

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

\_\_\_\_\_ Д.Л. Пиневиц

06.06.2014

Регистрационный № 196-1113

**АЛГОРИТМ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ  
ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ С СИНДРОМОМ  
ОСТРОГО ВЯЛОГО ПАРАЛИЧА У ДЕТЕЙ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», УО «Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: д-р мед. наук Е.О. Самойлович, канд. мед. наук Л.И. Ясинская, канд. мед. наук А.А. Астапов, канд. мед. наук М.А. Ермолович, канд. биол. наук Е.Ю. Свирчевская

Минск 2014

Настоящая инструкция по применению (далее — инструкция) предназначена для врачей-инфекционистов, врачей-педиатров, врачей-неврологов, врачей-вирусологов учреждений здравоохранения, осуществляющих клинико-лабораторную диагностику.

## **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

### **Оборудование для клинико-неврологического обследования:**

неврологический молоточек, сантиметровая лента, оборудование для электронейромиографии, рентгеновской компьютерной и магнитно-резонансной томографии.

### **Оборудование для лабораторной диагностики:**

ламинарное укрытие с бактерицидной лампой, термостат на 37°C, микроскоп инвертированный, вортекс, CO<sub>2</sub>-термостат, холодильник на 2–8°C, морозильник на -20°C, центрифуга низкоскоростная с охлаждением.

### **Материалы для лабораторной диагностики:**

- пластиковые микротитровальные 96-луночные панели с плоским дном и крышками, предназначенные для культур клеток;

- стеклянные пробирки или пенициллиновые флаконы с суточным монослоем культуры клеток;

- пластиковые центрифужные пробирки объемом 50 мл (устойчивые к хлороформу);

- флаконы объемом 5 мл для хранения фекальной суспензии;

- стеклянные бусы диаметром ~ 3 мм;

- стеклянные или деревянные лопаточки для забора фекалий;

- наконечники с фильтром для автоматических пипеток объемом 20–200 и 100–1000мкл;

- стеклянные пипетки объемом 1; 5 и 10 мл.

### **Реагенты для лабораторной диагностики:**

- питательная среда Игла в модификации Дульбеко (ДМЕМ);

- эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС);

- антибиотики (гентамицин или смесь пенициллина и стрептомицина);

- хлороформ;

- фосфатно-солевой буферный раствор, рН 7,2–7,4 или раствор Хенкса;

- суспензия культуры клеток с посевной дозой 150–200000 кл./мл;

- набор типоспецифических гипериммунных сывороток к полиовирусам I, II, III типов;

- набор типоспецифических гипериммунных сывороток к энтеровирусам.

## **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Клинико-неврологическое обследование детей до 15 лет с внезапно развившейся мышечной слабостью в одной или нескольких конечностях для своевременного выявления пациентов с синдромом острого вялого паралича.

Дифференциальная диагностика полиомиелита и других энтеровирусных инфекций.

Окончательная классификация случаев острых вялых параличей (ОВП) с учетом результатов клинико-эпидемиологических и лабораторных исследований.

## **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА**

### **Методика обследования детей с подозрением ОВП**

На основании анализа жалоб, анамнеза, данных объективного обследования выносится предварительное заключение о наличии у ребенка периферического паралича. Для уточнения характера двигательных нарушений проводят следующие методы обследования.

1. *Клинико-неврологическое обследование* включает оценку объема активных и пассивных движений, мышечной силы, мышечного тонуса, глубоких рефлексов, трофики мышц, состояния чувствительности. Обращают внимание на объем, быстроту, интенсивность, симметричность и темп целенаправленных движений. Для выявления степени снижения мышечной силы используется 6-балльная шкала, применяемая в неврологии и разработанная Медицинским Исследовательским Советом Великобритании, согласно которой: 0 баллов — движения и сокращения мышц отсутствуют; 1 балл — шевеление пальцев с едва заметным сокращением мышц; 2 балла — минимальные движения в конечности на плоскости; 3 балла — активные движения при действии силы тяжести на конечность; 4 балла — конечность двигается против некоторого внешнего сопротивления; 5 баллов — мышечная сила и активные движения присутствуют в полном объеме. Характерно выявление снижения мышечного тонуса (гипотония либо атония), дряблость мышц, гиперподвижность суставов, а также снижение или отсутствие сухожильно-надкостничных рефлексов. Исследуются сгибательно-локтевой (C5–C6), разгибательно-локтевой (C7–C8), запястно-лучевой (C5–C8); коленный (L2–L4), ахиллов (S1–S2) рефлекс. В динамике измеряют объем мышц пораженных конечностей для выявления мышечных атрофий. Описывают наличие фибриллярных подергиваний.

