

Резолюция совета экспертов «Роль мультиплексной ПЦР диагностики в оптимизации тактики лечения нейроинфекций у детей»

Resolution of the expert council «The role of multiplex PCR diagnostics in optimizing treatment tactics for neuroinfections in children»

16 декабря 2022 г. в Москве состоялось заседание круглого стола Совета экспертов, в состав которого вошли представители ведущих школ инфекционистов, педиатры, неврологи, реаниматологи и представители лабораторной службы Москвы и Санкт-Петербурга. Заседание было посвящено проблемам диагностики и лечения нейроинфекций у детей.

В заседании круглого стола приняли участие эксперты:* Вильниц А. А., заведующая научно-исследовательским отделом интенсивной терапии неотложных состояний, старший научный сотрудник отдела нейроинфекций и органической патологии нервной системы ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, доцент кафедры инфекционных заболеваний у детей ФП и ДПО ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, д.м.н., Санкт-Петербург; Галеева Е. В., заведующая лабораторно-диагностическим отделением ГБУЗ ДГКБ №9 им Г.Н. Сперанского ДЗМ, Москва; Гусева Г. Д., заведующая инфекционным отделением ГБУЗ ИКБ №1 ДЗМ, к.м.н., Москва; Мазанкова Л. Н., заведующая кафедрой детских инфекционных болезней педиатрического факультета ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, главный внештатный специалист по инфекционным болезням у детей Департамента здравоохранения города Москвы и ЦФО, д.м.н., профессор, Москва; Ртищев А. Ю., доцент кафедры инфекционных болезней у детей педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, главный внештатный специалист по инфекционным болезням у детей в ЦАО и ЮВАО Департамента здравоохранения города Москвы, ведущий научный сотрудник отдела разработки научных подходов к иммунизации пациентов с отклонениями в состоянии здоровья и хроническими болезнями НИИ педиатрии и охраны здоровья детей НКЦ №2 ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» Минобрнауки России, к.м.н., Москва; Скрипченко Н. В., заместитель директора по научной работе ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, заведующая кафедрой инфекционных заболеваний у детей факультета послевузовского и дополнительного профессионального образования ГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России, д.м.н., профессор, Санкт-Петербург; Солодовникова О. Н., заместитель главного врача по инфекции, ГБУЗ ММКЦ «Коммунарка» ДЗМ г. Москва, доцент кафедры поликлинической и социальной педиатрии ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, к.м.н., Москва; Трошанский Д. В., руководитель информационно-аналитического центра, ГБУЗ ММКЦ «Коммунарка» ДЗМ

г. Москва, врач-инфекционист консультант, анестезиолог-реаниматолог, д.м.н., Москва; Шакарян А. К., научный сотрудник клинического отдела ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), председатель комиссии по диагностике полиомиелита и острых вялых парезов Роспотребнадзора РФ, эксперт ВОЗ по полиомиелиту, ассистент кафедры инфекционных болезней у детей педиатрического факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва.

Цели и задачи работы Совета экспертов — обзор актуальных медицинских проблем в диагностике и лечении инфекций центральной нервной системы (ЦНС) у детей, определение роли экспресс-диагностики нейроинфекций методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в верификации этиологии заболевания для оптимизации тактики стартовой терапии и поиски практической реализации использования этого современного метода исследования ликвора в Российской Федерации (РФ).

В своих выступлениях эксперты подчеркнули, что нейроинфекции остаются серьезной медицинской проблемой в РФ, несмотря на то, что доступна вакцинация против трех основных возбудителей гнойных бактериальных менингитов (ГБМ) у детей (*H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*) и ряда вирусов, способных вызывать нейроинфекции (вирусов кори, краснухи, эпидемического паротита, клещевого энцефалита, полиомиелита и др.) [1, 2]. Участники круглого стола отметили, что ухудшению исходов у больных с инфекционными заболеваниями ЦНС способствует позднее обращение за медицинской помощью, неадекватное состоянию больного ведение на догоспитальном этапе, стремительное развитие критических состояний при молниеносном течении острых нейроинфекций [3, 4]. Несомненно, диагностика нейроинфекционной патологии невозможна без ликворологических исследований, однако, наличие противопоказаний к проведению люмбальной пункции (ЛП), обусловленных крайней тяжестью состояния пациентов на момент поступления в стационар (отек головного мозга, нарастающая внутричерепная гипертензия, нестабильная гемодинамика и пр.), вынуждают откладывать исследование до стабилизации состояния в 10—30% случаев. Другой причиной отсроченной ЛП являются ограничения, связанные с тем, что врачи не всех специальностей в рамках своих компетенций могут выполнять ЛП согласно существующим стандартам.

