

С.А. Шетекаури, И.А. Ольховский, Н.М. Марьина, Н.А. Дьяченко

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ СЕЗОННЫХ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В КРАСНОЯРСКОМ КРАЕ

Красноярский государственный медицинский университет

Среди регионов Восточной Сибири Красноярский край относится к территории с наиболее высокой эпидемической активностью сочетанных очагов нескольких природно-очаговых инфекций. Самой актуальной из них по-прежнему остаётся клещевой энцефалит (КЭ). Однако в последнее десятилетие к этой проблеме присоединились другие. Ландшафтные, геоботанические, фаунистические особенности Красноярского края создают условия для существования активных природных очагов не только КЭ, но и иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ), клещевого риккетсиоза (КР) и других трансмиссивных инфекций. Кроме того, общность переносчиков создает предпосылки для возникновения микст-инфекций (МИ) [4,5]. Представленные клещевые инфекции обоснованно относятся к нейроинфекциям (КН), так как одним из основных уровней поражения является нервная система [3].

Особую озабоченность вызывает заболеваемость КЭ. За последние 3 года уровень заболеваемости составил от 16,8 до 25,5, оставаясь одним из самых высоких в Российской Федерации. Случаи заболеваний регистрируются в 46 районах края (из 52 имеющихся). Ежегодно имеются от 2 до 10 случаев с летальным исходом.

Второй по частоте встречаемости среди КН является ИКБ, официальная регистрация которого была введена в 1992 году. С этого периода показатели заболеваемости варьируют от 4,4 до 29,1 на 100 тысяч населения, что также превышает средние российские показатели более чем в 3 раза.

В последние годы в крае все чаще на-

блюдаются случаи смешанных вирусно-бактериальных трансмиссивных инфекций. Наиболее часто сочетаются КЭ и ЛБ. Кроме того зафиксированы ассоциированные инфекции с риккетсиозом и эрлихиозом.

Все КН в остром периоде имеют сходные клинические симптомы. В связи с этим, остро стоят вопросы ранней и достоверной лабораторной диагностики всех сезонных (весенне-летних) лихорадочных состояний. Выявление и рост, возможно, связаны и с улучшением специфической верификации клинических диагнозов.

Источником инфицирования людей являются одни и те же переносчики – клещи *Ixodes persulcatus*. Оказалось, что зараженность боррелиями в 2 и более раза выше, чем вирусом КЭ. Эти результаты были получены путём исследования клещей методом темнопольной микроскопии и иммуноферментного анализа (ИФА). Зараженность клещей возбудителями КЭ в среднем составляет  $3,4\% \pm 0,8\%$ , а боррелиями –  $7,7 \pm 1,8\%$ .

Исследованиями доказано, что показатели заболеваемости КЭ и ИКБ прямо коррелируют с увеличением количества клещей и длительностью эпидемического сезона ( $p < 0,05$ ), который составляет около 5 месяцев.

Определено, что ежегодно увеличивается количество контактов населения с клещами. При этом число зафиксированных укусов в 10 – 20 и более раз превышает число заболевших.

Согласно принятому в крае алгоритму первым этапом диагностики после укуса является исследование клеща на выявление в нём антигенов возбудителей. На первых этапах апробирования алгоритма большие надежды возлагались на эти методы ранней (доклинической) диагностики. Были развернуты несколько лабораторий по диагностике выявления антигена методом ИФА в самих клещах и в сыворотках крови укушенных, который позволяет обнаружить антиген ВКЭ уже через 18 часов после заражения. При этом время выполнения анализов 1,5 – 3 часа. Однако экспресс-диагностика инфицированности клещей в эпидсезон 2008

года проведена лишь в 23,5%. В то же время экстренная профилактика противоклещевым иммуноглобулином проведена 75,2% обратившимся, что свидетельствует о необоснованности его введения без учёта исследования клещей на вирусофорность.

В сезон 2006 г. на присутствие антигена ВКЭ в крови было протестировано 1103 человека, самостоятельно обратившихся после укуса клеща, а также 167 клещей. В 20% случаев (218 человек) и 33% (55 клещей) была выявлена положительная реакция на тест - системах ИФА. Но эти находки сочетались с отрицательными результатами исследований крови на IgM и IgG к ВКЭ. Мы имели возможность установить, что из общего числа положительных реакций крови укушенных на антиген к ВКЭ, число заболевших составило 3,9%, а из количества положительных реакций в клещах всего 2,5%. Таким образом, исследование крови укушенных дает несколько больший процент последующего заболевания по сравнению с исследованием клеща. Однако оба метода не дали достоверных результатов.

