001) на 32-ра седмица при лечение с mepolizumab 100 mg спрямо placebo, прилагани подкожно като допълващи терапии веднъж на всеки 4 седмици.

Проучването SIRIUS: вероятността за намаляване на дозата на ОКС от изходно ниво до 24-та седмица е 2,39 пъти по-голяма при лечение с mepolizumab 100 mg спрямо placebo, прилагани подкожно като допълващи терапии веднъж на всеки 4 седмици (първична крайна точка; 95% CI 1,25-4,56; p=0,008). Демонстрирано е и сигнификантно намаление с 50% на дневната доза ОКС на 24-та седмица от изходно ниво при лечение с mepolizumab 100 mg спрямо placebo (една от вторичните крайни точки, представена като медиана с 95% CI 20,00-75,00; p=0,007).

ОКС, орални кортикостероиди; CI, Confidence Interval, доверителен интервал

Референции:

1. Кратка характеристика на Nucala от 10/2022 г.

GSK

Nucala е регистрирана търговска марка, която е притежание или е даден лиценз на компаниите от групата на GSK.
©2023 GSK група от компании или неин лицензополучател.
Изображенията и профилите на пациентите са само с илюстративна цел.



КХП на Nucala

Лекарствен продукт по лекарско предписание. Информация за медицински специалисти. За допълнителна информация, моля, прочетете кратката характеристика на продукта, предоставена от притежателя на разрешението за употреба ГлаксоСмитКлайн, или се обърнете към Берлин-Хеми/А.Менарини България ЕООД, бул. Цариградско шосе 90, София 1784, e-mail: bcsofia@berlin-chemie.com

Берлин-Хеми/А.Менарини България не препоръчва употребата на този лекарствен продукт по начин различен от описания в кратката характеристика на продукта.

Безплатна линия за съобщаване на нежелани лекарствени реакции: 0800 80 828

BG-NUC-01-2023-v01-vision

Дата на одобрение: Февруари 2023 г.