

УДК 516.24-002-02

РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЛЕТНЕГО МОНИТОРИНГА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НЕЙРОИНФЕКЦИЙ

© 2012 г. **В.Н. Мазена, Н.Ф. Бруснигина, Е.И. Ефимов, О.М. Черневская,
М.А. Махова, К.А. Орлова, Е.В. Сперанская, Л.Е. Скобло,
Н.Н. Барышева, Н.Н. Кленина**

Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. И.Н. Блохиной

mazepavn@mail.ru

Поступила в редакцию 10.04.2012

За период 2002-2011 гг. методом ПЦР обследованы 1060 человек с различными нейроинфекциями. Материалом для исследования служила спинномозговая жидкость. Установлена широкая распространенность традиционных возбудителей менингитов – энтеровирусов *Neisseria meningitidis* и *Streptococcus pneumoniae*. У больных менингитами выявлена достаточно активная репликация вирусов группы герпеса, чаще других обнаруживался *Epstein-Barr virus*. Выявлены случаи менингита, обусловленного *M. tuberculosis*. Показана высокая эффективность ПЦР-детекции этиологических агентов, вызывающих различные варианты нейроинфекций (85%). Полученные данные свидетельствуют о целесообразности и необходимости ПЦР-обследования больных с нейроинфекциями на предложенный спектр инфекционных агентов.

Ключевые слова: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex I/II*, *Epstein-Barr virus*, распространенность, нейроинфекция, ПЦР.

Введение

Острые вирусные и бактериальные нейроинфекции представляют серьезную проблему для здоровья человека. Актуальность их изучения определяется, с одной стороны, высокими показателями заболеваемости, тяжестью последствий заболеваний, значительным процентом смертности, распространенностью субклинических форм, широким спектром этиологических агентов, ростом резистентности возбудителей к наиболее распространенным антибиотикам, а с другой – трудностью диагностики, связанной со сложностью культивирования возбудителей и применением антибиотиков на догоспитальном этапе лечения [1, 2].

Наиболее перспективным и информативным методом выявления возбудителей нейроинфекций является полимеразная цепная реакция (ПЦР), в отличие от микробиологических методов она позволяет установить этиологический фактор в первые сутки болезни, выявить низкие концентрации инфекционного агента в образце клинического материала. ПЦР имеет высокую специфичность (до 100%) [3, 4].

В связи с этим целью нашей работы являлось изучение распространенности широкого спектра бактериальных и вирусных инфекционных агентов – потенциальных возбудителей нейроинфекций в Нижегородском регионе.

Экспериментальная часть

За период с 2002 по 2011 гг. обследованы 1060 пациентов с диагнозами гнойный менингит, серозный менингит, менингит неясной этиологии и с подозрением на менингит, находившихся на стационарном лечении в инфекционной больнице № 23 Нижнего Новгорода, а также в ЦРБ Борского, Кстовского, Шатковского, Балахнинского, Лысковского, Перевозского, Семеновского районов и больницах городов Дзержинска, Сарова.

Материалом для исследования служила спинномозговая жидкость (СМЖ).

Исследования осуществляли методом ПЦР: традиционная ПЦР, мультиплексная ПЦР. Для проведения ПЦР использовали амплификаторы «Терцик МС-2» (ДНК-технология, Москва), «Gene Cycler» (Bio-Rad, США), «My Cycler» (Bio-Rad, США).

Выделение ДНК проводили наборами «ДНК-сорб А», «ДНК-сорб Б» разработки ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва) в соответствии с инструкциями по их применению.

Использовали тест-системы «АмплиСенс» производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора и *GenPak DNA PCR test* фирмы «Изоген» (Москва).

Детекцию продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в

агарозном геле с последующей регистрацией результатов с использованием программы «Bio-test».

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью методов вариационной статистики, методов оценки достоверности результатов (критерий *t*-Стьюдента). Достоверными считались границы, установленные при вероятности безошибочного прогноза $p < 0.05$. Качественные признаки представлены с указанием стандартной ошибки ($\pm m$).

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования образцов СМЖ на наличие *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *M. tuberculosis*, *Enterovirus*, *Cytomegalovirus*, *Herpes simplex I/II*, *Epstein-Barr virus* представлены в табл. 1.