Известно, что кратковременная антигенемия у многих иммунокомпетентных лиц не сопровождается клиническими проявлениями и не требует терапевтических вмешательств, однако, создает излишнюю напряженность для пациентов и специалистов. В связи с этим, в Красноярске всем укушенным с позитивными анализами на КЭ рекомендуется проведение профилактики специфическим иммуноглобулином или йодантипирином, а с положительными реакциями на ИКБ - антибиотиками.

Таким образом, исследование самих клещей

и крови укушенных в первые сутки с целью обнаружение антигена вируса КЭ одним методом, к сожалению, не подтвердило оптимистических прогнозов. После этого мы вынуждены были отказаться от обязательности включения одной методики в алгоритм ранней (доклинической) диагностики. Было очевидно, что эти исследования необходимо подтверждать другими методиками.

С 2004 г. диагностические исследования проведены у всех лиц, поступающих в весенне-летний период в стационары краевого центра и некоторых районов края с температурной реакцией, неврологическими симптомами, и имеющих в анамнезе укус клеща (табл. 1). Диагностика КН проводится методом ИФА в соответствии со следующим алгоритмом.

1. Исследование специфического IgM на две клещевые инфекции (КЭ и ИКБ) в первой пробе сыворотки, взятой у пациента в 1 сутки после поступления в стационар с подозрением на клещевую инфекцию.

2. Повторное исследование на IgM через 3-5 дней (при первом отрицательном результате) и IgG (динамика титра в парных постановках) при получении второй пробы сыворотки через 14 дней.

3. Исследование третьей и четвертой пробы сыворотки при отрицательных результатах и наличии клиники, а также для динамического наблюдения через 2 и через 3 месяца.

За три года было исследовано 13490 проб, с увеличением объемов в 2006 г. в два раза. При этом наибольшее количество исследований крови (2723) было проведено методом ИФА на выявление Ig M к вирусу КЭ и к боррелиям (2090).

Таблица 1

Динамика объема лабораторных исследований

Номенклатура исследований	Количество обследований по годам		
	2004 г.	2005 г.	2006 г.
IgM к ВКЭ	2507	1281	2723
IgG к ВКЭ	805	735	1522
Антиген ВКЭ в ИФА	0	1023	368
в РНГА	0	61	0
IgM к боррелиям	202	173	2090
Итого проб:	3514	3273	6703

Выбор метода иммуноферментного анализа обусловлен высокой чувствительностью и специфичностью.

Проведен сравнительный анализ исследования крови больных на антитела класса М и G при разных формах КЭ. Из таблицы 2 видно,

что ранние антитела Ig M (87,5%) чаще обнаруживались у больных с очаговыми формами КЭ и реже при лихорадочной форме (26,1%). Поздние антитела Ig G чаще (75%) выявляли у больных с очаговыми формами, чем с лихорадочными.

Таблица 2

Сравнительная верификация диагноза клещевого энцефалита методом ИФА

Формы КЭ	Ig M всего	Ig M полож	Ig M процент	Ig G всего	Ig G полож	Ig G процент
Лихорадочные	493	129	26,1	428	213	46,3
Менингеальные	24	11	45,8	20	13	65,0
Очаговые	16	14	87,5	12	9	75,0
ВСЕГО	533	154	28,8	460	235	51,5

Ежегодно количество исследований на ВКЭ превышает число проб на выявление боррелий во всех территориях более чем в 3 раза. Это указывает на меньшую настороженность к возможности заражения боррелиозом при укусе клеща.

Исследуя кровь больных, поступающих на стационарное лечение по поводу клещевой инфекции, был проведён анализ сроков выявления IgM к вирусу КЭ.

