

# ENVIRONMENT AS A FACTOR OF BACTERIAL MENINGITIS DEVELOPMENT

Nartov P.V., Popov O.I., Poteiko P.I.

## ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА КАК ФАКТОР В РАЗВИТИИ ГНОЙНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ



**НАРТОВ П.В.,  
ПОПОВ О.И.,  
ПОТЕЙКО П.И.**

Харьковская медицинская академия последипломного образования

УДК 504.058:616. 832.9-002.3-022.7

**НАВКОЛИШНЄ  
СЕРЕДОВИЩЕ ЯК ФАКТОР  
У РОЗВИТКУ ГНІЙНИХ  
БАКТЕРІАЛЬНИХ  
МЕНИНГІТІВ**

**Нартов П.В., Попов О.І.,  
Потейко П.І.**

*Використання полімеразної ланцюгової реакції у хворих на гнійні бактеріальні менингіти дозволяє виявити у цереброспинальній рідині фрагменти нуклеїнових кислот широкого спектру збудників (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* тип b), значно покращує діагностику гнійних бактеріальних менингітів, не вимагаючи присутності живих мікроорганізмів у дослідженому матеріалі.*

Изучение сочетанного воздействия факторов окружающей среды (химических, физических, биологических, социальных) [9] приобретает все большее значение, поскольку позволяет приблизиться к пониманию реальной средовой нагрузки на организм, более правильно выявить причины возникновения и характер развития заболеваний, следовательно, повысить эффективность оздоровительных мероприятий. Одним из методов выявления такого воздействия является сравнительная оценка региональных особенностей среды и здоровья, установление взаимосвязи между явлениями, характеризующими экономику и условия жизни, характер загрязнения среды и экологические особенности, климатогеографические факторы, образ жизни и т.д. [4, 7].

Любая заболеваемость обусловлена рядом причин: нездоровым образом жизни (49-53%), генетическими этиологическими факторами (18-20%), низким качеством и несвоевременностью медицинской помощи. Следовательно, формирование здорового образа жизни имеет первостепенное значение в снижении заболеваемости. Важную роль при этом имеют и загрязняющие агенты окружающей среды, поскольку они вызывают как ближайшие последствия — рост острых (инфекционных и неинфекционных), хронических заболеваний и туберкулеза, так и отдаленные — мутагенные, эмбриогенные, гонадотропные и канцерогенные. В связи с этим изучение заболеваемости, свя-

занной с загрязнением окружающей среды, является актуальной проблемой.

Все большее значение приобретают исследования, направленные на объективную оценку среды обитания и деятельности человека с точки зрения влияния на него социально-бытовых факторов, а также характера межличностных отношений, нередко приводящих к стрессовым состояниям. Доказано, что без этого в современных условиях невозможно выявить истинные причины изменений показателей здоровья [6].

Практически любая ситуация, приводящая к стрессу, с одной стороны, и к значительной скученности людей в плохих бытовых условиях — с другой, характеризуется высоким риском возникновения менингококковой инфекции. Доказано, что если количество носителей менингококка достигает в коллективе 20% и более, то появляются клинически манифестированные формы болезни. Предпосылками к заболеванию являются тесный постоянный контакт людей в замкнутых помещениях, высокая температура и влажность воздуха, повышенная концентрация углекислого газа и сероводорода. Все эти факторы обычны в экстремальных ситуациях. Психические и физические перегрузки, а также переохлаждение, в свою очередь, являются предрасполагающими моментами в возникновении болезни. Их влияние так же, как и воздействие ионизирующей радиации, сказывается опосредованно и проявляется недостаточностью им-

## ENVIRONMENT AS A FACTOR OF BACTERIAL MENINGITIS DEVELOPMENT

**Nartov P.V., Popov O.I., Poteiko P.I.**

*Using of polymerase chain reaction in patients with purulent bacterial meningitis lets reveal fragments of nucleonic acid of wide range of stimuluses in cerebrospinal fluid (Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae type b), considerably improves diagnostics of purulent bacterial meningitis, doesn't need presence of alive microorganisms in investigated material.*

муногенеза (снижением IgA в секрете слизистых оболочек дыхательных путей и IgG в крови).

