

## БІОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ДІАГНОСТИКИ БАКТЕРІАЛЬНИХ МЕНІНГІТІВ

П.В. Нартов

**Резюме.** У цереброспінальній рідині хворих на гострі менінгіти були виявляли візуальні зміни за допомогою біологічного експрес-методу, які вказували на присутність пептидоглікану. Якісне визначення пептидоглікану в цереброспінальній рідині перспективно для ранньої діагностики та диференціальної діагностики бактеріальних і вірусних менінгітів.

**Ключові слова:** пептидоглікан, цереброспінальна рідина, гострий бактеріальний менінгіт.

Актуальність проблеми гострих менінгітів (ГМ) обумовлена високою частотою тяжких форм, значною летальністю, незадовільними віддаленими наслідками [2, 11, 13, 14].

Якщо клінічна діагностика ГМ майже не викликає труднощів, визначення етіології захворювання в ранньому періоді вкрай важке. Етіологічними бактеріальними агентами гострих бактеріальних менінгітів (ГБМ) можуть бути практично будь-які мікроорганізми [4], що потрапили через оболонки головного мозку в цереброспінальну рідину (ЦСР), але до 85-90% від загального числа підтверджених випадків захворювання спричинені трьома збудниками: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* і *Haemophilus influenzae* типу b [14, 10, 15]. У той же час за літературними даними майже в 46% випадках збудник ГБМ не ідентифікований [5].

Традиційно, для лабораторної діагностики ГБМ використовують метод культивування мікроорганізмів зі зразка ЦСР і крові, що забезпечує етіологічну розшифровку менінгітів не більше ніж в 30-50% випадків. Бактеріологічне дослідження триває більше доби, що гальмує призначення адекватної етіотропної терапії. У випадках підозри на ГБМ використовують більш швидкі методи діагностики, зокрема реакцію латекс-аглютинації (РЛА) та полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) ЦСР. Імуноіндикація за допомогою РЛА та ПЛР для виявлення антигенів *N.meningitidis*, *S.pneumoniae* та *H.influenzae* в ЦСР, значно підвищує частоту позитивних результатів, але зазначені швидкі способи діагностики ГБМ мають високу вартість, потребують дорогих реактивів та спеціального складного обладнання і практично недоступні для більшості лікувальних закладів.

В останні роки, певні перспективи в етіологічній діагностиці нейроінфекцій пов'язують з ідентифікацією активних фрагментів бактеріальної

стінки бактерій у ЦСР. Як відомо, для грамнегативних (Гр«-») бактерій найактивнішим і добре вивченим є ліпополісахарид (ЛПС), для грампозитивних (Гр«+») – пептидоглікан (ПГ). Спільним компонентом для Гр«-» і для Гр«+» мікроорганізмів є ПГ [1, 3, 6, 7], вміст якого в ЦСР можна використовувати для діагностики ГБМ та диференціальної діагностики між ГМ бактеріальної та вірусної етіології. За даними літератури, експрес-метод діагностики ГБМ для виявлення ЛПС з використанням високочутливої реакція з лізатом крабів роду *Limulus* є затратним та недостатньо специфічним [8, 9, 12]. Розповсюдженішим є інший метод – *Silkworm larvae plasma* (SLP) – реакція із застосуванням плазми личинок тутового шовкопряду (*Bombyx mori*) (рис. 1).



Рис. 1. Личинки тутового шовкопряду (*Bombyx mori*).

SLP-реакція обумовлена наступними причинами. З урахуванням патогенезу ГБМ у ЦСР хворих присутній ПГ, який є компонентом клітинної стінки Гр«+» та Гр«-» бактерій. Гемолімфа *B. mori* містить природний фермент профенол-оксидазу, який є каталізатором реакції взаємодії ПГ з екзогенним субстратом 3,4-дигідроксифенілаланіном з утворенням меланіну, який при проведенні інкубації забарвлює реакційну суміш у темний колір. Активність ферменту, а отже, і ступінь забарвлення, пропорційні концентрації ПГ у ЦСР хворого на ГБМ. Реакція специфічна для Гр«+» та Гр«-» бактерій [12].