Наиболее распространенными из инфекционных агентов оказались энтеровирусы (находки составили 60.3%) и возбудители гнойных менингитов: *N. meningitidis* и *S. pneumoniae* (32.9% и 22.7% соответственно). Достаточно часто выявлялись бактерии *H. influenzae* (8.1%). Следует отметить активную репликацию вирусов группы герпеса, прежде всего вирусов *Epstein-Barr*. Среди

147 проанализированных на EBV проб ликвора в 15% отмечалась его репликация. В 3.3% случаев нейроинфекции были обусловлены *M. tuberculosis*. 80 человек с подозрением на нейроинфекцию были одновременно обследованы на широкий спектр инфекционных агентов: *Enterovirus*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *M. tuberculosis*. У 29 пациентов (36.3%) были выявлены энтеровирусы, у 15 (18.8%) – менингококк, у 7 (8.8%) – пневмококк и у 2 (2.5%) – *H. influenzae*. Полученные данные свидетельствуют о доминировании энтеровирусов в этиологии нейроинфекций на современном этапе.

При анализе спектра и частоты выявления инфекционных агентов у пациентов с подозрением на нейроинфекцию и с предварительными диагнозами гнойный менингит, серозный менингит, менингит неустановленной этиологии были получены данные, представленные в табл. 2.

Как видно из табл. 2, среди возбудителей гнойных менингитов доминировали *N. meningitidis* (45%) и *S. pneumoniae* (29.5%). В 87.2% случаев гнойного менингита был установлен этиологический агент. В этиологической структуре гнойных менингитов бактериальные возбудители *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* составили 98.2%. В 4 случаях (1.5%) выявлены вирусы: *En-*

Таблица 1

Частота выявления инфекционных агентов у больных нейроинфекциями

Инфекционный агент	Исследовано образцов ликвора	Частота выявления	
		абс.	%
<i>S. pneumoniae</i>	484	110	22.7±2.0
<i>N. meningitidis</i>	484	159	32.9±2.1
<i>H. influenzae</i>	484	39	8.1±1.2
<i>M. tuberculosis</i>	332	11	3.3±0.9
<i>Enterovirus</i>	559	337	60.3±2.1
<i>Cytomegalovirus</i>	157	3	1.9±1.1
<i>Herpes simplex I/II</i>	218	8	3.7±1.2
<i>Epstein-Barr virus</i>	147	22	15.0±2.9

Таблица 2

Частота выявления инфекционных агентов при различных формах нейроинфекций

Инфекционный агент	Частота выявления, %			
	гнойный менингит (n = 268)	серозный менингит (n = 207)	менингит неясной этиологии (n = 185)	при подозрении на нейроинфекцию (n = 34)
<i>S. pneumoniae</i>	29.5±2.6	0	11.4±2.3	21.7±7.0
<i>N. meningitidis</i>	45.0±3.0	1.4±0.8	18.4±2.8	17.9±6.5
<i>H. influenzae</i>	11.2±1.9	0	3.2±1.2	7.7±4.5
<i>M. tuberculosis</i>	0	1.4±0.8	0.5±0.5	6.6±4.2
<i>Enterovirus</i>	1.1±0.6	67.6±3.2	60.5±3.6	32.4±8.0
<i>Cytomegalovirus</i>	0.4±0.3	0	1.1±0.7	0
<i>Herpes simplex I/II</i>	0	6.8±1.7	2.2±1.0	4.8±3.7
<i>Epstein-Barr</i>	0	14.5±2.4	15.7±2.7	8.9±4.9

terovirus – 3 (1.1%) и Cytomegalovirus – 1 (0.4%).

У больных с серозными менингитами, как и следовало ожидать, чаще выявлялись вирусные инфекционные агенты. *Enterovirus* выявлен в 67.6%, вирус *Epstein-Barr* – в 14.5%, *Herpes simplex I/II* – в 6.8%. Лишь в единичных случаях серозного менингита были выявлены бактериальные инфекционные агенты: *N. meningitidis* (1.4%) и *M. tuberculosis* (1.4%).

У пациентов с диагнозом «менингит неустановленной этиологии» выявлялись как бактериальные, так и вирусные инфекционные агенты. Доминировали вирусы: *Enterovirus* (60.5%), *Epstein-Barr* (15.7%), *Herpes simplex I/II* (2.2%), *Cytomegalovirus* (1.1%). Среди бактериальных возбудителей преобладали *N. meningitidis* (18.4%) и *S. pneumoniae* (11.4%).

