

Н.В. Фоменко<sup>1</sup>, В.А. Рар<sup>1</sup>, Т.И. Епихина<sup>1</sup>, О.В. Мельникова<sup>2</sup>, Н.Я. Черноусова<sup>2</sup>**ВЫЯВЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К *BORRELIA BURGDORFERI* SENSU LATO И *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* У БОЛЬНЫХ, ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ С ДИАГНОЗОМ КЛЕЩЕВОЙ ЭНЦЕФАЛИТ**<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)<sup>2</sup>Муниципальная инфекционная клиническая больница № 1 (Новосибирск)

Проведено выявление антител к *Borrelia burgdorferi* sensu lato в крови 176 больных, госпитализированных с лихорадочным состоянием, развившимся после присасывания клещей, антитела выявлены в 61 случае. В группе больных с диагнозом клещевой энцефалит (КЭ) антитела к боррелиям выявлены в 40,3 % случаев. Кроме того, в крови 96 лихорадящих больных проведено выявление антител к *A. phagocytophilum*, антитела выявлены в 4 случаях, причем в 2 случаях антитела выявлены у больных с диагнозом КЭ.

**Ключевые слова:** боррелиоз, анаплазмоз, клещевой энцефалит

**DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST *BORRELIA BURGDORFERI* SENSU LATO AND *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* IN PATIENTS HOSPITALIZED WITH TICK-BORNE ENCEPHALITIS**N.V. Fomenko<sup>1</sup>, V.A. Rar<sup>1</sup>, T.I. Epikhina<sup>1</sup>, O.V. Mel'nikova<sup>2</sup>, N.Ya. Chernousova<sup>2</sup><sup>1</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk<sup>2</sup>Municipal Infectious Clinical Hospital N 1, Novosibirsk

The antibodies against *Borrelia burgdorferi* sensu lato were revealed in 61 of 176 blood samples of patients hospitalized with tick-borne febrile illnesses. In the group of patients with tick-borne encephalitis (TBE) the antibodies against *Borrelia* were detected in 40,3 % of cases. Moreover the detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum* was performed in 96 blood samples of patients with fever. Specific antibodies were revealed in 4 cases of patients with fever including 2 cases of patients with TBE diagnosis.

**Key words:** *Borrelia*, *Anaplasma*, tick-borne encephalitis

**ВВЕДЕНИЕ**

Таежные клещи *Ixodes persulcatus* являются переносчиками вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.). Помимо этого в *I. persulcatus* выявлен возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) — внутриклеточные грам-отрицательные бактерии *Anaplasma phagocytophilum* [4, 5, 10]. ГАЧ широко распространен в США, где до 2004 г. было отмечено более 2,5 тыс. случаев заболевания [13], в Европе зарегистрировано около 70 случаев заболевания.

В Новосибирской области в клещах *I. persulcatus* и мелких млекопитающих выявлены два вида боррелий: *B. afzelii* и *B. garini*. Кроме того, при тестировании сывороток больных, госпитализированных с диагнозом КЭ, положительные титры антител к белкам боррелий обнаружены в 35,7 % случаев [12]. На территории Новосибирской области ДНК *A. phagocytophilum* обнаружена в 2,4 % клещей *I. persulcatus* и в 4,2 % образцах крови мелких млекопитающих [9]. Выявление *A. phagocytophilum* в клещах и мелких млекопитающих свидетельствует о потенциальной опасности заражения. В России серологически подтвержденные случаи заболевания ГАЧ отмечены на территории Пермской [14] и Иркутской [1] областей, на Алтае [10], а также на Дальнем Востоке [11].

Присутствие в одном клеще нескольких возбудителей приводит к возникновению смешанных форм заболевания [2, 9]. На территории Новосибирской области смешанную инфекцию клещевого энцефалита (КЭ) и иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ), выявленного только по эритемным формам, отмечают в 10 — 13 % от числа заболевших КЭ [2]. Наличие в одном клеще нескольких возбудителей приводит к риску развития смешанной инфекции, что значительно усложняет диагностику, лечение, а также может приводить к более тяжелым формам заболевания.

