

Л. Г. Боронина, М. П. Кукушкина, С. М. Блинова, Е. В. Саматова,
С. С. Устюгова, С. А. Панова

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ НЕЙРОИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ С ГИДРОЦЕФАЛИЕЙ

*Уральский государственный медицинский университет
г. Екатеринбург, Российская Федерация*

Аннотация. Исследовано 104 пробы спинномозговой жидкости от больных, находящихся на лечении в хирургических отделениях. Для диагностики нейроинфекций применяли анализатор с технологией светорассеивания ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) и культуральный метод. Результаты бактериологического исследования на анализаторе и общепринятым методом совпали в 99% случаях, но в случае ALIFAX HB&L LIGHT получены на 8–10 часов раньше по сравнению с классическими методами и дают информацию о наличии или отсутствии антибактериальных препаратов в спинномозговой жидкости.

Ключевые слова: нейроинфекции, гидроцефалия, дети, диагностика.

L. G. Boronina, M. P. Kukushkina, S. M. Blinova, E. V. Samatova,
S. S. Ustyugova, S. A. Panova

MODERN METHODS OF DIAGNOSIS NEUROINFECTIONS IN CHILDREN WITH HYDROCEPHALUS

*Urals State Medical University
Yekaterinburg, Russian Federation*

Abstract. 104 samples of cerebrospinal fluid were studied from patients in the surgical departments. For the diagnosis of neuroinfections used analyzer with the technology of light scattering ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Italy) and the culture method. The results of bacteriological tests in the analyzer and the conventional method coincided in 99% of cases. But in the case of ALIFAX HB&L LIGHT obtained at 8–10 hours earlier than conventional methods, and provide information on the presence or absence of antimicrobial drugs in the cerebrospinal fluid.

Keywords: neuroinfections, hydrocephalus, children, diagnosis

Введение

Основной причиной возникновения гнойного менингита, вентрикулита у больных с гидроцефалией является нейрохирургическое вмешательство с целью установки шунтирующей системы. Важнейшими этиологическими факторами гнойного менингита, вентрикулита у пациентов, перенесших хирургическое вмешательство, являются представители семейства *Enterobacteriaceae*, рода *Staphylococcus*, рода *Enterococcus*, представители группы грамотрицательных неферментирующих бактерий: *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Stenotrophomonas maltophilia*. Данные возбудители широко распространены в окружающей

среде, многие являются представителями биома человека. Среди них выявляются бактерии, вызывающие инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, обладают резистентностью ко многим антибактериальным препаратам [2; 3; 5]. Правильная и быстрая идентификация возбудителя, определение чувствительности к антибактериальным препаратам могут сыграть решающую роль при лечении больного. Для сокращения времени получения результата необходимо автоматизировать бактериологические исследования. С этой целью используется система HB&L UROQUATTRO™ для *in vitro* диагностики определения количества бактерий в некото-

рых биологических жидкостях человека (БЖЧ), таких как спинномозговая жидкость (СМЖ), моча, бронхоальвеолярный лаваж, оротрахеальный аспират, мокрота, плевральная жидкость, синовиальная жидкость, асцитическая жидкость, перитонеальная жидкость. Принцип работы полуавтоматического анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) основан на методе лазерного светорассеяния, позволяющем достоверно выявить рост микроорганизмов в жидких образцах. Отраженные под углами 30° и 90° сигналы детектируются каждые 5 минут, переводятся в цифровую форму и выдаются в виде кривых роста и микробного числа (колониеобразующие единицы, КОЕ/мл) в режиме реального времени. Вследствие особенностей методики бактериальный рост, обнаруживаемый прибором, обусловлен исключительно живыми делящимися бактериями. Чувствительность системы, выраженная в КОЕ/мл, зависит от времени, необходимого для анализа: так, например, для обнаружения 100000 КОЕ/мл необходимо 180 мин., а при пороговом уровне <50 КОЕ/мл не менее 6 часов.

Система HB&L UROQUATTRO™ также позволяет параллельно с обнаружением титра микроорганизмов оценить остаточную антимикробную активность (ОАА, РАА) в пробах ликвора, выявив наличие антимикробных веществ. Для этой цели используется набор для определения остаточной антимикробной активности HB&L R.A.A. В состав набора входит лиофилизованная культура *Staphylococcus epidermidis*, чувствительная к антимикробным препаратам. При получении положительного результата остаточной антимикробной активности теста можно предположить, что пациент получает антимикробную терапию. Наличие антимикробных средств в образце оказывает влияние на результаты культивирования (возможное получение ложноотрицательных результатов). Также исследование остаточной антимикробной активности позволяет достоверно и быстро определить, в достаточной ли концентрации назначенный антибактериальный препарат попадает в очаг инфекции, и косвенно судить об эффективности применяемой терапии.

