Выявление маркеров возбудителей природно-очаговых инфекций, передающихся клещами

Филимонова Е.С.¹,
Бондаренко Е.И.²,
Краснова Е.И.¹,
Проворова В.В.¹,
Криницына Э.В.²,
Олейник А.Н.¹,
Бурмистрова Т.Г.³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 630091, г. Новосибирск, Российская Федерация

² Акционерное общество «Вектор-Бест», 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация

³ Государственное бюджетное учреждение Новосибирской области «Городская инфекционная клиническая больница № 1», 630099, г. Новосибирск, Российская Федерация

Цель исследования – анализ частоты выявления инфекций, переносимых клещами (ИПК), в эпидемическом сезоне 2018 г. у взрослых в Новосибирской области.

Материал и методы. Исследован клинический материал от 325 пациентов с лихорадочным состоянием, у которых в анамнезе установлено присасывание/наползание клеща. В образцах биологического материала больных методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) искали генетические маркеры возбудителей ИПК: вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), возбудителя иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ), входящих в комплекс *Borrelia burgdorferi* s.l., возбудителя клещевой возвратной лихорадки (*Borrelia miyamotoi*, *Rickettsia species*, *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*). Сыворотки крови больных исследовали на наличие специфических антител IgM и IgG к возбудителям ИПК с помощью иммуноферментного анализа (ИФА).

Результаты. У 166 (51,1%) из 325 обследованных пациентов с помощью методов ПЦР-РВ и ИФА выявлены маркеры возбудителей ИПК. Маркеры ВКЭ выявлены у 78 обследованных, из них у 5 больных обнаружена РНК ВКЭ, а у 73 – IgM к ВКЭ. Маркеры возбудителя ИКБ определены у 40 обследованных: в крови 6 больных обнаружена ДНК боррелий, у 36 в образцах сыворотки крови выявлены антитела класса IgM и IgG. У 39 больных в крови обнаружен ДНК-маркер *Borrelia miyamotoi*. ДНК-маркеры *Rickettsia spp.*, охарактеризованные позже как ДНК *Rickettsia sibirica*, выявлены в крови 9 больных. В образцах крови 9 больных установлено наличие ДНК *Coxiella burnetii*, у 4 из них в периоде реконвалесценции обнаружены специфические антитела класса IgG.

Заключение. Установлено, что в Новосибирской области основной причиной лихорадки, развившейся после присасывания клеща, были ВКЭ и ИКБ, вызванные как *B. burgdorferi* s.l., так и *B. miyamotoi*. У 9 больных диагностирована Ку-лихорадка.

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования – Бондаренко Е.И., Краснова Е.И.; сбор и обработка материала – Филимонова Е.С., Бондаренко Е.И., Криницына Э.В.; статистическая обработка данных – Филимонова Е.С.; написание текста – Филимонова Е.С., Проворова В.В., Бондаренко Е.И., Краснова Е.И.; редактирование – Филимонова Е.С., Проворова В.В., Бондаренко Е.И., Краснова Е.И., Олейник А.Н., Бурмистрова Т.Г.; утверждение окончательного варианта статьи – Филимонова Е.С., Проворова В.В., Бондаренко Е.И., Краснова Е.И., Бурмистрова Т.Г.; ответственность за целостность всех частей статьи – Филимонова Е.С., Проворова В.В., Краснова Е.И.

Для цитирования: Филимонова Е.С., Бондаренко Е.И., Краснова Е.И., Проворова В.В., Криницына Э.В., Олейник А.Н., Бурмистрова Т.Г. Выявление маркеров возбудителей природно-очаговых инфекций, передающихся клещами // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 10, № 4. С. 90–97. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-4-90-97>

Статья поступила в редакцию 06.04.2021. Принята в печать 01.10.2021.

Ключевые слова:

инфекции, передающиеся клещами; полимеразная цепная реакция, иммуноферментный анализ

Detection of agents of natural foci infections

Filimonova E.S.¹, Bondarenko E.I.²,
Krasnova E.I.¹, Provorova V.V.¹,
Krinitcyna E.V.², Olejnik A.N.¹,
Burmistrova T.G.³

¹ Novosibirsk State Medical University of Ministry of Healthcare
of the Russian Federation, 630091, Novosibirsk, Russian Federation
² JSC "Vector-Best", 630117, Novosibirsk, Russian Federation
³ City Infectious Clinical Hospital No.1, 630099, Novosibirsk, Russian
Federation

The aim – the analysis of frequency of detection of the infections, transferred by ticks (ITT), in an epidemic season of 2018 at adults in the Novosibirsk region.

Material and methods. Clinical material from 325 patients with a feverish state at whom in the anamnesis suction a tick is established is investigated. In samples of biological material of patients with the PTsR-RV method carried out detection of genetic markers of causative agents of the infections, given by mites (ITT): a virus of a tick-borne encephalitis (TBE), the causative agent of the ixodic tick-borne borreliosis (ITBB) entering the *Borrelia burgdorferi* s.l. complex, activator of a tick-borne garapata disease (*Borrelia miyamotoi*, *Rickettsia species*, *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*). By means of EIA blood serum of patients investigated on availability of specific antibodies of IgM and IgG to ITT activators.