Обращает на себя внимание высокая частота обнаружения энтеровирусов (32.4%) в группе больных с подозрением на нейроинфекцию без установленного клинического диагноза, что свидетельствует о целесообразности проведения ПЦР-обследования пациентов с различными формами нейроинфекции и включения его в алгоритм диагностики.

При обследовании 59 пациентов с различными формами нейроинфекций одновременно на вирусы группы герпеса: *Epstein-Barr*, *Herpes simplex I/II*, *Cytomegalovirus* была установлена высокая частота выявления *Epstein-Barr* вируса в СМЖ, которая составила 15.3%. *Herpes simplex I/II* выявлен в 5.1% случаев, цитомегаловирус не был обнаружен.

Следует отметить, что исследования проводились в режиме сопровождения лечебного процесса, что позволило своевременно назначать эффективную этиотропную терапию и снизить риск возникновения осложнений.

Заключение

Таким образом, впервые в Нижегородском регионе проведено многолетнее комплексное

изучение распространенности широкого спектра бактериальных и вирусных возбудителей нейроинфекций с использованием метода ПЦР. Установлена высокая частота выявления энтеровирусов (67.6%) при серозных менингитах и *N. meningitidis* (45.0%), *S. pneumoniae* (29.5%) – при гнойных менингитах. У пациентов с менингитами неясной этиологии и с подозрением на нейроинфекции преимущественно обнаруживались вирусные инфекционные агенты. Следует отметить широкое распространение вирусов группы герпеса, особенно *Epstein-Barr* вируса (14.5–15.7%) при серозном менингите и менингитах неясной этиологии.

Алгоритм обследования больных с нейроинфекциями, заключающийся в одновременном исследовании СМЖ на комплекс бактериальных и вирусных инфекционных агентов методом ПЦР, позволяет повысить эффективность выявления этиологического фактора и проводить адекватную этиотропную терапию.

Список литературы

1. Пахалкова Е.В. Современные методы лабораторной диагностики в изучении структуры острых нейроинфекций. // Сб. трудов 5 Всероссийской научно-практич. конф. «Генодиагностика инфекционных болезней», М., 2004. Т. 2. С. 395–399.
2. Biaukula V.L., Tikoduadua L., Azzopardi K. et al. Meningitis in children in Fiji: etiology, epidemiology, and neurological sequelae // *J. Infect. Dis.* 2012. Т. 16. № 4. Р. 289–295.
3. Гинцбург А.Л., Шагинян И.А. Роль молекулярногенетических технологий в повышении качества диагностики инфекционных заболеваний // В кн.: Внутритробные инфекции плода и новорожденного». Саратов, 2000. С. 47–55.
4. Greizen K., Loeffelholz M., Purohit A., Leong D. PCR primers and probes for the 16S rRNA Gene of most species of pathogenic bacteria, including bacteria found in cerebrospinal fluid // *J. Clin. Microbiol.* 2007. Т. 32. Р. 335–351.

RESULTS OF LONG-TERM MONITORING FOR BACTERIAL AND VIRAL AGENTS OF NEUROINFECTIONS

V.N. Mazepa, N.F. Brusnigina, E.I. Efimov, O.M. Chernevskaya, M.A. Makhova, K.A. Orlova, E.V. Speranskaya, L.E. Skoblo, N.N. Barysheva, N.N. Klenina

During the period from 2002 to 2011, 1060 patients with various neuroinfections were surveyed by PCR method. The samples of liquor were investigated. A wide distribution of the traditional agents as well as Enterovirus, *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae* was shown. In patients with meningitis, sufficiently high level of replication of the herpes group viruses was identified, the *Epstein-Barr virus* being detected most often. Some cases of meningitis caused by *M. tuberculosis* were identified. The high efficiency of the PCR detection of etiologic agents of various variants of neuroinfections (85%) was demonstrated. The data obtained indicate the usefulness of and the need for PCR examination of patients with neuroinfections with regard to the proposed range of infectious agents.

Keywords: Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Mycobacterium tuberculosis, Cytomegalovirus, Herpes simplex I/II, Epstein-Barr virus, distribution, neuroinfection, PCR.