

## ОПТИМИЗАЦИЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ

Проф. П. В. НАРТОВ<sup>1</sup>, доц. В. А. ЯКУЩЕНКО<sup>2</sup>, доц. О. В. БОБРОВА<sup>3</sup>, Н. В. ВИННИКОВА<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Харьковская медицинская академия последипломного образования,

<sup>2</sup> Национальный фармацевтический университет, Харьков,

<sup>3</sup> Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина

**Дана сравнительная характеристика методов ранней диагностики острых гнойных бактериальных менингитов: биологического исследования цереброспинальной жидкости и сыворотки крови больных и проведения полимеразной цепной реакции на системном и локальном уровнях.**

*Ключевые слова:* гнойные бактериальные менингиты, цереброспинальная жидкость, сыворотка крови, полимеразная цепная реакция.

Актуальность исследования острых гнойных бактериальных менингитов (ГБМ) обусловлена тем, что эти тяжелые инфекционные заболевания могут приводить к летальному исходу пациентов прежде всего при несвоевременной диагностике и поздно начатом лечении [1, 2].

Ежегодно в Украине регистрируется до 2000 случаев ГБМ при уровне летальности 14% (для сравнения: в США — около 4000 случаев ГБМ и смертность от 6 до 26%). Превалирующими этиологическими агентами ГБМ у взрослого населения нашей страны являются *Streptococcus pneumoniae* и *Neisseria meningitidis*, составляющие 36% от общего количества расшифрованных случаев [3, 4].

Центральная нервная система (ЦНС) обладает уникальными анатомическими и иммунологическими характеристиками, которые играют важную роль в патогенезе и обнаружении инфекций. Возбудители ГБМ после адгезии и колонизации на слизистых оболочках верхних дыхательных путей создают бактериальный «кворум», который в последующем гематогенным, а в ряде случаев — лимфогенным путем, «прорывая» скомпрометированный гематоэнцефалический барьер, проникает в сосудистые сплетения желудочков и оболочек мозга, вызывая там гнойный воспалительный процесс. Несмотря на то что фаза бактериемии у больных ГБМ, как правило, непродолжительная, гематогенная диссеминация становится одним из важнейших механизмов распространения данной инфекции, что играет важную роль в диагностике заболевания.

С учетом этиопатогенетических механизмов данной группы заболеваний для более вероятного выявления инфекционного возбудителя ЦНС диагностическим биологическим материалом служат, прежде всего, цереброспинальная жидкость (ЦСЖ), реже — кровь больного [5, 6].

Следует отметить, что первоначальные клинические проявления ГБМ неспецифичны, а бактериологическое исследование, оставаясь «золотым стандартом» диагностики, обеспечивает этиологическую расшифровку в лучшем случае у 30–50% пациентов гнойным менингитом.

В последние десятилетия для повышения качества этиологической диагностики нейроинфекций клиницистами применяются молекулярно-генетические методы исследований, в частности полимеразная цепная реакция (ПЦР). Молекулярно-генетические методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот *in vitro*, позволяют получить результат через несколько часов от начала исследования, они имеют высокие чувствительность и специфичность даже при наличии только остатков генетического материала возбудителей [7–10]. Таким образом, оценка эффективности ПЦР на локальном и системном уровнях исследований при ГБМ крайне необходима.

Цель нашего исследования — определение эффективности идентификации *N. meningitidis* и *Str. pneumoniae* у больных ГБМ на локальном и системном уровнях с помощью метода ПЦР.

Материалом для исследования служили ЦСЖ и сыворотка крови (СК) больных менингококковым (ММ) и пневмококковым (ПМ) менингитами, которые находились на стационарном лечении в Харьковской областной клинической инфекционной больнице. Для улучшения этиологической расшифровки, а также оптимизации этиотропного лечения антибиотиками у пациентов с ГБМ был использован молекулярно-генетический метод исследования — ПЦР, в то время как рутинные бактериологические методы обследования пациентов дали отрицательный результат.

Обследовано в динамике 103 больных ГБМ в возрасте от 18 до 79 лет. Пациенты были распределены на три группы. В первую группу вошли 85 больных с этиологически недифференцированным гнойным менингитом (НГМ), у которых при бактериологическом исследовании ЦСЖ и СК возбудитель не был выявлен. Вторую группу составили 10 пациентов с ММ, у которых была выделена *N. meningitidis* в ЦСЖ с помощью бактериологического и ПЦР-исследования. Третья группа была сформирована из 8 больных с ПМ, подтвержденным с помощью бактериологического метода и ПЦР.