Гнойный бактериальный менингит — тяжелое жизнеопасное инфекционное заболевание, встречающееся у больных разных возрастных групп. Даже при своевременном начале лечения летальность остается чрезвычайно высокой и составляет 8-26% [2, 8, 11]. Заболеваемость менингококковым и другими гнойными бактериальными менингитами (ГБМ) в Украине за период с 2000-2003 гг. составила в среднем 2000 случаев в год. Из них 30% случаев ГБМ было вызвано *Neisseria meningitidis*, 6% — *Streptococcus pneumoniae*, 2% — *Haemophilus influenzae* тип b и 16% — другими бактериями. Около 46% заболеваний остаются нерасшифрованными [3]. Традиционно для лабораторной диагностики используют метод культивирования микроорганизмов из образцов цереброспинальной жидкости (ЦСЖ). Оставаясь "золотым стандартом" диагностики, этот метод имеет серьезные ограничения, обусловленные применением антибактериальной терапии на догоспитальном этапе, соблюдением правил забора и транспортировки материала, длительностью инкубации (не менее 48 часов). Поэтому ситуация требует разработки и применения "некультуральных" методов идентификации возбудителей ГБМ. Одним из таких методов является метод латекс-агглютинации (ЛА) с применением соответствующих коммерческих тест-систем. Латексные

частицы, покрытые специфическими антителами к антигенам *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* или *Haemophilus influenzae*, агглютинируют в присутствии бактериальных антигенов, содержащихся в ЦСЖ; результат агглютинации оценивается визуально. Постановка всей реакции занимает около 10 минут, реакция не требует наличия живых бактерий в ЦСЖ. Опыт работы ЦНИИ эпидемиологии России в 1995-2000 гг. показал, что диагностика ГБМ методом ЛА с тест-системами позволяет довести лабораторное подтверждение ГБМ до 60-70%. Однако чувствительность метода ЛА сравнительно невысока, порядка 70% [5], что неудивительно, поскольку минимально определяемая концентрация бактерий в ЦСЖ методом ЛА составляет от 1 до 50 нг антигена/мл.

Наиболее перспективным и информативным методом диагностики нейроинфекций является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Молекулярно-биологическая диагностика основана на принципе комплементарности 2-х цепей, составляющих нативную ДНК. Денатурация двуцепной ДНК (например, при нагреве до 95°C) и последующая гибридизация одноцепных структур с синтетическими полинуклеотидами позволяют проводить высокоспецифическую детекцию искомого участка генов. В отличие от микробиологического метода ПЦР позволяет установить этиологический фактор в первые сутки заболевания, выявляет низкие концентрации возбудителя в образцах

клинического материала, имеет высокую специфичность (до 100%). На чувствительность метода не влияет применение нежизнеспособных бактерий и антибиотиков, так как детектируется ДНК [1, 5].

В настоящее время предложено значительное количество вариантов проведения ПЦР для диагностики *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* тип b, но наиболее близким нашему способу является метод, предложенный в 2001 г. [10]. Недостатком данного метода является использование праймеров только для трех основных возбудителей бактериального менингита, что не позволяет подтвердить бактериальную природу менингита приблизительно в 5% случаев. В связи с этим задача, которая является основой предложенной полезной модели, — повышение точности диагностики ГБМ. В известном способе диагностики бактериальных менингитов посредством ПЦР, согласно разработанной нами модели, используется дополнительная пара праймеров к универсальной последовательности гена S16 рПНК.

**Цель исследования.** Дополнительная пара праймеров к универсальной последовательности гена S16 рПНК бактерий должна повысить частоту подтверждения бактериальной природы менингита в случае негативных результатов при использовании культурального метода и негативных результатах тестирования на ДНК *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* тип b посредством стандартного метода.

**Материалы и методы исследования.** В работе были использованы ДНК штаммов *Neisseria meningitidis* (30), *Streptococcus pneumoniae* (17), выделенные от больных ГБМ с бактериологически подтвержденным диагнозом, а также 63 образца ДНК недифференцированных микроорганизмов, выделенных от больных с гнойным

и серозным менингитом, которые находились на стационарном лечении в Харьковской областной клинической инфекционной больнице в 2004-2005 гг. Пациентов с культурально идентифицированным инфлюэнц-менингитом не было.