На користь ідеї з використанням SLP-реакції в ранній діагностиці ГБМ є наявність в Україні Інституту шовківництва Української академії аграрних наук (м.Мерефа), які вирощують тутового шовкопряда, тобто спрощується питання отримання сировини.

**Метою роботи** є розробка біологічного методу експрес-діагностики ГБМ з використанням гемолімфа *B. mori*.

### **Матеріали та методи**

Дослідження виконано на клінічній базі кафедри інфекційних хвороб Харківської медичної академії післядипломної освіти – у відділенні нейро-

інфекцій та реанімації Комунального закладу охорони здоров'я «Обласна клінічна інфекційна лікарня». Матеріалом для дослідження була ЦСР хворих на гострий менінгіт, яка була отримана в період розпаду захворювання при проведенні діагностичної спинномозкової пункції.

Забір плазми личинок тутового шовкопряду проводили у стерильних умовах. До проведення експерименту плазму личинок *B. mori* зберігали під шаром мінеральної олії при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$ . Живий клональний матеріал (клональна «популяція» з елітних *B. mori*, в яких збережена чиста лінія «популяції») був наданий лабораторією зародкових та стовбурних клітин ХНУ ім. В.Н. Каразіна.

Пацієнти були розділені на чотири групи по 10 осіб. У першу групу входили хворі на менінгококовий менінгіт (ММ), у яких діагноз був підтверджений бактеріологічним дослідженням та ПЛР. До другої групи були відібрані пацієнти на пневмококовий менінгіт (ПМ) з підтвердженим бактеріологічним та ПЛР дослідженням, до третьої групи хворі на гострий герпесвірусний менінгіт (ГГВМ) підтверджений серологічним методом та ПЛР. Третю групу склали особи з синдромом «менінгізм», у яких ЦСР була інтактною (контрольна група).

### Результати дослідження та їх обговорення

SLP-тест був запропонований японськими вченими в 2003 році та апробований на малій кількості хворих, крім того в дослідженні не було пацієнтів на ММ, збудники якого є основним етіологічним агентом в структурі ГБМ [12]. Для достовірності експерименту додатково проводили два контрольних досліди, коли замість розведеної ЦСР до реакційної суміші додавали 0,9% розчин NaCl без вмісту ПГ (негативний контроль) та розчин стандартного ПГ (Імафарма, Росія) – 10 пг/мл (позитивний контроль). В негативному контролі суміш була безбарвною, а у позитивному контролі відбувалось темне забарвлення суміші (рис. 2).

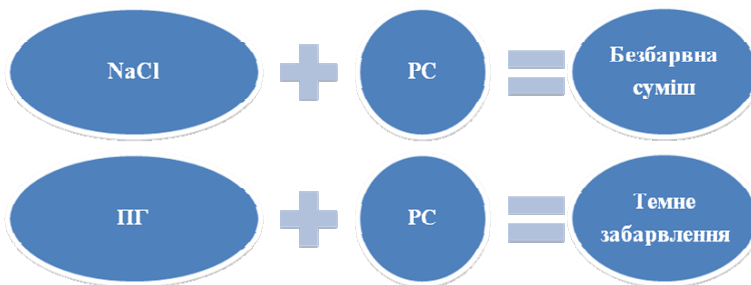


Рис. 2 Негативний та позитивний контроль.

При проведенні SLP-тесту з ЦСР у хворих на ММ та ПМ відбувалось темне забарвлення досліджених сумішей(рис. 3).