2. *Электронейромиографическое обследование* проводится для всех детей с синдромом ОВП с целью дифференциальной диагностики уровня поражения нейромоторного аппарата: нейрональный, невральный, синаптический или первично-мышечный.

3. *Нейровизуализация (КТ/МРТ)* проводится по показаниям при выявлении повышения глубоких рефлексов, патологических пирамидных рефлексов, снижении брюшных рефлексов, атаксии для исключения объемного образования головного или спинного мозга.

4. *Медико-генетическое консультирование* показано при прогрессировании симптомов поражения нервно-мышечного аппарата для исключения наследственно обусловленных дегенеративных заболеваний. В некоторых случаях для установления наследственной природы заболевания необходимо обследовать членов семьи пациента.

5. *Ортопедическое обследование* показано при наличии ограничения произвольных движений, снижении объема пассивных движений для исключения патологии костно-суставного аппарата (контрактуры, анкилозы).

6. *Общий анализ крови и мочи* назначаются всем детям с синдромом ОВП.

7. *Биохимический анализ крови* назначается всем детям для определения мочевины, электролитов, глюкозы, общего белка, С-реактивного белка, серомукоидов, АлАТ, АсАТ. По показаниям определяют креатинфосфокиназы (КФК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) при подозрении первично-мышечного заболевания либо поражения мышц воспалительного характера.

8. *Исследование цереброспинальной жидкости* проводится при подозрении инфекционных и воспалительных заболеваний, сопровождающихся синдромом ОВП. Определяют цитоз, клеточный состав, белок, глюкозу, хлориды. Оценивают наличие белково-клеточной диссоциации. Проводят вирусологическое обследование с определением антител в ликворе. При необходимости используется ПЦР-диагностика.

Противопоказания: подозрение на объемное образование головного или спинного мозга; воспалительные процессы в поясничной области; коагулопатия.

***Не регистрируются как ОВП: парезы лицевого нерва; парезы, связанные с родовой травмой; парезы, связанные с переломами и другими грубыми повреждениями конечностей.***

### **Неврологические маркеры, обязательные при обследовании детей с ОВП**

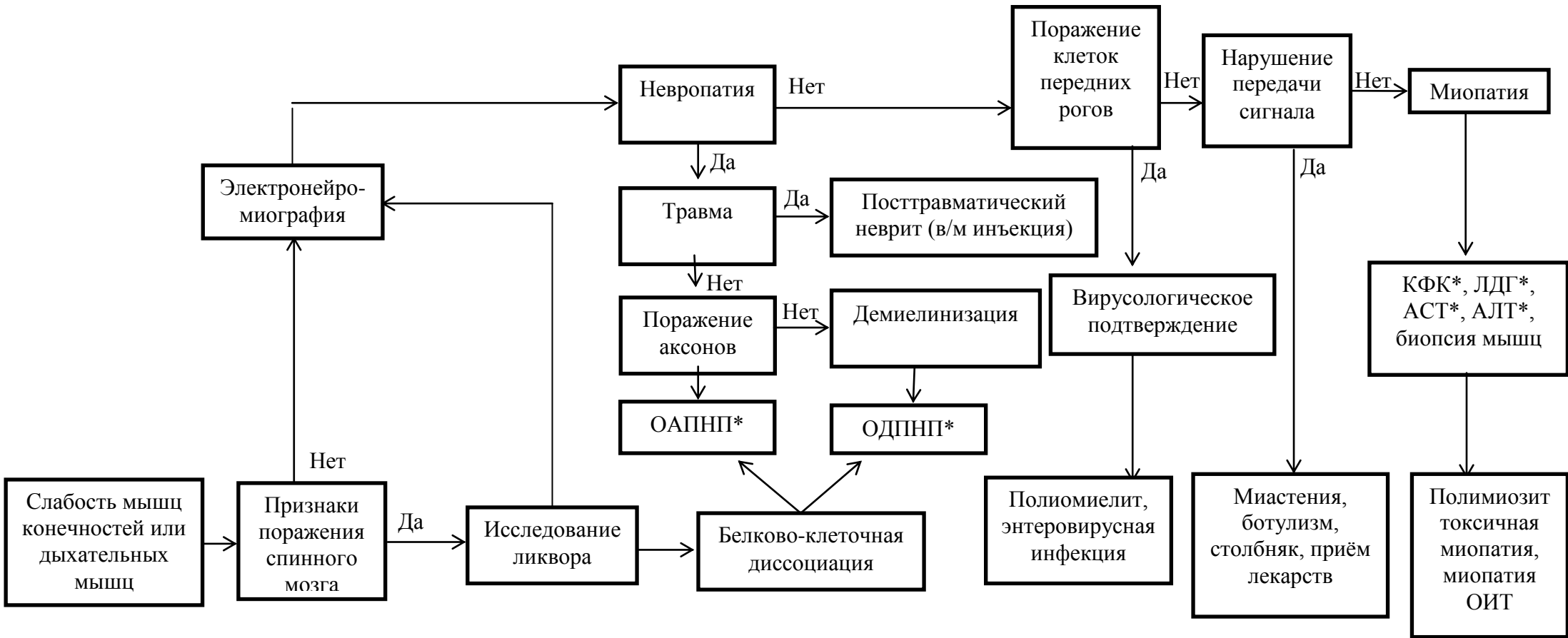
При обследовании пациента медицинскому работнику необходимо установить факт наличия ОВП, т. е. развитие у ранее здорового ребенка пареза или паралича в течение 3–4 дней. Очень важно отметить наличие или отсутствие общеинфекционных или общемозговых проявлений, предшествовавших ОВП, дать их подробное описание, а также детально описать неврологический статус, а именно:

- распространенность (моно-, пара- либо тетрапарезы);
- преимущественная локализация (проксимальная, дистальная, диффузная);
- тип пареза (симметричный, асимметричный);
- объем активных движений в пораженной конечности (сохранен, не сгибает в коленном суставе, свисает стопа, шевелит пальцами, прихрамывает);
- состояние тонуса мышц (сохранен, гипотония, атония);
- состояние сухожильно-надкостничных и брюшных рефлексов (сохранены, снижены, не вызываются);
- наличие болевой реакции при пассивных движениях конечностей;
- состояние поверхностных видов чувствительности (сохранность, гипестезия, гиперпатия).

В выписке из истории болезни после госпитализации и на 60-й день после развития паралича следует отразить динамику двигательных нарушений с обязательным указанием наличия или отсутствия мышечных атрофий, контрактур в голеностопных суставах, переразгибания в коленных суставах, состояния мышечного тонуса и рефлексов.

Последовательные клиничко-лабораторные исследования и окончательная классификация случая острого вялого паралича представлена на схеме.

Алгоритм клиничко-лабораторной дифференциальной диагностики заболеваний с синдромом острого вялого паралича у детей



Примечание — \* — ДПНП — острая демиелинизирующая полиневропатия; ОАПНП — острая аксональная полиневропатия; КФК — креатинфосфокиназа; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; АСТ — аспаратаминотрансфераза; АЛТ — аланинаминотрансфераза.

## **Вирусологическое обследование пациентов с ОВП**

Для подтверждения или исключения полиомиелитной природы ОВП проводится вирусологическое исследование образцов стула заболевшего. Сбор образцов необходимо осуществить как можно раньше после начала заболевания (обеспечить забор первой пробы стула не позднее 48 ч после выявления паралича).

От каждого заболевшего должно быть собрано 2 пробы стула с интервалом 24–48 ч между пробами. Фекалии помещают в контейнеры для сбора образцов стула (при их отсутствии — в стерильные пенициллиновые флаконы) в объеме 3/4 флакона и направляют на вирусологическое исследование в лабораторию. Рекомендуемые сроки доставки материала — не позднее 72 ч со дня забора второго образца. В сопроводительном документе при направлении в лабораторию указывают фамилию, имя пациента, возраст, адрес, диагноз при поступлении, дату заболевания, дату начала паралича, дату прививки против полиомиелита и серию вакцины, дату сбора каждой пробы стула, дату отправки в лабораторию.

*Выделение и идентификация полиовирусов и других кишечных вирусов в культуре клеток*

Обработку образцов стула проводят в вирусологической лаборатории в соответствии с инструкцией по применению «Ускоренное выявление и идентификация полиовирусов» (утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь 17.10.2012, рег. № 005-0611).

Дальнейшее исследование образцов (фекальная суспензия) с использованием культур клеток и идентификацию обнаруженных цитопатогенных агентов проводят в соответствии с инструкцией по применению «Ускоренное выявление и идентификация полиовирусов» (утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь 17.10.2012, рег. № 005-0611).