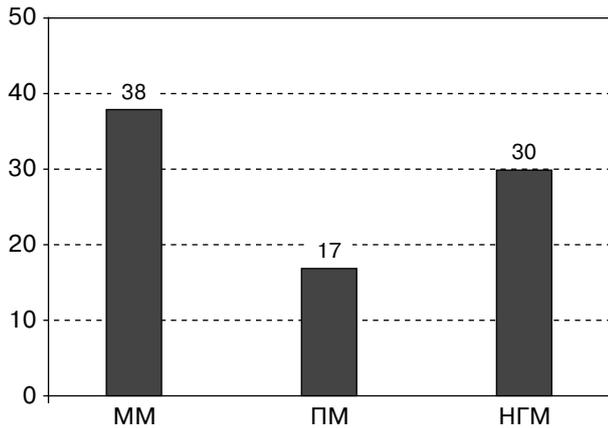


Рис. 1. Уровень верификации менингококкового и пневмококкового возбудителей у пациентов первой группы молекулярно-генетическим методом

Для диагностической люмбальной пункции образцы ЦСЖ отбирали в объеме 0,5–1,0 мл с использованием одноразовых пункционных игл и стерильных асептических одноразовых пробирок для предупреждения ложноположительных результатов обследования. Чтобы подтвердить достоверность результатов молекулярно-генетических исследований СК, до спинномозговой пункции у пациентов из локтевой вены отбирали кровь в объеме 5 мл в стерильную пробирку.

Для проведения ПЦР были подобраны патогенспецифические ДНК-праймеры к генам-мишеням S16 рРНК *N. meningitidis* и *Str. pneumoniae* с использованием программы GeneRunner 3.0 и синтезированных НПО «Литех» (РФ).

При ретроспективном исследовании ЦСЖ больных первой группы методом ПЦР было расшифровано этиологию ГБМ в 55 (65%) случаях, при этом – в 30 (35%) гнойный менингит остался недифференцированным. У 55 пациентов этой группы диагностический ландшафт патогенов был таким: в 38 (45%) случаях выявлена ДНК *N. meningitidis* и в 17 (20%) – ДНК *Str. pneumoniae* (рис. 1).

В некоторых случаях проведение люмбальной пункции противопоказано при шоке, наличии объемного образования головного мозга, окклюзионной гидроцефалии, признаках отека головного мозга и внутричерепной гипертензии, застойных процессах на глазном дне, при кардиореспираторной нестабильности, гнойно-воспалительных поражениях кожи и аномалиях пояснично-крестцовой области [11]. Таким образом, при наличии абсолютных или относительных противопоказаний для этиологического подтверждения диагноза ГБМ

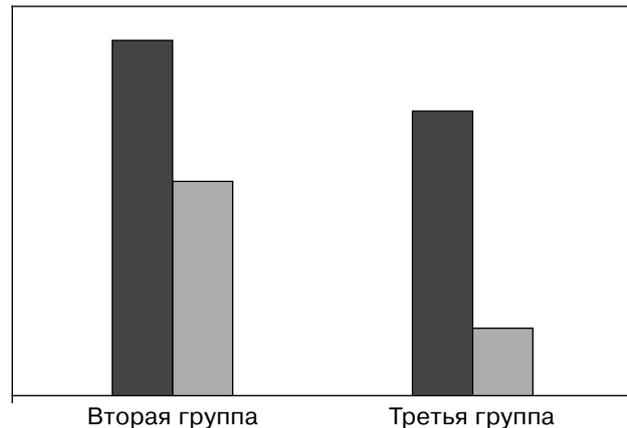


Рис. 2. Сравнительные данные верификации менингококкового и пневмококкового возбудителей в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови больных второй и третьей групп: ■ – ЦСЖ; □ – СК

(проведения люмбальной пункции) рекомендуется исследование СК методом ПЦР для выявления ДНК *N. meningitidis* и *Str. pneumoniae*.

В СК больных с диагнозом ММ (вторая группа) ДНК возбудителя было верифицировано методом ПЦР у 6 больных, а с диагнозом ПМ – у 2 пациентов, что составило 60 и 25% соответственно по сравнению с данными ПЦР в ЦСЖ.

Исследование бактериальной природы ГБМ в СК 18 больных (вторая и третья группы) дало положительный результат у 8 (44,4%) пациентов.

Таким образом, при определении этиологической расшифровки у пациентов с ГБМ выявление генетического материала возбудителей – ДНК *N. meningitidis* и *Str. pneumoniae* в ЦСЖ методом ПЦР является более специфичным, чем в СК.

Информативность ПЦР СК выше у пациентов с острым ММ по сравнению с ПМ: результаты исследований СК больных ММ и ПМ подтверждают патогенетические особенности ГБМ – возбудитель в крови обнаруживается чаще и продолжительнее при ММ (60%) и редко и недолго – при ПМ (25%).