Results. At 166 (51.1%) patients from among the inspected 325 patients by means of methods of PTsR-RV and EIA markers of ITT activators are revealed. Markers of TBE are revealed at 78 inspected from which at 5 patients TBE RNA, and is found in 73 IgM to TBE. Markers of the ITBB activator are defined at 40 inspected: in blood of 6 patients DNA of borreliya is found, at 36 in samples of blood serum antibodies of the class IgM and IgG are revealed. *Borrelia miyamotoi* DNA marker is found in 39 patients in blood. *Rickettsia* spp. DNA markers, characterized later as *Rickettsia sibirica* DNA, are revealed in blood of 9 patients. In samples of blood of 9 patients availability of *Coxiella burnetii* DNA is established, at 4 of which in the period of convalescence specific antibodies of the class IgG are found.

Conclusion. It is established that in a sales tax the osnovny reason of the fever which developed after suction of a tick were TBE and ITBB, caused as *B. burgdorferi* s.l., and *B. miyamotoi*. The Q fever is diagnosed for 9 patients.

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Contribution. The concept and design of a research – Bondarenko E.I., Krasnova E.I., collecting and processing of material – Filimonova E.S., Bondarenko E.I., Krinitcyna E.V., statistical data processing – Filimonova E.S.; writing of the text – Filimonova E.S., Provorova V.V., Bondarenko E.I., Krasnova E.I.; editing – Filimonova E.S., Provorova V.V., Bondarenko E.I., Krasnova E.I., Olejnik A.N., Burmistrova T.G.; the statement of a final version of article – Filimonova E.S., Provorova V.V., Bondarenko E.I., Krasnova E.I., Burmistrova T.G.; responsibility for integrity of all parts of article – Filimonova E.S., Provorova V.V., Krasnova E.I.

For citation: Filimonova E.S., Bondarenko E.I., Krasnova E.I., Provorova V.V., Krinitcyna E.V., Olejnik A.N., Burmistrova T.G. Detection of agents of natural foci infections. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]. 2021; 10 (4): 90–7. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-4-90-97> (in Russian)

Received 06.04.2021. **Accepted** 01.10.2021.

Keywords:
tick-transmitted
infections,
polymerase chain
reaction, ELISA test

Территория РФ является обширным ареалом распространения природно-очаговых болезней, в том числе передающихся клещами, среди которых иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ), вирусный клещевой энцефалит (ВКЭ), сибирский клещевой тиф (СКТ) и др. [1, 2]. Данные инфекции, передающиеся клещами (ИПК), представляют серьезную проблему для здравоохранения страны вследствие роста числа антропогенных очагов этих инфекций в пригородах и на территории городов. Официально регистрируемая частота контактов населения с клещами остается постоянной и находится на уровне 400–550 тыс. обращений в год, при этом около 1/4 пострадавших ежегодно составляют дети. В 2019 г. зарегистрировано 580 тыс. обращений, что соответствует 395 обращениям на 100 тыс. насе-

ления [1]. Одной из основных особенностей ИПК является многообразие возбудителей и их способность существовать совместно в одном клеще, вызывая микст-формы в разных сочетаниях.

Первое место по распространенности и частоте регистрации среди группы ИПК принадлежит ИКБ. В 2015–2019 гг. ареал природного очага ИКБ занимал от 73 до 77 территорий страны из 85. Заболеваемость ИКБ возросла с 4,17 на 100 тыс. населения в 2016 г. до 5,48 на 100 тыс. населения в 2019 г. [1–6]. ВКЭ распространен и регистрируется на меньшем количестве территорий по сравнению с ИКБ. Однако актуальность проблемы сохраняется ввиду возможности развития тяжелых форм болезни и летальных исходов заболевания, высокого удельного веса инвалидизации.

В течение последних 5 лет заболеваемость ВКЭ неуклонно снижается (с 1,58 на 100 тыс. населения в 2015 г. до 1,18 на 100 тыс. населения в 2018 г.) благодаря увеличению охвата прививками против ВКЭ. Вместе с тем в 2015–2019 гг. число летальных исходов от ВКЭ на территории РФ достигало 28–32 в год. Неблагоприятные исходы по-прежнему связаны с поздним обращением населения за медицинской помощью, несвоевременной постановкой диагноза и отсутствием вакцинации [1, 3–6].

Сибирский регион является одной из территорий с наибольшими показателями заболеваемости ИПК. Для Новосибирской области (НСО) эпидемическая обстановка по ВКЭ, ИКБ и СКТ, как и по ряду других зоонозных инфекций, по-прежнему неблагоприятна [7].

Ареал природного очага клещевого энцефалита охватывает 23 административных территории НСО, где на протяжении ряда лет отмечается высокая численность популяции иксодовых клещей и их зараженность клещевыми инфекциями. Показатель заболеваемости ВКЭ жителей НСО за 2015–2019 гг. (3,84–6,15 на 100 тыс. населения) ежегодно превышает в 3,3–3,9 раза показатель по Российской Федерации (рис. 1) [8–12].

Помимо ВКЭ, среди клещевых инфекций, регистрируемых в НСО, чаще всего встречается клещевой боррелиоз (болезнь Лайма). В 2015–2019 гг. показатель заболеваемости ИКБ варьировал от 5,91 до 10,74, что превышает показатель заболеваемости по Российской Федерации в 1,1–2,1 раза (рис. 2) [8–12].