Цель работы — сравнить результаты посева СМЖ согласно классической методике (референсный метод) и с использованием полуавтоматического анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия).

Материалы и методы

За период с июня 2015 года по апрель 2016 года исследовано 104 пробы СМЖ от больных, находящихся на лечении в отделениях хирургического профиля ГБУЗ СО «ОДКБ № 1» г. Екатеринбурга (диагноз «гидроцефалия»). В исследование отбирались пробы, визуально не содержащие крови и других включений (прозрачные), объемом не менее 2 мл. Ликвор в объеме 0,5 мл вносили во флаконы из HB&L КУЛЬТУРАЛЬНОГО НАБОРА, 0,5 мл из HB&L R.A.A. (для определения остаточной антимикробной активности). В каждый флакон добавляли 200 мкл коммерческого препарата Alifax, содержащего никотинамидадениндинуклеатид, фактор X и гемин, для ускорения роста прихотливых микроорганизмов (*Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*).

Образцы СМЖ для исследования поступали в лабораторию в основном после 13.00, что повлияло на получение результатов (утро следующего дня). Флаконы с образцами немедленно загружали в анализатор ALIFAX HB&L LIGHT, время инкубации вначале исследования составляло 8 часов, а затем его удлиннили до 12 часов (для исключения ложноотрицательных результатов). Результаты фиксировались автоматически, с выдачей концентрации микроорганизмов в образце (в КОЕ/мл) и наличием или отсутствием остаточной антимикробной активности. В качестве референсного метода использовали модифицированный посев СМЖ согласно МУК 4.2.1887–04 [1]. Чашки с шоколадным (оригинальный рецепт) и кровяно-сывороточным агаром инкубировали при +35°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 48 часов, 0,1% полужидкий сывороточный агар — при +37°C в течение 5 суток с ежедневным просмотром. СМЖ окрашивали по Граму. Образцы, которые демонстрировали индикацию роста в ходе исследования на анализаторе, высевали на кровяно-сывороточный агар и по результатам микроскопии из флакона — на другие среды (желточно-солевой агар, агар Эндо, шоколадный агар). Видовую идентификацию бактерий, определение чувствительности к антибактериальным препаратам выделенных микроорганизмов проводили по классическим бактериологическим методикам и с использованием наборов реагентов для автоматического бактериологического анализатора MicroScan WalkAway 96 (Siemens, Германия) и полуавтоматического анализатора SENSITITRE (TREK Diagnostic Systems, США).

Результаты и обсуждение

В 99 (95%) пробах, исследованных как референсным методом, так и с использованием полуавтоматического анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия), рост микроорганизмов не получен, что свидетельствует о стерильности СМЖ и шунта. В 4 (4%) пробах с использованием обеих методик обнаружен рост, из них в 1 образце выявлен рост *Staphylococcus aureus* (2000 КОЕ/мл), в 1 образце — *Enterococcus faecalis* (< 50 КОЕ/мл) и в двух образцах — рост 2 штаммов *S. epidermidis*. В одной из проб с выделенными двумя штаммами *S. epidermidis* рост через 8 часов инкубации в анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) зафиксирован как отрицательный, остаточная антимикробная активность обнаружена, то есть в СМЖ обнаружен антибактериальный препарат (ребенок получал меропенем). Через 14 часов визуально отмечался рост во флаконе, поэтому был сделан высев на кровяно-сывороточный и желточно-солевой агары. В результате получен рост 2 штаммов *S. epidermidis*, идентичных выделенным при посеве референсным методом. СМЖ для исследования собрана из установленной помпы. С одной стороны, *S. epidermidis* является представителем нормобиоты кожи и может свидетельствовать о контаминации, с другой стороны, его роль при инфекциях доказана в ряде случаев, в том числе у детей с иммунодефицитными нарушениями [4].

Во второй пробе с выделенными двумя штаммами *S. epidermidis* обнаружен титр 40000 КОЕ/мл, остаточная антимикробная активность — отрицательная. При высевах из флакона получен рост идентичных штаммов *S. epidermidis*, что и при посеве референсным методом. Материал также из помпы, не исключена контаминация.