Участники круглого стола подчеркнули, что в последние годы наблюдается регистрация листериозных менингитов не только у детей первых месяцев жизни, но и у им-

* Список экспертов представлен в алфавитном порядке

мунокомпетентных детей и подростков [5–9]; верификация «нетипичной» для возраста этиологии ГБМ часто запаздывает, что неблагоприятно влияет на течение и исход заболевания.

Актуальной остается проблема доступности методов современной диагностики нейроинфекций для большого количества медицинских учреждений. Во многих лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) доступны только экспресс-методы латекс-агглютинации и микробиологическое (культуральное) исследование ликвора. При посеве ликвора только в одной трети случаев (около 30%) удается обнаружить возбудителя, а результаты тестов на основе реакции агглютинации латекса (РАЛ) являются ориентировочными, так как встречаются как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты (уровень убедительности рекомендаций С, уровень достоверности доказательств 5, согласно обновленным клиническим рекомендациям по менингококковой инфекции у детей от 2023 года) [10–11]. Эти методы также не позволяют идентифицировать вирусные патогены. В случае наличия собственной ПЦР лаборатории в ЛПУ, результат классического ПЦР исследования ликвора обычно готов в тот же день или на следующий день, но для ряда ЛПУ данный метод диагностики не доступен в вечернее время и в выходные дни. В случае отправки ликвора для ПЦР исследования в централизованную клиническую диагностическую лабораторию (ЦКДЛ), результаты приходится ждать несколько дней, и зачастую результаты исследования оцениваются «ретроспективно», не влияя на принятие клинических решений.

Применение мультиплексного ПЦР тестирования ликвора с возможностью одномоментной быстрой идентификации широкого спектра патогенов представляется перспективной технологией. Уже разработаны и доступны для использования такие панели для «синдромального» тестирования внебольничных нейроинфекций методом мультиплексной ПЦР с выдачей результата приблизительно через 1 час от получения материала, что отражено в обновленных клинических рекомендациях по менингококковой инфекции у детей от 2023 года [10]. Например, панель менингит/энцефалит (МЭ) BioFire FilmArray® предназначена для одномоментной идентификации 14 возбудителей, наиболее часто вызывающих внебольничные менингиты и энцефалиты: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* K1, вирусы простого герпеса 1-го и 2 типа, вирус герпеса человека 6-го типа, энтеровирус, цитомегаловирус, Варицелла-Зостер вирус, парэховирус человека и *Cryptococcus neoformans/gattii*. Совокупная чувствительность метода составляет 94,2%, совокупная специфичность — 99,8%.

Результатом работы круглого стола стала резолюция, в которой отражены основные положения и рекомендации экспертов по улучшению диагностики инфекций ЦНС у детей и предложения по имплементации экспресс-диагностики нейроинфекций методом мультиплексной ПЦР, в основу которых легли результаты клинических исследований, практический опыт участников круглого стола, а также российские национальные и международные клинические рекомендации по диагностике и лечению нейроинфекций.

Резолюция по итогам проведения Совета экспертов от 16 декабря 2022 г., Москва.

1. На сегодняшний день к важным проблемам в управлении нейроинфекциями у детей можно отнести проблему охвата детского населения вакцинацией против возбудителей ГБМ (*N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*), а также доступность современных методов этиологической экспресс-диагностики ликвора.

2. Сохраняется значительная доля этиологически не верифицированных нейроинфекций: 10–20% бактериальных внебольничных менингитов/энцефалитов, 20–25% — вирусных.

3. Для адекватной таргетной этиотропной терапии верификация возбудителя должна устанавливаться в максимально короткие сроки для чего должны быть доступны «прикроватные» методы экспресс-диагностики.