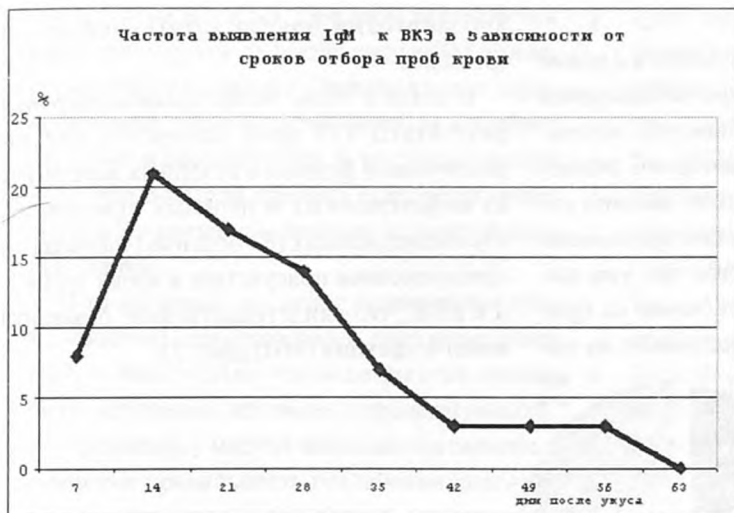


Рис. 1. Частота выявления IgM к вирусу КЭ в зависимости от сроков отбора проб сывороток крови

Лабораторная диагностика ИКБ осуществляется определением антител к боррелиям в непрямой РИФ или чаще методом ИФА с корпускулярным боррелиозным антигеном. В отличие от КЭ серологические тесты при ИКБ различаются степенью чувствительности и специфичности. Кроме того, существуют лож-

ноположительные результаты, серонегативные формы и межлабораторные различия [6]. Известно, что иммунный ответ при ЛБ может быть замедлен или приостановлен после назначения антибиотиков [7].

Проанализировав клинические и лабораторные исследования, был сделан вывод, что луч-

ший результат и наибольшее распространение получил тест нРИФ с боррелиозным антигеном. Этот метод имеет свои достоинства, но и недостатки, которые, однако, можно компенсировать другим методом, например ИФА.

Таким образом, при проведении лабораторной диагностики рекомендуется комплексное применение методов, выявляющих антигены возбудителей (РНГА, ИФА), антитела (IgM и IgG) против ВКЭ и боррелий (методом ИФА), а также РНК вируса КЭ и ДНК боррелий (методом ПЦР). При этом необходимо учитывать оптимальные сроки взятия проб материала.

В наших условиях диагностика безэритемных форм ИКБ в остром периоде осуществляется при исследовании сыворотки крови пациента одновременно на две инфекции КЭ и ИКБ. При необходимости осуществляется также постановка реакций с парными сыворотками. При этом первая берется в день поступления больного, а вторая не ранее, чем 2 недели после первой.

Учитывая полученные результаты и с целью дальнейшего совершенствования лабораторной диагностики КИ с 1999 года внедрен используемый и в настоящее время алгоритм диагностики. На основе экономического анализа его диагностической эффективности предложено не проводить повторных тестов при уже выявленном положительном результате на IgM, а освободившиеся средства направить на по-

вторный тест-исследование крови к другим возбудителям, в частности, - к эрлихиям (2).

Кроме того, была разработана ПЦР-диагностика проб ликвора для этиологической дифференциальной диагностики вирусных и боррелиозных менингитов и менингоэнцефалитов по выявлению РНК вирусов и ДНК боррелий. В связи с большой частотой распространения клещевых боррелиозов, решение о выборе метода терапии при этих клинических формах должно приниматься на основании обследования ликвора пациента методом ПЦР.

Ранее нами было установлено, что на территории Красноярского края циркулируют вирусы трансмиссивных инфекций, которые передаются человеку не только при укусе клеща, но и с укусом комаров. Поскольку в летний период люди могут подвергаться одновременному нападению этих насекомых, то в этиологической структуре острых сезонных инфекций могут быть инфекции, вызванные арбовирусами другой антигенной группы (рис.2).

В связи с этим, были проанализированы результаты 187 проб сывороток больных различными формами сезонных менингитов из инфекционных и нервных отделений. У 4% обследованных (63 больных) наблюдалось одновременное присутствие в крови IgM к КЭ и к ИКБ, что свидетельствовало о развитии микст-инфекции (МИ) (рис. 2).