В последние годы наблюдается стабилизация заболеваемости СКТ среди жителей НСО. По сравнению с показателем заболеваемости СКТ по Российской Федерации в 2015–2019 гг. (0,97–1,07) заболеваемость в НСО выше в 5,7–6,6 раза [8–12].

В течение эпидемического сезона клещевых инфекций, который продолжается с апреля по октябрь ежегодно, в инфекционный стационар поступают пациенты с лихорадкой и присасыванием клеща в анамнезе. При поступлении им выставляется диагноз «клещевой энцефалит, лихорадочная форма» или при наличии характерной эритемы «клещевой боррелиоз, эритемная форма». При характерных клинических проявлениях, таких как высокая лихо-

радка, пятнисто-папулезная сыпь и первичный аффект (ПА) на месте внедрения клеща, клинически подтверждается диагноз СКТ.

Лабораторная диагностика ограничена проведением только иммуноферментного анализа (ИФА) для выявления антител к антигенам вируса клещевого энцефалита и боррелий *B. burgdorferi* s.l. При появлении отрицательных результатов в большинстве случаев пациентам выставляется окончательный диагноз острого респираторного заболевания. С появлением новых, недостаточно изученных возбудителей клещевых инфекций необходимо уточнение их этиологической роли. Относительно недавно в группу возбудителей ИПК была внесена боррелия нового вида – *Borrelia miyamotoi*, обнаруженная в клещах *Ixodes persulcatus*, отнесенная к группе возбудителей клещевых возвратных лихорадок, способная вызывать заболевание у человека. Клинические симптомы ИКБ, вызываемого *B. miyamotoi*, во многом совпадают с таковыми при безэритемной форме ИКБ [13–15].

Дифференциальная диагностика природно-очаговых инфекций представляет проблему для лечащего врача, имеет практическое значение для проведения своевременной и адекватной терапии, а при заболеваниях бактериальной и вирусной этиологии она кардинально отличается. Это связано с тем, что клещевые инфекции локализованы в одних и тех же природных очагах с общими переносчиками, имеют сезонный характер, примерно одинаковый инкубационный период, в организме инфицированных могут персистировать 2 возбудителя ИПК и более одновременно. Кроме того, для них характерны сходные клинические проявления, особенно в начальном периоде: лихорадка, симптомы интоксикации, ломота в теле, озноб и др.

Таким образом, для повышения точности диагностики ИПК необходимо использовать комплекс лабораторных методов, включающий выявление у обследуемых серологических и молекулярно-генетических маркеров всех возбудителей данных инфекций, циркулирующих на территории конкретного региона [16].

Цель исследования – анализ частоты выявления инфекций, переносимых клещами (ИПК), в эпидемическом сезоне 2018 г. у взрослых в НСО.

Рис. 1. Динамика заболеваемости вирусным клещевым энцефалитом на 100 тыс. населения в Новосибирской области и по Российской Федерации в целом, 2015–2019 гг. [1, 8]

Рис. 2. Динамика заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом на 100 тыс. населения в Новосибирской области и по Российской Федерации в целом, 2015–2019 гг. [1, 8]

Материал и методы

Исследование проведено на базе ГБУЗ НСО «ГИБ № 1» (Новосибирск). Под наблюдением находились 325 больных в возрасте от 15 до 87 лет, поступивших на лечение с мая по август 2018 г.

Критерии отбора пациентов для комплексного обследования с целью выявления маркеров возбудителей ИПК: лихорадочное состояние, факт присасывания/наползания клеща до начала заболевания либо посещение лесопарковой зоны.

Для анализа методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) использовали суммарные нуклеиновые кислоты (НК), выделенные из цельной крови (ЦКр) и лейкоцитарной фракции крови (ЛФК), получение которых описано в статье Н.В. Якович и соавт. [16]. Также были исследованы образцы спинномозговой жидкости (СМЖ) отдельных больных и образцы смывов, взятые с ПА или с места присасывания клеща. Взятие смывов с ПА выполняли по методике, опубликованной ранее [16].

Суммарные НК выделяли с помощью наборов «РеалБест экстракция 100» («Вектор-Бест», Новосибирск) из 200 мкл ЛФК, 100 мкл СМЖ и 100 мкл смывов с ПА, а также из 250 мкл ЦКр в повторях. Образцы ЦКр предварительно обрабатывали реагентами из набора «РеалБест Гемолитик» («Вектор-Бест», Новосибирск). Элюцию выделяемых образцов НК проводили в объеме 250 мкл, из которых для проведения ПЦР-РВ использовали по 50 мкл для детекции генетических маркеров конкретных возбудителей, согласно инструкций производителя.

Комплексное ПЦР-исследование по оценке зараженности пациентов возбудителями ИПК проводили с помощью коммерческих тестов «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi* s.l./РНК ВКЭ», «РеалБест ДНК *Borrelia miyamotoi*», «РеалБест ДНК *Rickettsia species*», «РеалБест ДНК *Rickettsia sibirica/Rickettsia heilongjiangensis*» («Вектор-Бест», Новосибирск), а также использовали экспериментальные лабораторные версии тестов ПЦР-РВ для выявления ДНК-маркеров *C. burnetii* и *F. tularensis*.