**Целью** нашего исследования было выявление антител к *B. burgdorferi* s.l. и *A. phagocytophilum* в крови больных, госпитализированных в весенне-летний эпидемиологический период с диагнозом КЭ.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследованы образцы крови пациентов муниципальной инфекционной клинической больницы № 1 г. Новосибирска, госпитализированных в мае — августе 2004 — 2006 гг. с подозрением на КЭ. Основными критериями отбора проб крови было наличие факта присасывания клеща и повышение температуры выше 38,5 °С. Время, прошедшее от присасывания клеща до момента забора крови составило от 1 до 35 дней. На присутствие антител к

*B. burgdorferi* s.l. исследовано 176 проб крови, взятой в первый день госпитализации до проведения этиотропной терапии. На присутствие антител к *A. phagocytophilum* проанализировано 96 образцов крови, забранной в мае — августе 2006 г. Диагноз КЭ был установлен на основании эпидемиологического анамнеза, клинических симптомов и по результатам лабораторных тестов. Иммуноферментный анализ (ИФА) проводили с использованием коммерческих наборов ВектоВКЭ, («Вектор-Бест», Новосибирск). Все больные в зависимости от клинических проявлений были разделены на 3 группы. Группу 1 (62 человека) составили больные с подтвержденным диагнозом КЭ, группу 2 (7 человек) — больные со смешанной инфекцией (КЭ и ИКБ эритемная форма) и группу 3 (107 человек) — пациенты, у которых диагноз КЭ не подтвердился.

Кровь объемом 9 мл собирали в пробирки «Vacuette»-КЗЕ с 0,5 М ЭДТА (Австрия). Выявление антител к *B. burgdorferi* s.l. проведено методом РНИФ по ранее описанной методике [8, 12]. Диагностически значимыми считали титры IgM 1 : 10 и выше, и 1 : 40 и выше при использовании поливалентного конъюгата. Выявление антител к *A. phagocytophilum* проведено с применением наборов ГАЧ-IgM и ГАЧ-IgG (Омникс, Санкт-Петербург). Диагностически значимыми считались титры 1 : 100 и выше, в соответствии с рекомендациями производителя.

Статистическая обработка результатов выполнена с использованием общепринятых методов статистического анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 176 обследованных лихорадящих больных антитела к *B. burgdorferi* s.l., в диагностически значимых титрах выявлены в 35 % случаев, диагноз КЭ был поставлен в 39,2 % случаях. Патогномичным признаком ИКБ является мигрирующая эритема (МЭ), возникающая в месте присасывания клеща. Наличие МЭ при ИКБ значительно облегчает постановку диагноза, в то время как диагностика безэритемных форм затруднена. К особенностям безэритемной формы ИКБ относят более раннее и частое поражение органов на фоне выраженного общеинфекционного синдрома.

В группе больных с диагнозом КЭ (1 группа) антитела к боррелиям в диагностически значимых титрах выявлены в 25 (40,3 %) случаях (табл. 1). Показано, что при обследовании больных КЭ в Свердловской и Томской областях, циркуляция антител к боррелиям выявлена в 36,5 и 40 % случаев соответственно [5, 7]. У больных с микст-инфекцией КЭ и ИКБ эритемная форма (2 группа) антитела выявлены в 4 случаях (57,1 %) (табл. 1).

У 107 больных, госпитализированных с острым лихорадочным состоянием после присасывания клещей и не подтвердившимся в дальнейшем диагнозом КЭ, антитела к боррелиям выявлены в 32 (29,9 %) случаях (табл. 1). Выявление безэритемных форм ИКБ отмечено и в соседних областях, так в Кемеровской области, безэритемные формы

выявлены в 32 %, а в Томской области — в 60 % случаев от общего числа госпитализированных с подозрением на КЭ [6, 7].

Ранее было показано, что развитие иммунного ответа на антигены ВКЭ и *B. burgdorferi* s.l. у больных с микст-инфекцией отличается от иммунного ответа при моноинфекции КЭ или ИКБ. Образование антител к ВКЭ при ассоциированной инфекции происходит быстрее, а к боррелиям — замедляется [3]. В нашем исследовании значения титров противоборрелиозных антител в 1 и 3 группах отличались. При использовании поливалентного конъюгата выявлено что, в 1 группе антитела с титрами 1 : 160 и выше детектированы только в 2 случаях, тогда как в 3 группе — в 11 случаях. Показано, что в группе больных с КЭ (1 группа), достоверно чаще ( $F = 5,5$ ,  $v_2 = 25$ ,  $p < 0,05$ ) выявляются антитела в титрах 1 : 80, в то время как для больных с не подтвердившимся диагнозом КЭ (3 группа) преобладающими являются более высокие титры антител. Достоверного отличия между выявлением антител у больных КЭ и у больных с неподтвердившимся диагнозом КЭ не выявлено. При безэритемной форме ИКБ образование антител класса IgM как правило отмечается со второй недели болезни. Выявление серопозитивных сывороток на первой неделе болезни может говорить как о протекании заболевания в данный момент, так и о предшествовавшем контакте с возбудителем. Для предотвращения развития хронических форм ИКБ таким больным требуется проведение дополнительного обследования.