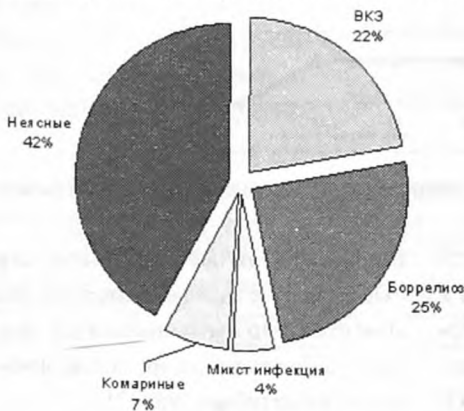


Рис. 2. Соотношение процента выявляемости специфических маркеров IgM при вирусных менингитах различной этиологии

Проведенные лабораторные исследования выявили, что острые арбовирусные инфекции занимают до 7% структуры заболеваний сезонными инфекциями на территории края. Серопозитивность обследованного населения по IgG достигает 10 % к вирусам энцефалитов калифорнийской антигенной группы и 9 % к вирусу Лихорадки Западного Нила. Эти результаты должны быть подвергнуты более тщательной проверке, так как они имеют важное значение для инфектологии края.

Оставшиеся 42% с неясным диагнозом могут быть больными с другими заболеваниями, возбудители которых ранее не исследовались (например – эрлихиозом, бабезиозом и т.д.).

Одной из частых проблем клещевых инфекций является проблема серонегативных форм, когда при наличии клиники инфекционного заболевания («лихорадочная форма») у больных нет серологического иммунного ответа при повторных исследованиях парных сывороток крови на КЭ и БЛ. При этом исключается какое-либо другое инфекционное заболевание, кроме трансмиссивного. Происхождение серонегативных форм остается неясным и требует изучения и расшифровки. В настоящее время ясно, что большой процент «серонегативных форм КЭ» связан с неизвестной ранее болезнью Лайма.

В то же время, в связи с появившейся возможностью лабораторного подтверждения ИКБ и МИ, только часть пациентов может быть исключена из числа «серонегативных». По-прежнему, у многих клиницистов вызывает сомнение правильность постановки диагноза энцефалита, основанная лишь на эпиданамнезе (укус клеща или нахождение в эпидемическом районе). Часто не все клинические проявления общеинфекционного синдрома можно уложить в клинику лихорадочной формы КЭ или ИКБ. Учитывая это, мы предприняли попытку и провели дифференциальную диагностику КЭ с другими клещевыми инфекциями, в частности с эрлихиозом. Было выявлено, что клещевые инфекции в сибирском регионе представлены

не только уже известными заболеваниями – КЭ и ИКБ, но и малоизученным эрлихиозом, также передающимся через укусы клеща, и их сочетаниями. Получены доказательства того, что во время укуса клеща человек может быть инфицирован сразу несколькими возбудителями. Неспецифичность клинических проявлений, сложности лабораторного подтверждения и возможность смешанных инфекций затрудняют их диагностику. Важнейшую роль в верификации всех острых сезонных инфекций имеют современные высокоинформативные методы исследования крови и ликвора (ИФА и ПЦР).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А.Н. Боррелии как вероятные антагонисты вируса клещевого энцефалита: паразитологический и клинический аспекты проблемы / А.Н. Алексеев, Е.В. Дубинина, М.А. Вашукова и др. // Мед. паразитол. и паразитарные болезни. - 2001. - №3. - С. 3-11.
2. Григорян Е.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика моноцитарного эрлихиоза человека в России: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.В. Григорян. - М., 2002. - 20с.
3. Деконенко Е.П. Основные формы поражения нервной системы при Лайм-боррелиозе / Е.П. Деконенко, Л.В. Куприянова, Ю.П. Рудометов, Л.Я. Ахадова // Неврологический журн. - 2001. - №5. - С. 9-12.
4. Коренберг Э.И. Болезнь Лайма / Э.И. Коренберг // Мед. паразитол. и паразитарные болезни. - 1993. - №3. - С. 48-51.
5. Лобзин Ю.В. Лайм – боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы) / Ю. В. Лобзин, А..Н. Усков, С.С. Козлов // - СПб, 2000. – С. 17-120.
6. Satz N. Diagnostic possibilities and limitations in Lyme borreliosis / N. Satz, M. Knoblauch // Schweiz. Med. Wochenschr. - 1989. - Vol. 119, №52. - P. 1883-1893.
7. Sorensen R.W. Lyme disease: neurologic manifestations / R.W. Sorensen // Compr. Ther. - 1989. - Vol. 15, №7. - P. 16-22.