4. На территории РФ для установления возбудителей наиболее распространенных внебольничных ГБМ (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* A, B, C, Y, W) сохраняет актуальность метод реакции агглютинации латекса (РАЛ), позволяющий получить результат в течение 1,5 часов, однако данный метод не идентифицирует вирусные агенты, имеет ряд ограничений, связанных с вероятностью как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов.

5. Золотым стандартом этиологической диагностики ГБМ остаются культуральные методы исследований, несмотря на то, что только около 30% образцов ликвора дают положительные результаты на 2–4 день. Посевы ликвора (и крови) — необходимое условие для определения возбудителей, не входящих в панели РАЛ и мультиплексной ПЦР панели и для определения чувствительности культур микроорганизмов к антибиотикам.

6. Подтверждение вирусной природы нейроинфекции с помощью мультиплексной ПЦР панели при отсутствии клинико-лабораторных признаков бактериального процесса (в том числе при исключении из дифференциального диагноза бактериальных инфекций, не входящих в перечень мишеней мультиплексной ПЦР панели, для которых не характерны патогномоничные «бактериальные признаки» в ликворе (например, боррелиоз, сифилис, риккетсиоз, туберкулез), позволяет оптимизировать этиотропную терапию, отменить начатую ранее эмпирическую антибактериальную терапию.

7. Рекомендуется отменить эмпирически назначенный ацикловир при обнаружении в ликворе с помощью мультиплексной ПЦР панели РНК энтеровируса при отсутствии клинико-лабораторных данных за герпетическую природу нейроинфекции.

8. При отрицательных результатах, полученных при исследовании ликвора с помощью мультиплексной ПЦР панели, расширить диагностический поиск: рассмотреть вероятность неинфекционных причин заболевания, протекающего с клиникой серозного менингита/энцефалита (паранеопластические процессы, системные аутоиммунные заболевания, медикаментозно-опосредованные менингиты/энцефалиты и пр.)

9. Мультиплексная ПЦР панель BioFire FilmArray® для экспресс-диагностики внебольничных менингитов и энцефалитов позволяет одномоментно проводить исследова-

ние ликвора на 14 наиболее частых возбудителей нейроинфекций, включая *L. monocytogenes*, *E. coli* K1 и парэховирус (не входящих в иные тест-системы для быстрой диагностики инфекций ЦНС). К ограничениям данного метода относится отсутствие в панели праймеров для определения генетического материала вирусов клещевого энцефалита, кори и краснухи, микобактерии туберкулеза, что актуально на территории РФ.

10. При противопоказании к проведению ЛП у пациентов с подозрением на нейроинфекцию (бактериальную, а также криптококковую и кандидозную инфекцию) может быть использована панель BCID2 BioFire FilmArray® для идентификации возбудителей и генов резистентности в положительной гемокультуре (позволяет выполнить мультиплексную ПЦР диагностику при положительной гемокультуре и через 60 минут получить данные об идентификации 33 патогенов и 10 маркеров резистентности в крови: Грамотрицательные бактерии (комплекс *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*, *Bacteroides fragilis*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterobacterales*; комплекс *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*; группа *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Salmonella spp.*, *Serratia marcescens*); Грамположительные бактерии (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*); Дрожжеподобные грибы (*Candida albicans*, *Candida auris*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans/gattii*); гены устойчивости к антибиотикам (CTX-M, KPC, OXA-48-like, NDM, VIM, IMP, mecA/C, mecA/C и MREJ (MRSA), vanA/B, mcr-1). (Совокупная чувствительность — 99%, совокупная специфичность — 99,8%).

11. Наиболее целесообразно расположение технологии мультиплексной ПЦР панели BioFire FilmArray® для диагностики менингитов/энцефалитов и панели BCID2 BioFire FilmArray® для идентификации возбудителей и генов резистентности в положительной гемокультуре в экспресс-лаборатории с круглосуточным доступом к исследованиям в крупных многопрофильных стационарах с инфекционными отделениями и перинатальных центрах.