Постановку ПЦР-РВ осуществляли с использованием амплификатора с флуоресцентной детекцией результатов планшетного типа CFX96 (Bio-Rad, США). Серологические исследования проводили методом ИФА с помощью наборов реагентов «ВектоВКЭ-IgM», «ЛаймБест-IgM», «ЛаймБест-IgG» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск) и «ИФА-анти-Ку комплект № 1 (выявление IgG-антител к возбудителю Ку-рикеттсиоза)» ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург).

Статистическую обработку проводили с использованием программ Statistica 10 и Excel, рассчитывали экстенсивные показатели.

Результаты и обсуждение

Диагноз «клещевой энцефалит» подтвержден методом ИФА у 73 больных, что составило 22,5% всех госпитализированных. Возраст пациентов с ВКЭ варьировал от 16 до 88 лет. Среди заболевших были 31 (42,4%) женщина и 42

(57,5%) мужчины. Доля мужчин в трудоспособном возрасте (до 60 лет) составила 53%. Такая закономерность характерна для большинства территорий России и Европы [17] и объясняется более частым посещением лесных массивов мужчинами. Распределение больных с учетом возраста было следующим: 15–20 лет – 4 (5%) человека; 21–30 лет – 13 (18%); 31–40 лет – 9 (12%); 41–50 лет – 15 (21%); 51–60 лет – 9 (12%); 61 лет и старше – 17 (23%). Таким образом, максимальное количество больных ВКЭ, как и в предыдущие годы, регистрировали в возрасте старше 50 лет (45%). Реализация трансмиссивного механизма передачи возбудителя выявлена у 43 (59%) пациентов, 6 (8%) человек отмечали наползание клеща, пищевой путь – при употреблении козьего молока установлен только в 1 случае; 1 больной снимал клеща с животного, 23 (31,5%) человека отрицали контакт с клещами.

Преобладала лихорадочная форма заболевания – 33 (45%) случая. Двухволновая лихорадка зафиксирована у 5 (6,8%) человек. Менингеальная форма ВКЭ подтверждена у 26 (36%) человек, менингоэнцефалитическая – у 9 (12%), менингоэнцефалополиомиелитическая – у 5 (7%). Летальный исход наступил у 4 (5,4%) больных, все они не были вакцинированы.

Таким образом, ВКЭ представляет актуальную проблему для здравоохранения НСО. Дальнейшее исследование эпидемиологических и клинических особенностей болезни позволит обосновать и разработать комплекс мероприятий, направленных на снижение заболеваемости КЭ.

Для лабораторной диагностики КЭ в сыворотке крови больных, госпитализированных с лихорадочным состоянием после присасывания клеща, с помощью ИФА определяли специфические IgM-антитела к ВКЭ, а в образцах ЛФК и ЦКр методом ПЦР-РВ выявляли РНК этого вируса. Результаты серологического исследования были положительными у 73 (22,6%) из 325 пациентов, а при проведении ПЦР генетический материал ВКЭ был выявлен у 7 (2,2%). При этом у 5 из 7 пациентов одновременно обнаружены и антитела к ВКЭ, и вирусная РНК. Низкая выявляемость РНК ВКЭ в крови пациентов отмечена и ранее [18]. Установлено, что период виремии составляет от 2 до 7 дней от момента проникновения вируса после присасывания инфицированного клеща [18]. По данным других авторов, генетический материал ВКЭ определяется в крови инфицированных людей в первые 1–4 дня после присасывания клеща только в 55% случаев, а затем вероятность его обнаружения резко снижается. По всей видимости, с этим и связана низкая выявляемость РНК вируса методом ПЦР в образцах крови людей.

Диагноз ИКБ подтвержден в 102 случаях заболевания. Преобладали эритемные формы. Клинически диагноз «ИКБ, эритемная форма» выставлен в 77 случаях, что составило 23,7% всех обследованных, из них методом ИФА диагноз подтвержден только в 9 (11,7%) случаях. Остальные пациенты были выписаны из стационара на 2-й неделе заболевания, поэтому диагноз у них подтвержден только клинико-эпидемиологически, что допускается протоколами диагностики ИКБ.

При тестировании образцов крови пациентов методом ПЦР-РВ выявить ДНК *B. burgdorferi* s.l. удалось у 6 человек,

что подтверждает редкое присутствие данных боррелий в крови. Из них серологически диагноз ИКБ подтвержден в 3 случаях.

Известно, что основным методом подтверждения безэритемных форм ИКБ, является простановка ИФА. У 25 пациентов с ИКБ, безэритемной формой, диагноз подтвержден на основании определения IgM к *B. burgdorferi* s.l. начиная с 3-й недели заболевания. Среди заболевших преобладали женщины (76%). Максимальное количество больных ИКБ зарегистрировано в возрасте 50 лет и старше – 67 (63%). Поражение центральной нервной системы в форме серозного менингита наблюдали у 3 больных, в том числе у 2 – с синдромом Баннварта. Заболевание у всех пациентов протекало в среднетяжелой форме. Зарегистрировано 2 случая микст-инфекции с лихорадочной формой ВКЭ.