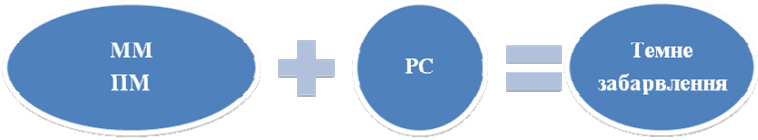


Рис. 3. Якісний результат SLP-тесту у хворих на ММ та ПМ.

У варіантах з хворими на ГГВМ та з синдромом «менінгізм» забарвлення сумішей не відбулося (рис. 4).

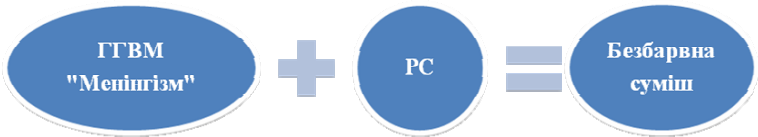


Рис. 4. Якісний результат SLP – тесту у хворих ГГВМ та «менінгізм».

Візуальні зміни вказують на те, що у ЦСР хворих першої та другої групи наявний ПГ (відрізнити за інтенсивністю забарвлення ММ від ПМ було не можливо), а в третій та четвертій групах ПГ був відсутній або його концентрація була мінімальною.

### Висновки

SLP-тест має суттєві переваги в порівнянні з іншими методами діагностики: відносна простота аналізу, невисока вартість, надійність і швидкість отримання результатів, специфічність і висока чутливість в ЦСР у хворих на ММ, де вміст ПГ незначний.

Великі надії ми пов'язуємо з можливістю використання SLP-тест в клінічній практиці для ранньої діагностики гострих менінгітів, коли принципово важливим є не стільки точна ідентифікація збудника інфекції, а скільки встановлення самого факту бактеріальної інфекції.

За допомогою SLP-тесту у пацієнтів з недиференційованим менінгітом можливе підтвердження бактеріальної природи захворювання.

## Література

1. Варбанец Л.Д. Методы исследования эндотоксинов / Л.Д. Варбанец, Г.М. Здоровенко, Ю.А. Книрель; под ред. В.С. Подгорского. – К. : Наук. думка, 2006. – 250 с.
2. Венгеров Ю.Я. Актуальные проблемы диагностики и лечения бактериальных менингитов / Ю.Я. Венгеров, М.В. Нагибина, Т.Э. Мигманов // *Лечащий врач*. – 2007. – № 9. – С. 31–35.
3. Малий В.П. Визначення бактерійних ендотоксинів у лікворі хворих на менингококовий менінгіт з використанням плазми личинок тутового шовкопряду / В.П. Малий, П.В. Нартов, В.С. Кульшин // *Інфекційні хвороби*. – 2008. – № 2. – С. 24–28.
4. Менингиты и энцефалиты / Ю.В. Лобзин, К.В. Жданов, В.М. Волжанин, Д.А. Гусев. – СПб. : Фолиант, 2006. – 128 с.
5. Мікробіологічна діагностика менингококової інфекції та гнійних бактеріальних менінгітів : Методичні вказівки, затверджені Наказом МОЗ України № 170 від 15.04.2005 р. – К., 2005. – 42 с.
6. Нартов П.В. Визначення бактерійних ендотоксинів у лікворі хворих на пневмококовий та менингококовий менінгіт з використанням плазми личинок тутового шовкопряду / П.В. Нартов, В.А. Якущенко // *Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика*. – Вип. 20. – К., 2011. – С. 136–141.
7. Нартов П.В. Медико-біологічні і перші технологічні кроки зі створення нового тесту з визначення бактеріальних ендотоксинів / П.В. Нартов, В.А. Якущенко, О.Ф. Пімінов, Т.Д. Губченко // *Український медичний альманах*. – 2012. – Т. 15, № 5. – С. 252–255.
8. Пімінов О.Ф. Аспекти та перспективи медичного застосування тутового шовкопряду і розробка моделі комплексного використання його гусені / О.Ф. Пімінов, В.А. Якущенко, П.В. Нартов // *Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика*. Вип. 22, кн. 4. – К., 2013. – С. 297–307.
9. Шилов А.С. Гнойный менингит как синдром, клинический маркер генерализации бактериальных инфекций и показатель их тяжести / А.С. Шилов // *Журнал неврологии и психиатрии*. – 2009. – № 5. – С. 92–96.
10. Brouwer M.C. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis / M.C. Brouwer, A.R. Tunkel, D. van de Beek // *Clin. Microbiol.* – 2010. – Vol. 71, N 3. – P. 217–227.
11. Cognitive outcome in adults after bacterial meningitis / M. Hoogman, D. van de Beek, M. Weisfelt [et al.] // *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. – 2007. – Vol. 78, N 10. – P. 1092–1096.
12. A silkworm larvae plasma test for detecting peptidoglycan in cerebrospinal fluid is useful for the diagnosis of bacterial meningitis / K. Inada, K. Takahashi, S. Ichinohe [et al.] // *Microbiol. Immunol.* – 2003. – Vol. 47, N 10. – P. 701–707.
13. Results of a multicenter survey of diagnosis and treatment for bacterial meningitis in Japan / H. Sakata, Y. Sato, M. Nonoyama [et al.] // *J. Infect. Chemother.* – 2010. – Vol. 16, N 6. – P. 396–406.
14. Schut E. S. Community-acquired bacterial meningitis in adults / E.S. Schut, J. de Gans, D. van de Beek // *Pract. Neurol.* – 2008. – N 1. – P. 8–23.
15. Tzanakaki G. Aetiology of bacterial meningitis and resistance to antibiotics of causative pathogens in Europe and in the Mediterranean region / G. Tzanakaki, P. Mastrantonio // *Int. J. Antimicrob. Agents*. – 2007. – Vol. 29, N 6. – P. 621–629.

## БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ

П.В. Нартов

**Резюме.** В цереброспинальной жидкости больных острыми менингитами были выявлены визуальные изменения с помощью биологического экспресс-метода, которые указывали на присутствие пептидогликана. Качественное определение пептидогликана в цереброспинальной жидкости перспективно для ранней диагностики и дифференциальной диагностики бактериальных и вирусных менингитов.

**Ключевые слова:** пептидогликан, цереброспинальная жидкость, острый бактериальный менингит.

## BIOLOGICAL METHOD IN DETECTION OF BACTERIAL MENINGITIS

P.V. Nartov

**Summary.** By express-biological method in cerebrospinal fluid of patient are down with acute meningitis is identified visual changes, which are point at being of peptidoglycan. Qualitative study of peptidoglycan in cerebrospinal fluid is prospective for early detection of bacterial and viral meningitis.

**Key words:** peptidoglycan, cerebrospinal fluid, acute bacterial meningitis.

УДК 616.31-002-053:616-092

## ЗАСТОСУВАННЯ БЕЗЛАКТОЗНИХ СУМІШЕЙ В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ РОТАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ

О.М. Науменко, І.І. Незгода

**Резюме.** У статті наведені результати обстеження 39 дітей грудного віку, з діагнозом ротавірусної інфекції. Досліджено ефективність використання суміші NAN безлактозний у комплексній терапії ротавірусної інфекції у дітей на основі аналізу клінічної симптоматики та лабораторних показників. Встановлено, що використання суміші NAN безлактозний достовірно сприяє зменшенню основних клінічних проявів РВІ та нормалізації копрограми у дітей.

**Ключові слова:** ротавірусна інфекція, безлактозне харчування, діти.

Проблема ротавірусної інфекції є надзвичайно актуальною, адже вона посідає особливе місце в структурі дитячої захворюваності, а також смертності, зокрема серед дітей раннього віку [1, 2, 3]. РВІ є найрозповсюдженішою причиною тяжкої дегідратуючої діареї [4, 5]. Щороку у світі госпіталізують понад 2 млн дітей у віці до 5 років з тяжкою діареєю, яка