12. Учитывая вероятность ряда ограничений для проведения данного метода исследования в ряде лечебных учреждений предлагаются критерии отбора пациентов для быстрой мультиплексной ПЦР диагностики с помощью МЭ панели BioFire FilmArray®:

- неонатальные нейроинфекции (так как панель позволяет обнаружить *S. agalactiae*, *E. coli*, герпесвирусы, парэховирус);
- случаи подозрения на инфекцию ЦНС при отрицательных результатах РЛА теста;
- неясная клиническая картина, плеоцитоз низкий/смешанный/отсутствует;
- пациенты, получающие иммуносупрессивную терапию.

13. Для больниц с единичными инфекционными койками целесообразно направление образцов ликвора в спе-

циально созданные референс-центры на базе федеральных округов, где будет доступна данная технология. Необходимым условием является организация быстрой доставки образцов в референс-центры.

Литература/References:

1. Консенсус экспертов по Российской научно-практической конференции «Менингококковая инфекция — недооцененные проблемы. Другие бактериальные и вирусные поражения нервной системы». Консенсус экспертов (ipoeasid.ru) [Consensus of experts on the Russian scientific and practical conference «Meningococcal infection — underestimated problems. Other bacterial and viral lesions of the nervous system.» Expert consensus (In Russ.)]
2. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06.12.2021 № 1122н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок». <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202112200070> [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated December 6, 2021 No. 1122n «On approval of the national calendar of preventive vaccinations, the calendar of preventive vaccinations for epidemic indications and the procedure for carrying out preventive vaccinations.» (In Russ.)]
3. Radetsky, Michael MD, CM. Fulminant Bacterial Meningitis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2014. 33(2):204–207. DOI: 10.1097/01.inf.0000435508.67490.f0
4. Naderi H, Sheybani F, Khosravi O, Jabbari Nooghabi M. Frequency of Different Types of Diagnostic Errors in Patients with Central Nervous System Infections: A Cross-Sectional Observational Study. *Neurol Res Int*. 2018 Nov 19; 2018:4210737. doi: 10.1155/2018/4210737.
5. Марченко Н.В., Дубицкий Д.Л., Войтенков В.В., Бедова М.А., Клишкин А.В., Новокшенов Д.Ю., Скрипченко Н.В., Лобзин Ю.В. Поражение центральной нервной системы листериозной этиологии (клинический случай). Лучевая диагностика и терапия. 2022; 13(1):80–88. <https://doi.org/10.22328/2079-5343-2022-13-1-80-88> [Marchenko N.V., Dubitsky D.L., Voitenkov V.B., Bedova M.A., Klimkin A.V., Novokshonov D.Yu., Skripchenko N.V., Lobzin Yu.V. Damage to the central nervous system of listeria etiology (clinical case). *Radiation Diagnostics and Therapy*. 2022; 13(1):80–88. (In Russ.)]
6. Castellazzi ML, Marchisio P, Bosis S. *Listeria monocytogenes* meningitis in immunocompetent and healthy children: a case report and a review of the literature. *Ital J Pediatr*. 2018 Dec 29; 44(1):152. doi: 10.1186/s13052-018-0595-5.
7. Villa G, Diana MC, Solari N, Bandettini R, Sorrentino S, Loy A, Losurdo G, Renna S. *Listeria* Meningitis in an Immunocompetent Child. *Pediatr Emerg Care*. 2017 Aug; 33(8):579–581. doi: 10.1097/PEC.0000000000000067
8. Mo T, Wu F, Dou X, Wang D, Xia H, Li X. A Retrospective Study of Rare *Listeria* Meningoencephalitis in Immunocompetent Children in China. *Front Neurol*. 2022 Mar 2; 13:827145. doi: 10.3389/fneur.2022.827145
9. Brisca, G., La Valle, A., Campanello, C. et al. *Listeria* meningitis complicated by hydrocephalus in an immunocompetent child: case report and review of the literature. *Ital J Pediatr*. 2020. 46, 111. <https://doi.org/10.1186/s13052-020-00873-w>
10. Клинические рекомендации по менингококковой инфекции у детей от 2023 года. https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/58_2 [Clinical guidelines for meningococcal infection in children from 2023. (In Russ.)]
11. Van de Beek D et al. ESCMID Study Group for Infections of the Brain (ESGIB). ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect*. 2016 May; 22 Suppl 3:S37–62. doi: 10.1016/j.cmi.2016.01.007.