Причиной относительно невысокой выявляемости генетического материала возбудителей ИПК методом ПЦР-РВ может быть несвоевременный забор образцов исследуемой крови у больных (не на пике лихорадки, а уже при нормализации температуры тела, когда патоген элиминирован из кровотока). Кроме того, прием пациентами антибиотиков и/или жаропонижающих препаратов может способствовать снижению количества некоторых возбудителей ИПК, циркулирующих в крови. Низкая эффективность серологической диагностики ИКБ связана с тем, что взятие крови для данных исследований проводили в ранние сроки заболевания, когда специфические антитела еще не появились. Серологическая диагностика высокоинформативна при исследовании сыворотки крови не ранее 3–4-й недели болезни, что подтверждает длительность латентного периода при формировании гуморального ответа при ИКБ.

Установлено, что заболевание, вызываемое *B. miyamotoi* в НСО в 2016–2017 гг., занимало 3-е место в структуре клещевых инфекций после ИКБ, вызванного *B. burgdorferi*, и ВКЭ. Отмечено, что для него характерны отсутствие мигрирующей эритемы, слабость, высокая лихорадка длительностью от 1–10 сут, иногда рецидивирующая, выраженные проявления интоксикации, артралгии, лейкоцитоз с относительным нейтрофилезом [19]. Больные среднего возраста с вышеперечисленными жалобами обращались в стационар преимущественно в июне-июле после присасывания клеща. ДНК-маркер *B. miyamotoi* обнаружен в 39 (12%) образцах крови. У 3 из 39 пациентов с диагнозом «ИКБ, вызванный *B. miyamotoi*», помимо лихорадки и симптомов интоксикации, выявляли эритему диаметром 8×8, 3×4 и 3×3 см соответственно на месте присасывания клеща. В данных случаях клинически был выставлен диагноз микст-инфекции: ИКБ, вызванный *B. burgdorferi* s.l. и *B. miyamotoi*. Для ИКБ, вызванного *B. miyamotoi*, были характерны высокая или умеренная лихорадка, интоксикационный синдром у всех больных, головная боль на пике лихорадочного периода (85%), миалгия (25%), артралгия (20%). Длительность лихорадочного периода – до 4–5 дней. В общем анализе крови отмечены нормоцитоз и лимфоцитопения.

При серологических исследованиях антитела к антигенам боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. были обнаружены у 7 (9,2%) из 39 пациентов с ИКБ, вызванным *B. miyamotoi*. Используемые в практике здравоохранения тест-системы

для выявления антител класса М (IgM) к возбудителям ИКБ не могут применяться для серологической диагностики ИКБ, вызванного *B. miyamotoi*. При обследовании таких пациентов с помощью коммерческих тестов выявляют антитела к антигенам боррелий всего комплекса *B. burgdorferi* s.l., являющихся возбудителем ИКБ. Доступные для серологической диагностики наборы не позволяют дифференцировать антитела к боррелиям разных видов. Поэтому с учетом гетерогенности боррелий необходимо проводить иммунохиповую диагностику с определением антител к специфическим белкам боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. и *B. miyamotoi*.

Выявление нового возбудителя *B. miyamotoi* в крови у госпитализированных больных расширило спектр природно-очаговых трансмиссивных инфекций, регистрируемых в НСО. Верификация диагноза ИКБ, вызванного *B. miyamotoi*, с помощью ПЦР-диагностики позволит регистрировать эту малоизученную нозологическую форму у жителей НСО.

Диагностика клещевых риккетсиозов, и в частности СКТ, вызываемого *Rickettsia sibirica*, в России в последние годы основана на данных эпидемиологического анамнеза (пребывание на эндемичной территории, возможный контакт с клещами в периоде их активности) и характерной клинической картине (лихорадка, наличия у пациентов ПА на месте присасывания клеща, регионарного лимфаденита, раннего появления яркой розеолезно-папулезной экзантемы) [20]. Следует отметить, что антитела к антигенам возбудителей клещевых риккетсиозов в крови формируются не ранее 7–15-го дня после начала болезни, в связи с чем верификация диагноза с помощью реакций связывания комплемента (РСК) и непрямой гемагглютинации (РНГА) значительно задерживается. Еще более существенным является факт отсутствия в настоящее время в России тест-систем отечественного производства для серологической диагностики СКТ.

Всего за 2018 г. в зарегистрировано 15 случаев СКТ у взрослых. Среди заболевших преобладали мужчины (67%). Возраст пациентов варьировал от 21 до 60 лет, чаще болели лица старше 40 лет (60%). Диагнозы при направлении из лечебно-профилактической организации только в 2 случаях совпадали с диагнозом СКТ, установленным в инфекционном стационаре, что указывало на затруднения при распознавании данной болезни врачами на догоспитальном этапе, даже при наличии клинико-эпидемиологического симптомокомплекса. Диагноз «клещевой энцефалит» при направлении в стационар поставлен 3 больным, «лихорадка неясного генеза» – 10. Госпитализация больных проводилась чаще в 1-ю неделю заболевания.