Для всех изолированных ПВ с целью определения их принадлежности к дикому, вакцинному или вакцинородственному ПВ проводят внутритиповую дифференциацию с использованием анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов генома, предварительно амплифицированных с использованием ПЦР (ПЦР-ПДРФ анализ).

Метод включает три стадии: выделение РНК, ПЦР области генома, кодирующей основной капсидный белок ПВ (VP1), рестрикционный анализ. Выделение РНК рекомендуется проводить согласно инструкции производителя наборов для выделения РНК. Проведение ПЦР-ПДРФ анализа осуществляется в соответствии с инструкцией по применению «Рестрикционный анализ структурной и неструктурной областей генома полиовирусов для внутритиповой дифференциации и выявления рекомбинантных штаммов» (утв. М-вом здравоохранения Республики Беларусь 13.11.2008, рег. № 077-0708).

**Классификация случаев ОВП в соответствии с результатами клинических и вирусологических исследований**

*Подтвержденный полиомиелит* — наличие остаточного паралича на 60-й день болезни плюс выделение дикого ПВ.

*Совместимый с полиомиелитом* — наличие остаточного паралича на 60-й день болезни, отрицательные результаты выделения ПВ из-за отсутствия или

поздних сроков взятия проб стула, плохой доставки или других технических погрешностей.

*Подтвержденный вакциноассоциированный полиомиелит* — наличие остаточного паралича на 60-й день болезни у лиц, привитых ОПВ за 4–30 дней до начала паралича, либо у лиц, контактировавших с привитыми за 4–75 дней до начала паралича, плюс выделение вакцинного ПВ.

*Совместимый с полиомиелитом, возможно вакциноассоциированный* — наличие остаточного паралича на 60-й день болезни при отрицательных результатах вирусологического исследования у лиц, привитых ОПВ за 4–30 дней до развития паралича, или у лиц, контактировавших с привитыми за 4–75 дней до начала паралича.

*Полиомиелит отвергнут* — полное восстановление функции пораженных конечностей в течение 60 дней от начала паралича и отсутствие ПВ в образцах стула.

Если диагноз полиомиелита отвергнут, случай заболевания регистрируется как *ОВП неполиомиелитной этиологии*.

Окончательный диагноз формулируется в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10, 1995):

- **A.80.0** Острый паралитический полиомиелит, ассоциированный с вакцинным вирусом;

- **A.80.1** Острый паралитический полиомиелит, вызванный диким завезенным вирусом полиомиелита (I, II или III тип);

- **G 04** острый миелит;

- **G 05.1** миелит при вирусных инфекциях;

- **G 05.2** миелит при других инфекционных и паразитарных болезнях;

- **G 37.3** острый поперечный миелит;

- **G 61.0** синдром Гийена–Барре, острый (пост) инфекционный полиневрит;

- **G 61.1** сывороточная невропатия;

- **G 61.8** другие воспалительные полиневропатии;

- **G 62.9** полиневропатия неуточненная;

- **G 57.0** поражение седалищного нерва (невропатия);

- **G 57.2** поражение бедренного нерва;

- **G 57.3** поражение наружного подколенного нерва (невропатия малоберцового нерва);

- **G 57.4** поражение внутреннего подколенного нерва (невропатия большеберцового нерва);

- **G 58.9** мононевропатия неуточненная.

**ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ  
ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

<b>Осложнения</b>	<b>Возможные причины и их устранение</b>
Быстрая дегенерация клеток RD, HEp-2C или L20B (в течение одного-двух дней после инокуляции)	Дегенерация может быть вызвана неспецифической токсичностью пробы. Пробирки замораживают при -20°C, оттаивают и 0,2 мл жидкости пассируют на клетках того же типа
Гибель клеток RD, HEp-2C или L20B	Контаминация под воздействием бактерий. Фекальную суспензию повторно обрабатывают хлороформом. Пассирование повторяют
Все пробы в ПЦР отрицательны, включая положительный контроль	Пропущен компонент реакции; использован неподходящий режим амплификации; непригоден реагент (реагенты)
Нет ампликона в положительном контроле, но реакция положительна с исследуемыми пробами	РНК контрольных образцов деградировали или не были добавлены
Ампликон в пробе отрицательного контроля	Вода или реагенты контаминированы амплифицированной ДНК