В одном случае (1%) при посеве референсным методом на 0,1% полужидком сывороточном агаре получен рост *S. aureus* после 4 суток инкубации. Результаты, полученные с помощью анализатора ALIFAX HB&L LIGHT: титр микроорганизмов — результат отрицательный, остаточная антимикробная активность — отрицательная (продолжительность инкубации в анализаторе — 8 часов). Впоследствии было принято решение увеличить продолжительность инкубации образцов в анализаторе до 12 часов, чтобы исключить возможные ложноотрицательные результаты.

Из 104 проб при оценке остаточной антимикробной активности в 18 (17%) результат поло-

жительный, что соответствует данным о применении антибактериальных препаратов у таких пациентов (фиксируются в направлениях на исследование).

Время достижения отрицательных результатов анализа проб СМЖ за счет кинетических измерений методом лазерного светорассеяния имеет преимущество перед традиционными бактериологическими исследованиями за счет скорости получения результата, метод лазерного светорассеяния может быть использован в качестве метода скрининга. Отрицательный результат позволяет лечащим врачам прекратить эмпирическую антибактериальную терапию, начатую ранее. Недостатком метода является исключение из исследования образцов, содержащих кровь, слизь и конгломераты, мешающие регистрации роста микроорганизмов. Параллельное исследование проб СМЖ для определения остаточной антимикробной активности позволяет объективно выяснить, применялись и/или применяются ли антимикробные препараты, а также косвенно судить об эффективности применяемой антибактериальной терапии.

Выводы

Результаты бактериологического исследования на анализаторе и общепринятым методом, согласно действующим нормативным документам, совпали в 99% случаях, но в случае ALIFAX HB&L LIGHT получены на 8–10 часов раньше по сравнению с классическими методами. На наш взгляд, для исключения ложноотрицательных результатов исследования с помощью ALIFAX HB&L LIGHT вследствие малого количества возбудителей в ликворе при вентрикулитах и для контроля контаминации в ходе шунтирующих операций при гидроцефалии необходимо использовать время исследования не менее 12 часов. Из ликвора выделены штаммы *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *S. aureus*.

В 17% проб выявили остаточную антимикробную активность, это, возможно, подавляло рост бактерий, и в результате микроорганизмы не обнаружены (ложноотрицательные образцы), что является косвенным доказательством адекватной антибактериальной терапии. Исследование остаточной антимикробной активности также позволило определить, в достаточной ли концентрации назначенный антибиотик попадает в очаг инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов. Методические указания 4.2.1887–04. — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2005. — 48 с.
2. Методики клинических лабораторных исследований. Клиническая микробиология / под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Лабора, 2009. — 880 с.
3. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. — Смоленск: МАКМАХ, 2007. — 464 с.
4. Широкова, И. Ю. Эпидемиологические и микробиологические особенности инфекций, обусловленные коагулазоотрицательными стафилококками: автореф. дис. ... канд. мед. наук / И. Ю. Широкова. — Нижний Новгород, 2014. — 27 с.
5. Murray, P. R. Manual of Clinical Microbiology / P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgenson et al. — 8th edition. — ASM Press, 2003. — 2113 p.

УДК 519.25:615:616–092.9

В. Я. Крохалев, В. А. Телешев**МЕТОДИКА СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ:
ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА
ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ БЕЛЫХ КРЫС***Уральский государственный медицинский университет
г. Екатеринбург, Российская Федерация*

Аннотация. Приведена методика статистической обработки экспериментальных данных по изучению влияния фармакологических препаратов на двигательную активность белых крыс. Методика применима для малых (до 10) парных выборок. Обсуждаются способы проверки данных на соответствие нормальному закону распределения. При наличии соответствия использован t-критерий Стьюдента. В случае несоответствия нормальному закону применяются непараметрические критерии.

Ключевые слова: статистическая обработка данных, t-критерий Стьюдента, непараметрические критерии, двигательная активность, фармакологические препараты.

V. Y. Krokhaley, V. A. Teleshev**METHOD OF STATISTICAL DATA PROCESSING: THE INFLUENCE OF
PHARMACOLOGICAL DRUGS ON WHITE RATS LOCOMOTOR ACTIVITY***Urals State Medical University
Yekaterinburg, Russian Federation*

Abstract. The method of statistical processing of the experimental data on the effect of pharmaceuticals on the motor activity of white rats is given. The technique is applicable to small (up to 10) of paired samples. The ways of data verification for compliance with the normal distribution law are discussed. If we have a matching then t-test of Student is used. In case of discrepancy with normal distribution nonparametric tests must be applied.

Keywords: Statistical data processing, nonparametric tests, t-test of Student, physical activity, pharmacological agents.