СКТ протекал в среднетяжелой форме и заканчивался выздоровлением. Диагностика данного риккетсиоза проводилась клинически (наличие ПА в месте присасывания клеща, регионарного лимфаденита, пятнисто-папулезной сыпи и симптомов интоксикации), а также с учетом эпидемиологического анамнеза.

При тестировании образцов ЛФК и ЦКр от 325 больных с помощью лабораторной версии набора реагентов «Реал-Бест ДНК *Rickettsia species*» («Вектор-Бест», Новосибирск) ДНК-маркер риккетсий был выявлен в 9 (2,7%) случаях. Полученные данные в результате дальнейшего исследова-

ния положительных образцов выделенной ДНК с помощью набора реагентов «РеалБест ДНК *Rickettsia sibirica/Rickettsia heilongjiangensis*» («Вектор-Бест», Новосибирск) свидетельствовали, что в крови больных циркулировала *R. sibirica*, которая отнесена к патогенным видам, вызывающим СКТ и обнаруживаемым в крови пациентов на территории НСО и ранее [21]. У 1 пациента с фебрильной лихорадкой, ПА, эритемой в заушной области, регионарным лимфаденитом и сыпью при обследовании установлена микст-инфекция: клещевой сыпной тиф и клещевой боррелиоз, эритемная форма.

Ку-лихорадка – повсеместно распространенная, но мало диагностируемая инфекционная болезнь с разнообразными путями передачи возбудителя. Вследствие полиморфизма клинической картины, отсутствия доступных для практического здравоохранения лабораторных методов, подтверждающих диагноз, а также вовлечения в эпидемический процесс преимущественно сельских жителей, которые реже, чем городские, обращаются за медицинской помощью, регистрация случаев заболевания Ку-лихорадкой неполная. В Новосибирске с 2002 г., когда серологически были выявлены антитела к *C. burnetii* у больных, случаев верификации диагноза Ку-лихорадки не отмечено [22].

В настоящем исследовании ДНК *C. burnetii* методом ПЦР обнаружена в крови у 9 пациентов (2,8% всех обследуемых больных с присасыванием клеща в анамнезе). В 3 случаях Ку-лихорадки по генам *groEL* и *IS1111* была секвенирована ДНК *C. burnetii*, выделенная из крови. Среди заболевших коксиеллезом – 8 мужчин и 1 женщина, диапазон возраста заболевших – от 25 до 74 лет. Присасывание или напоздание клеща из них отмечены у больных в НСО в 4 случаях, при посещении Алтая – в 2, при посещении Крыма – в 1 случае.

Заболевание у всех больных начиналось остро, с повышением температуры тела до 39–40 °С, длительность лихорадки варьировала от 7 до 9 дней (при использовании антибактериальной терапии). У всех больных отмечены интоксикационный синдром, умеренная головная боль, слабость, в 3 случаях – миалгия. Пятнисто-папулезная сыпь выявлена у 1 пациента. Токсический гепатит диагностирован у 2 человек со слабовыраженным синдромом цитолиза. Явления менингизма отмечены у 2 больных. У одного мужчины 30 лет во время командировки в Крым в анамнезе за 7 дней до заболевания было присасывание клеща. Болезнь протекала в виде тяжелой генерализованной инфекции с раз-

витием системного воспалительного ответа, серозного менингоэнцефалита, осложненного отеком головного мозга. На фоне комплексной терапии с включением доксициклина наступил благоприятный исход.

Всем пациентам проводили серологические обследования методом ИФА для определения антител класса IgG к антигенам *C. burnetii* в остром периоде заболевания и через 6 мес после выписки из стационара. При исследовании сывороток крови на этапе госпитализации больных в стационар были получены отрицательные результаты, через 6 мес у 4 больных обнаружены IgG.

В результате проведенного исследования с помощью ПЦР-РВ на наличие ДНК возбудителя *F. tularensis* в ЦКр и ЛФР ни у одного из 325 больных с лихорадочным состоянием, возникшим после присасывания клеща, выявить генетический маркер туляремии микроба не удалось.

Заключение

Проведенное комплексное клинико-лабораторное исследование обосновывает необходимость совершенствования диагностики инфекций, переносимых клещами. Наличие лихорадки у больных с подозрением на клещевые инфекции, отсутствие эритемы либо ПА на месте присасывания клеща приводит к неопределенности и возможным ошибкам при постановке диагноза в тех случаях, когда недоступны современные методы специфической лабораторной диагностики.

В результате комплексного лабораторного обследования 325 больных, госпитализированных в инфекционный стационар с заболеванием, развившимся после присасывания или напоздания клеща, с использованием методов ПЦР и ИФА у 75 (23%) из них был диагностирован клещевой энцефалит, у 40 (12,3%) – иксодовые клещевые боррелиозы, вызванные боррелиями, входящими в комплекс *Borellia burgdorferi* s.l., 39 (12%) – иксодовый клещевой боррелиоз, вызванный *B. miyamotoi*, у 9 (2,7%) – сибирский клещевой тиф и у 9 (2,8%) – Ку-лихорадка. Этиология ИПК у пациентов, пострадавших от нападения клеща, установлена на ранней стадии болезни в 52,8% случаев. Эффективность лабораторной диагностики ИПК может возрасти, если в России будут разрабатывать и использовать диагностические тест-системы (как для ПЦР, так и ИФА), позволяющие дифференцировать разные нозологические формы ИПК.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Филимонова Евгения Сергеевна (Evgenija S. Filimonova)* – ассистент кафедры инфекционных болезней педиатрического факультета ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

E-mail: ev.smirnova@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9241-1760>

Бондаренко Евгений Иванович (Evgeny I. Bondarenko) – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории ПЦР АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р. п. Кольцово, Российская Федерация

E-mail: ebondarenko@ngs.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4699-9548>

* Автор для корреспонденции.