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что для повышения эффективности этиологической диагностики ГБМ с помощью молекулярно-генетических методов целесообразным является изучение как ЦСЖ, так и СК пациентов.

Дальнейшая разработка молекулярно-генетических технологий диагностики ГБМ с использованием различного биологического материала пациентов позволит выявлять широкий спектр возбудителей ГБМ, а ПЦР, возможно, окажется «платиновым стандартом» в диагностике данной группы заболеваний.

#### Список литературы

1. Graf E. H. Comparative evaluation of the filmarray meningitis/encephalitis molecular panel in a pediatric population / E. H. Graf, M. V. Farquharson,

- A. M. Cardenas // Diagn. Microbiol. Infect. Dis.— 2017.— Vol. 87, № 1.— P. 92–94.

2. He T. Laboratory Diagnosis of Central Nervous Sys-

- tem Infection / T. He, S. Kaplan, M. Kamboj // *Curr. Infect. Dis. Rep.*— 2016.— Vol. 18, № 11.— P. 1–12.
3. Зінчук О. М. Клініко-етіологічна характеристика летальних випадків гнійних менингітів у дорослих / О. М. Зінчук, А. М. Задорожний, Н. М. Прикуда, Г. П. Сосна // *Буковинський медичний вісн.*— 2018.— Т. 22, № 11.— С. 36–42.
  4. Accuracy of universal polymerase chain reaction (PCR) for detection of bacterial meningitis among suspected patients / A. R. Moayedi, A. Nejatizadeh, M. Mohamadian [et al.] // *Electron Physician.*— 2015.— Vol. 7, № 8.— P. 1609–1612.
  5. Varatharaj A. The blood-brain barrier in systemic inflammation / A. Varatharaj, I. Galea // *Brain, Behavior and Immunity.*— 2017.— Vol. 60.— P. 1–12.
  6. Современные возможности ликвородиагностики менингитов у детей / Л. Н. Мазанкова, Г. Д. Гусева, Д. А. Моисеенкова [и др.] // *Рос. весн. перинатологии и педиатрии.*— 2014.— № 5.— С. 26–35.
  7. Etiologic diagnosis in meningitis and encephalitis molecular biology techniques / N. Conca, M. E. Santolaya, M. J. Farfan [et al.] // *Rev. Chil. Pediatr.*— 2016.— Vol. 87, № 1.— P. 24–30.
  8. Nested PCR Assay for Eight Pathogens: A Rapid Tool for Diagnosis of Bacterial Meningitis / S. P. Bhagchandani, S. Kubade, P. P. Nikhare [et al.] // *Mol. Diagn. Ther.*— 2016.— Vol. 20, № 1.— P. 45–54.
  9. Improved detection of bacterial central nervous system infections by use of a broad-range PCR assay / T. Meyer, G. Franke, S. K. Polywka [et al.] // *J. Clin. Microbiol.*— 2014.— Vol. 52, № 5.— P. 1751–1753.
  10. Ohkusu K. Molecular approaches for the diagnosis of central nervous system infections / K. Ohkusu // *Brain Nerve.*— 2015.— Vol. 67, № 7.— P. 799–811.
  11. Огляд останніх практичних Рекомендацій Європейської федерації неврологічних товариств (EFNS) з діагностики та ведення хворих на бактеріальний менингіт / Л. В. Пипа, Р. В. Свістільник, В. А. Поліщук [та ін.] // *Міжнар. неврологічний журн.*— 2011.— № 8.— С. 83–96.

### ОПТИМІЗАЦІЯ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ГОСТРИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ МЕНІНГІТІВ

П. В. НАРТОВ, В. А. ЯКУЩЕНКО, О. В. БОБРОВА, Н. В. ВІННИКОВА

Подано порівняльну характеристику методів ранньої діагностики гострих гнійних бактеріальних менингітів: біологічного дослідження цереброспінальної рідини та сироватки крові хворих і проведення полімеразної ланцюгової реакції на системному і локальному рівнях.

*Ключові слова:* гнійні бактеріальні менингіти, цереброспінальна рідина, сироватка крові, полімеразна ланцюгова реакція.

### OPTIMIZATION OF EARLY DIAGNOSIS OF ACUTE BACTERIAL MENINGITES

P. V. NARTOV, V. A. YAKUSHCHENKO, O. V. BOBROVA, N. V. VINNIKOVA

The article is dedicated to comparative characteristic of the methods of early diagnosis of acute purulent bacterial meningitis, i.e. biological investigation of cerebrospinal fluid and blood serum of the patients and performance of polymerase chain reaction at system and local levels.

*Key words:* purulent bacterial meningitis, cerebrospinal fluid, blood serum, polymerase chain reaction.

Поступила 03.01.2019