Пациенты с бактериологически подтвержденным и неподтвержденным диагнозом были разделены на 4 группы. Первая группа (30 человек) — менингококковый менингит (с или без проявлений менингококкемии); вторая группа (17 человек) — пневмококковый менингит; третья группа (20 человек) — гнойный менингит неясной этиологии; четвертая группа (43 человека) — контрольная группа (серозный менингит). Возраст больных колебался в пределах от 18 до 43 лет. Образцы ЦСЖ забирали в объеме 0,5 мл у больных при поступлении в стационар в рамках обычной диагностической спинномозговой пункции. Использовали одноразовые пункционные иглы и стерильные апиrogenные одноразовые пробирки типа "Эппендорф" для предотвращения ложноположительных результатов.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Применение ПЦР с "родовыми" праймерами позволило выявить присутствие ДНК нейссерий у 29 больных (97%), ДНК пневмококков — у 16 больных (95%). Только 2 образца ЦСЖ были негативны. Существенно, что ПЦР-исследование ликвора у 43 пациентов с серозным менингитом не выявило присутствия ДНК нейссерий, стрептококков, бактерий рода *Haemophilus*, т.е. не давало ложноположительных результатов.

При использовании дополнительной пары праймеров к универсальной последовательности гена S16 рРНК бактерий в 20 образцах ликвора с нейтрофильным плеоцитозом, но отрицательными результатами культурального метода и отрицательными результатами тестирования

на ДНК *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* тип b была обнаружена бактериальная ДНК еще в 16 случаях, что позволило подтвердить бактериальную природу заболевания.

В модельных экспериментах чувствительность предлагаемого метода равнялась 95-96%. Использование в нашей тест-системе варианта с дополнительной парой праймеров к универсальной последовательности гена S16 рРНК бактерий повысило бактериальную "подтверждаемость" заболевания.

#### Выводы

1. Необходимость развития гигиенических знаний при изучении влияния факторов окружающей среды на здоровье населения привело к развитию медико-биологических исследований по изучению механизмов взаимодействия организма человека с факторами различной природы.

2. Молекулярно-генетические исследования (полимеразная цепная реакция) позволяют выявить в ЦСЖ фрагменты нуклеиновых кислот широкого спектра возбудителей, значительно улучшает диагностику ГБМ, не требуя присутствия живых микроорганизмов в исследуемом материале.

3. Использование ПЦР помогает проводить дифференциальную диагностику между вирусными и бактериальными менингитами, определяя тактику лечения больного.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Застосування полімеразної ланцюгової реакції для діагностики інфекційних захворювань: Інформаційний лист № 290. — Київ, 2003.

2. Лобзин В.С. Менингиты и арахноидиты. — Л.: Медицина, 1983. — 192 с.

3. Мікробіологічна діагностика менингококової інфекції та гнійних бактеріальних менингітів: Методичні вказівки, затверджені наказом МОЗ України № 170 від 15.04.2005. — К., 2005. — 42 с.

4. Пальшин Г.І., Буравльов Е.П. Концепція оцінок

ризик у вирішенні еколого-економічних та соціально-економічних проблем // Довкілля та здоров'я. — 1996. — № 1. — С. 17-18.

5. Платонов А.Е., Шипулина Г.А., Тютюнник Е.М., Платонов О.В. Генодиагностика бактериальных менингитов и генотипирование их возбудителей: Пособие для врачей. — ЦНИИ эпидемиологии МЗ России. — М., 2001. — 37 с.

6. Соколов Д.К. Здоровье населения как объект гигиенических исследований // Гигиена и санитария. — 1986. — № 8. — С. 13-16.

7. Соколов Д.К., Соколов В.Д. Проблемы мониторинга за здоровьем населения промышленных городов: Тезисы докладов. — Ангарск, 1989. — С. 178.

8. Сорокина М.Н., Иванова В.В., Скрипченко Н.В. Бактериальные менингиты у детей. — М.: Медицина, 2003. — 320 с.

9. Талакин Ю.Н., Сорокина С.Ф., Мостипака Л.К. Влияние социальных факторов на состояние здоровья детей в промышленном регионе // Гигиена и санитария. — 1992. — № 11-12. — С. 48-49.

10. Corless C.E., Guiver M., Borrow R., Edwards-Jones V., Fox A.J. and Kaczmarski E.B. Simultaneous Detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococcus pneumoniae* in Suspected Cases of Meningitis and Septicemia Using Real-Time Pcr. // Journal of clinical microbiology, Apr. 2001. — P. 1553-1558.

11. Tunkel A.R., Scheld W.M. Острый бактериальный менингит // Русский медицинский журнал. — 1996. — Т. 3, № 7. — С. 15-19.