Краснова Елена Игоревна (Elena I. Krasnova) – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней педиатрического факультета ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

E-mail: krasnova-inf@rambler.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2625-5442>

Проворова Вероника Валерьевна (Veronika V. Provorova) – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней педиатрического факультета ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

E-mail: provorova.ydif@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3475-9934>

Криницына Эльвира Владимировна (Elvira V. Krinitsina) – старший научный сотрудник отделения ИФА гепатита С АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р. п. Кольцово, Российская Федерация

E-mail: krinitsyna@vector-best.ru

Олейник Анна Николаевна (Anna N. Oleinik) – ассистент кафедры инфекционных болезней педиатрического факультета ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, Новосибирск, Российская Федерация

E-mail: dr.anna.oleinik@mail.ru

Бурмистрова Татьяна Германовна (Tatiana G. Burmistrova) – заведующий отделением нейроинфекций ГБУЗ НСО «ГИКБ № 1», Новосибирск, Российская Федерация

E-mail: mikb1@ngs.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2580-5844>

ЛИТЕРАТУРА

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. Москва : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. 300 с.
2. Проворова В.В., Савельева М.А., Краснова Е.И., Хохлова Н.И., Филимонова Е.С., Кузнецова В.Г. Актуальные вопросы клещевых инфекций на современном этапе // Сибирский медицинский вестник. 2018. № 3. С. 46–57.
3. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. Москва : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. 254 с.
4. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: Государственный доклад. Москва : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018. 268 с.
5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: Государственный доклад. Москва : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. 220 с.
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 году: Государственный доклад. Москва : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2015. 200 с.
7. Platonov A.E., Karan L.S., Kolyasnikova N.M., Makhneva N.A. et al. Humans infected with the relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia // Emerg. Infect. Dis. 2011. Vol. 17, N 10. P. 1816–1822. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid1710.101474>
8. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2019 году: Государственный доклад. Новосибирск : Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека НСО, 2020. 280 с.
9. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2018 году: Государственный доклад. Новосибирск : Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека НСО, 2019. 275 с.
10. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2017 году: Государственный доклад. Новосибирск : Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека НСО, 2018. 290 с.
11. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2016 году: Государственный доклад. Новосибирск : Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека НСО, 2017. 264 с.
12. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2015 году: Государственный доклад. Новосибирск : Управление федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека НСО, 2016. 250 с.
13. Сарксян Д.С., Платонов А.Е., Карань Л.С., Малинин И.Е. и др. Клинические особенности «нового» клещевого боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi* // Терапевтический архив. 2012. Т. 84, № 11. С. 34–41.
14. Черных В.И., Миноранская Н.С., Титков А.В., Платонов А.Е., Усков А.Н. Клиническое течение иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, в Красноярском крае // Журнал инфектологии. 2020. Т. 12, № 2 S1. С. 134–135.
15. Платонов А.Е., Топоркова М.Г., Колясникова Н.М., Стуколова О.А., Долгова А.С., Бродовикова А.В. и др. Клинические проявления иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, в контексте иммунного ответа на возбудитель // Терапевтический архив. 2017. Т. 89, № 11. С. 35–43. DOI: <http://doi.org/10.17116/terarkh2017891135-43>
16. Якович Н.В., Андаев Е.И., Бондаренко Е.И., Трушина Ю.Н., Котова И.В., Пыринова Г.Б. и др. Оценка диагностической значимости комплексного выявления маркеров инфекций, переносимых клещами, у пациентов, пострадавших от их присасывания // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2016. № 4. С. 58–65.
17. Любезнова О.Н., Бондаренко А.А. Клинико-эпидемиологические аспекты клещевого энцефалита в эндемичном регионе европейской части России // Журнал инфектологии. 2016. Т. 8, № 2. С. 32–39.
18. Tkachev S.E., Fomenko N.V., Rar V.A., Igolkina Ya.P., Kazakova Yu.V., Chernousova N.Ya. PCR detection and molecular-genetic analysis of tick-transmitted pathogens in patients of Novosibirsk region, Russia // Int. J. Med. Microbiol. 2008. Vol. 298. P. 365–367. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jimm.2007.12.010>
19. Краснова Е.И., Савельева М.В., Хохлова Н.И., Рар В.А., Мельникова О.В., Сабитова Ю.В. и др. Особенности клинических проявлений и лабораторной диагностики возвратной клещевой лихорадки, вызванной *B. miyamotoi* в Новосибирской области // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017. № 2. С. 10–16.
20. Рудаков Н.В. Риккетсии и риккетсиозы: руководство для врачей. Омск : Издательский центр Омский научный вестник, 2016. 424 с.
21. Igolkina Y., Krasnova E., Rar V., Savelieva M., Epikhina T., Tikunov A. et al. Detection of causative agents of tick-borne rickettsioses in Western Siberia, Russia: identification of *Rickettsia raoultii* and *Rickettsia sibirica* DNA in clinical samples // Clin. Microbiol. Infect. 2018. Vol. 24, N 2. P. 199.e9–199.e12. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.06.003>
22. Яковлев Е.А., Борисевич С.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В. Заболеваемость лихорадкой Ку в Российской Федерации и странах Европы: реалии и проблемы // Проблемы особо опасных инфекций. 2015. Вып. 4. С. 49–54.