У лихорадящих больных, госпитализированных после присасывания клеща в эпидемиологический период 2006 г., кроме выявления противоборрелиозных антител было проведено выявление антител к *A. phagocytophilum*. Из 96 обследованных образцов антитела к *A. phagocytophilum* выявлены в 4 (4,2 %) случаях: IgG антитела с титрами 1 : 100, 1 : 200 и 1 : 400 и IgM антитела с титром 1 : 100. Схожий процент (2,99 %) серопозитивных сывороток больных, госпитализированных после присасывания клеща, отмечен в Иркутской области, в то же время в Пермской области у 16,4 % пациентов были обнаружены антитела к ГАЧ [14].

В Европе и США диагноз ГАЧ считается подтвержденным при выявлении возрастающего в 4 раза титра антител, изоляции возбудителя ГАЧ на питательные среды или выявлении ДНК *A. phagocytophilum*. В данной работе сыворотки были исследованы ретроспективно, поэтому динамика изменения титра антител не была исследована. Несмотря на малое число людей перенесших ГАЧ (во всех странах, кроме США), число людей с серопозитивными сыворотками достаточно велико. В европейских странах у 2 — 30 % людей были выявлены антитела к *A. phagocytophilum* [17], в США — у 11 — 15 % [16], в Монголии — у 2 — 5 % [15]. Высказывались различные предположения относительно причин столь высокого уровня серопозитивности, который может быть обусловлен бессимптомными случая-

Таблица 1

Выявление антител к боррелиям комплекса *B. burgdorferi* s.l.

| Титры антител                         | Группа         |               |                |
|---------------------------------------|----------------|---------------|----------------|
|                                       | 1              | 2             | 3              |
| $\Sigma$ Ig 1:160<br>IgM 1:20 и более | 2<br>(3,2 %)   | —             | 11<br>(10,3 %) |
| $\Sigma$ Ig 1:80<br>IgM 1:20          | 7<br>(11,3 %)  | 1<br>(14,4 %) | 5<br>(4,7 %)   |
| $\Sigma$ Ig 1:40<br>IgM 1:10          | 16<br>(25,8 %) | 3<br>(42,8 %) | 16<br>(14,9 %) |
| $\Sigma$ Ig -отр<br>IgM -отр          | 37<br>(59,7 %) | 3<br>(42,8 %) | 75<br>(70,1 %) |
| Всего                                 | 62             | 7             | 107            |

ми заболевания [13], либо инфицированием людей непатогенными штаммами. Кроме того, низкие титры антител могут быть обусловлены неспецифической перекрестной реакцией [16].

Несмотря на четкую клиническую картину каждой инфекции (КЭ и ИКБ) в остром периоде они имеют много общего: данные эпидемиологического анамнеза, общеинфекционный и катаральный синдромы, вегетативные проявления. Инфицирование анаплазмами, как правило, не сопровождается патогномичными симптомами. Общими с КЭ и ИКБ также являются данные эпидемиологического анамнеза и полиморфизм клинической симптоматики. Для острой фазы ГАЧ характерны тромбоцитопения, лейкопения, повышенный уровень печеночных ферментов (аминотрансферазы) и С-реактивного белка. Микст-инфекции, как правило, протекают клинически тяжелее, длительнее, могут сопровождаться различными осложнениями, кроме того, возможно развитие прогрессивного течения заболевания, которое может быть связано с персистенцией одного или обоих возбудителей [9, 7]. В нашем исследовании ИКБ (эритемная и безэритемная форма) выявлена у 32 больных КЭ (46,4 %), в двух случаях (2,9 %) антитела класса IgG к ГАЧ выявлены у больных с КЭ. Одновременное выявление КЭ, ИКБ и ГАЧ отмечены в Пермской области, где микст-инфекция ГАЧ и ИКБ выявлена в 10 %, а ГАЧ и КЭ только в 0,6 % случаев от числа исследованных [14].

Таким образом, показано, что у больных, госпитализированных с подозрением на клещевой энцефалит, серологически верифицируется не только КЭ, но так же выявляются антитела к *B. burgdorferi* s.l. и *A. phagocytophilum*. Противоборрелиозные антитела достаточно часто выявляются как у больных с подозрением КЭ, так и у больных с не подтвердившимся в дальнейшем диагнозом КЭ. Для своевременного обнаружения моно- и микст-инфекций ИКБ целесообразно проводить обследование больных в первые дни болезни наряду с КЭ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дифференциальная экспресс-диагностика и экстренная специфическая профилактика

трансмиссивных клещевых инфекций в городе Иркутске / И.В. Козлова, В.И. Злобин, М.М. Верхозина, М.А. Хаснатинов // Бюллет. сиб. мед. — 2006. — Приложение № 1. — С. 154—160.

2. Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит / А.П. Иерусалимский. — Новосибирск, 2001. — 58 с.

3. Избранные вопросы состояния клеточных факторов резистентности при клещевых природно-очаговых микст-инфекциях / Н.П. Пирогова, М.Р. Карпова, В.В. Новицкий, А.П. Зима и др. // Бюллет. сиб. мед. — 2006. — Приложение № 1. — С. 144—153.

4. Изучение генетического разнообразия анаплазм и эрлихий в паразитарных системах юга Западной Сибири и Урала / В.А. Рар, Н.Н. Ливанова, В.В. Панов, В.Б. Астанин и др. // Бюллет. сиб. мед. — 2006. — Приложение № 1. — С. 116—120.

5. Клиническая характеристика клещевого энцефалита при его сочетании с Лайм-боррелиозом / М.Л. Амосов, О.М. Лесняк, Р.Г. Образцова, В.Г. Мельников и др. // Вопр. вирусол. — 2000. — № 3. — С. 25—28.

6. Клинические варианты Лайм-боррелиоза в Кемеровской области / Л.Н. Кравчук, Э.И. Коренберг, М.И. Калинин, В.А. Сысолятин // Мед. паразитол. — 1993. — № 1. — С. 29—30.

7. Клинические проявления и дифференциальный диагноз иксодовых клещевых боррелиозов / Л.В. Лукашова, А.В. Лепехин, Н.Г. Жукова, М.Н. Добкина и др. // Бюллет. сиб. мед. — 2006. — Приложение № 1. — С. 99—105.

8. Коренберг Э.И. Методические указания по эпидемиологии, диагностике, клинике и профилактике болезни Лайма / Э.И. Коренберг, В.А. Насонова. — М., 1991.

9. Коренберг Э.И. Микст-инфекции, передающиеся иксодовыми клещами: современное состояние проблемы / Э.И. Коренберг // Успехи. совр. биол. — 2003. — № 5. — С. 455—486.

10. Новые данные о выявлении эрлихий и анаплазм в иксодовых клещах в России и Казахстане / С.Н. Шпынов, Н.В. Рудаков, В.К. Ястребов, Г.Н. Леонова и др. // Мед. паразитол. — 2004. — № 2. — С. 10—14.

11. Первый случай гранулоцитарного эрлихиоза на Дальнем Востоке Российской Федерации /

Ю.Н. Сидельников, О.Ю. Медяников, Л.И. Иванов, Н.И. Здановская // Клин. мед. — 2003. — № 81. — С. 67—68.

12. Фоменко Н.В. Детекция ДНК боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* в крови больных иксодовыми клещевыми боррелиозами / Н.В. Фоменко, Е.В. Романова, О.В. Мельникова, Н.Я. Черноусова и др. // Клин. лаб. диагн. — 2003. — № 12. — С. 49—50.

13. Bakken J.S. Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis / J.S. Bakken, J.S. Dumler // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 2006. — № 1078. — P. 236—247.

14. Human granulocytic anaplasmosis: risk in the Cisural region, Russia / M.V. Afanasieva, N.N. Vorobyeva, E.I. Korenberg, V.I. Frizen // Int.

J. Med. Microbiol. — 2006. — № 296, Suppl. 1. — P. 167—168.

15. Serological evidence for tick-borne encephalitis, borreliosis, and human granulocytic anaplasmosis in Mongolia / G. Walder, E. Lkhamsuren, A. Shagdar, J. Bataa et al. // Int. J. Med. Microbiol. — 2006. — № 296, Suppl. 1. — P. 69—75.

16. Seroprevalence of antibodies that react with *Anaplasma phagocytophila*, the agent of human granulocytic ehrlichiosis, in different populations in Westchester County, New York / M.E. Aguerro-Rosenfeld, L. Donnarumma, L. Zentmaier, J. Jacob et al. // J. Clin. Microbiol. — 2002. — № 40. — P. 2612—2615.

17. Strle F. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe / F. Strle // Int. J. Med. Microbiol. — 2004. — № 293, Suppl. 37. — P. 27—35.