REFERENCES

1. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2019: State report. Moscow: Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, 2020: 254 p. (in Russian)
2. Provorova V.V., Savel'yeva M.A., Krasnova E.I., Khokhlova N.I., et al. Topical issues of tick-borne infections at the present stage. *Sibirskiy meditsinskiy vestnik [Siberian Medical Bulletin]*. 2018; (3): 46–57. (in Russian)
3. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2018: State report. Moscow: Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, 2019: 254 p. (in Russian)
4. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2017: State report. Moscow: Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, 2018: 268 p. (in Russian)
5. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2016: State report. Moscow: Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, 2017: 220 p. (in Russian)
6. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2015: State report. Moscow: Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare, 2016: 200 p. (in Russian)
7. Platonov A.E., Karan L.S., Kolyasnikova N.M., Makhneva N.A., et al. Humans infected with the relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia. *Emerg Infect Dis*. 2011; 17 (10): 1816–22. DOI: <http://doi.org/10.3201/eid1710.101474>
8. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Novosibirsk region in 2019: State report. Novosibirsk: Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Novosibirsk Region, 2020: 280 p. (in Russian)
9. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Novosibirsk region in 2018: State report. Novosibirsk: Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Novosibirsk Region, 2019: 275 p. (in Russian)
10. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Novosibirsk region in 2017: State report. Novosibirsk: Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Novosibirsk Region, 2018: 290 p. (in Russian)
11. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Novosibirsk region in 2016: State report. Novosibirsk: Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Novosibirsk Region, 2017: 264 p. (in Russian)
12. The state of sanitary-epidemiological well-being of the population in the Novosibirsk region in 2015: State report. Novosibirsk: Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Novosibirsk Region, 2016: 250 p. (in Russian)
13. Sarksyant D.S., Platonov A.E., Karan' L.S., Malinin I.E., et al. Clinical features of the «new» tick-borne borreliosis caused by *Borrelia miyamotoi*. *Terapevticheskiy arkhiv [Therapeutic Archive]*. 2012; 84 (11): 34–41. (in Russian)
14. Chernyh V.I., Minoranskaya N.S., Titkov A.V., Platonov A.E., et al. Clinical course of ixodic tick-borne borreliosis caused by *Borrelia miyamotoi* in the Krasnoyarsk Territory. *Zhurnal infektologii [Journal of Infectology]*. 2020; 12 (2 S1): 134–5. (in Russian)
15. Platonov A.E., Toporkova M.G., Kolyasnikova N.M., Stukolova O.A., et al. Clinical manifestations of tick-borne borreliosis caused by *Borrelia miyamotoi*, in the context of immune response to the pathogen. *Terapevticheskiy arkhiv [Therapeutic Archive]*. 2017; 89 (11): 35–43. DOI: <http://doi.org/10.17116/terarkh2017891135-43> (in Russian)
16. Yakovchits N.V., Andaev E.I., Bondarenko E.I., Trushina Yu.N., et al. Assessment of the diagnostic significance of complex detection of tick-borne infections markers in patients affected by ticks' suction. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2016; (4): 58–65. (in Russian)
17. Lyubeznova O.N., Bondarenko A.L. Clinical and epidemiological aspects of tick-borne encephalitis in the endemic region of the European part of Russia. *Zhurnal infektologii [Journal of Infectology]*. 2016; 8 (2): 32–9. (in Russian)
18. Tkachev S.E., Fomenko N.V., Rar V.A., Igolkina Ya.P., et al. PCR detection and molecular-genetic analysis of tick-transmitted pathogens in patients of Novosibirsk region, Russia. *Int J Med Microbiol*. 2008; 298: 365–7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.12.010>
19. Krasnova E.I., Savel'eva M.V., Khokhlova N.I., Rar V.A., et al. Features of clinical manifestations and laboratory diagnosis of tick-borne relapsing fever caused by *B. miyamotoi* in the Novosibirsk region. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2017; (2): 10–6. (in Russian)
20. Rudakov N.V. *Rickettsia and rickettsioses: a guide for doctors*. Omsk, 2016: 424 p. (in Russian)
21. Igolkina Y., Krasnova E., Rar V., Savelieva M., et al. Detection of causative agents of tick-borne rickettsioses in Western Siberia, Russia: identification of *Rickettsia raoultii* and *Rickettsia sibirica* DNA in clinical samples. *Clin Microbiol Infect*. 2018; 24 (2): 199.e9–12. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.06.003>
22. Yakovlev E.A., Borisevich S.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., et al. Morbidity rates of Q fever in the Russian Federation and European countries: realities and problems. *Problemy osobo opasnykh infektsiy [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (4): 49–54. (in Russian)