

Сизикова Е.А., Оленькова О.М.
**КЛЕЩЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ: ОЦЕНКА ГУМОРАЛЬНОГО
ИММУНИТЕТА**

Кафедра инфекционных болезней и клинической иммунологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

Sizikova E.A., Olenkova O.M.
TICK-BORNE INFECTION: EVALUATION OF HUMORAL IMMUNITY
Chair of infection disease and clinical immunology
Ural State Medical University
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: e.a.sizikova@icloud.com

Аннотация. В статье представлен анализ гуморального иммунного ответа при клещевых инфекциях (клещевой вирусный энцефалит и Лайм-боррелиоз) на основе оценки уровня антител классов IgM и IgG в разные периоды болезни (наблюдения). Иммуноглобулины M и G к вирусу клещевого энцефалита (КЭ) и возбудителю Лайм-Боррелиза (ЛБ) выявляли с помощью методов ИФА и иммуноблоттинга. Использованы результаты исследований, проведённых в 2018 году на базе МАУ «Клинико-диагностический центр» (город Екатеринбург).

Annotation. The article presents an analysis of the humoral immune response in tick-borne infections (tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis) based on an assessment of the level of antibodies of the IgM and IgG classes at different periods of the disease (observation). The antibodies M and G class to tick-borne encephalitis virus (TBE) and Lyme Borreliosis (LB) pathogen were detected using ELISA and immunoblotting methods. The results of studies conducted for 2018 on the basis of the MAU Clinical and Diagnostic Center (Yekaterinburg) are used.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, болезнь Лайма, иммунный ответ, серологическая диагностика

Keys words: tick-borne encephalitis, borreliosis, immune response, serodiagnostic.

Введение

Клещевой энцефалит и клещевой боррелиоз являются самыми распространёнными заболеваниями, передающимися через укус клеща как на территории России [6, 7, 8], так и в Европе, Северной Америке, Китае и других странах, на территории которых преобладают лиственные, хвойные и

смешанные леса [8,10, 11]. По данным ВОЗ, ежегодно в мире регистрируется более 500 тысяч случаев заболеваний болезнью Лайма, а клещевым энцефалитом – 10-12 тысяч. Согласно отчёту Роспотребнадзора РФ за 2018 год, в нашей стране число заболевших боррелиозом составило 3935 случаев, клещевым энцефалитом – 1525. Заболеваемость Лайм-боррелиозом значительно превалирует над клещевым энцефалитом. Такая закономерность весьма характерна для последних лет [11].

Вирус клещевого энцефалита относится к семейству Flaviviridae. В своей структуре он имеет различные белки, обладающие антигенными свойствами. Наиболее хорошо изучен структурный поверхностный белок Е. Он характерен для всех флавивирусов и определяет тропизм к тканям (в частности, к лимфоидной и нервной) и проявление вирулентных свойств вируса. В связи с тем, что к этому антигену вырабатывается большая часть вируснейтрализующих антител, его используют в создании диагностикумов. В момент присасывания клеща вирусные частицы в составе слюны попадают под кожу и путём эндоцитоза проникают в лейкоцитарные клетки. Развивается Th1-зависимый иммунный ответ. Под действием интерферона происходит дифференцировка В-клеток. Иммуноглобулины класса М в крови начинают накапливаться к 4 дню после инфицирования и могут сохраняться в течение трёх месяцев, а при персистенции вируса обнаруживаются спустя три года. Титры антител IgG значительно повышаются к 21 дню. В связи с мутацией вируса и экспрессией качественно нового белка Е после проникновения через гемато-энцефалический барьер, спектры выявляемых антител в ликворе не совпадают со спектром антител в сыворотке крови [2].

Возбудитель боррелиоза относится к спирохетам вида *Borrelia burgdorferi sensu lato*. На территории России наиболее распространены: *Borrelia afzelii* и *B. Garinii* [5, 2].

Основными бактериальными антигенами являются: флагеллин (p41(Fla)), протеины поверхностной мембраны клетки (OspA, OspC и др.), мембранные протеины (VmpA) GroEL. На выявлении антител к данным антигенам основана серологическая диагностика - основной метод диагностики боррелиоза. Многие из антигенов боррелий обладают перекрёстными реакциями с другими микроорганизмами, в частности, с *Treponema pallidum*, *Salmonella typhimurium* [2, 5].

Высокую инвазивность боррелий обеспечивают компоненты слюны клеща [2, 3, 7], например, белок Salp15 [8], оказывающие иммуносупрессивный эффект. Это способствует активному размножению микроорганизма и его ранней диссеминации [3, 5, 6]. В 80% случаев, несмотря на факторы защиты макроорганизма, развивается местная воспалительная реакция, проявляющаяся в виде эритемы [2, 4, 5, 6].

Основным механизмом, направленным на элиминацию возбудителя, является фагоцитоз и экспрессия антигена боррелии с поверхности фагоцитов в комплексе с МНС-II. Синтезируются антитела, участвующие в опсонизации и

активации комплемента. Но боррелия имеет ряд защитных механизмов, направленных на уклонение от эффекторных клеток иммунной системы. Например, на поверхности боррелии имеются белки, посредством которых угнетается опсонизирующая функция C3b компонента комплемента [10]. Кроме этого, *B. burgdorferi sensu lato* обладает способностью модифицировать поверхностные липопротеины Ops, что обуславливает поликлональную активацию В-клеток [2], замедляя элиминацию возбудителя. В начальной стадии инфекционного процесса иммунный ответ протекает, преимущественно, по Th2-клеточному механизму [3, 5], а процессе развития инфекционного процесса активируются Th-1, способствующие хронизации заболевания. У детей показано равномерное участие Th1- и Th2- механизма [3], что связывают с более лёгким, а часто и бессимптомным течением болезни [5].

При проведении серодиагностики максимальные титры IgM регистрируются на 3-4 неделе после начала заболевания, а IgG – через 1,5-3 месяца [5, 6, 8].

Как было сказано выше, скрининговая диагностика клещевых инфекций (КЭ и ЛБ) основана на серологических методах: иммуноферментном анализе (ИФА) и иммунном блоте (ИБ). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) применяют реже [1, 5], в большей степени для выявления нуклеиновых кислот других возбудителей трансмиссивных инфекций (эрлихиоз, анаплазмоз и др.).

Так как лайм-боррелиоз и клещевой энцефалит имеют одного переносчика – иксодового клеща, то необходимо проводить комплексную лабораторную диагностику данных инфекций для своевременного дифференцирования вирусной или бактериальной этиологии заболевания, а значит и для быстрого и правильного назначения соответствующей терапии. Для получения достоверных результатов и правильной оценки динамики течения инфекционного процесса необходимо учитывать сроки появления антител и соответственно выдерживать оптимальное время между взятием проб клинического материала у пациента.

Цель исследования – определить средние сроки циркуляции IgM в крови заболевших и наличие сероконверсии титра антител к вирусу КЭ и возбудителю ЛБ.

Материалы и методы исследования

В данной статье представлены данные обследования на сезонные инфекции (КЭ и ЛБ) взрослых пациентов в возрасте от 18 до 89 лет ЛПУ г. Екатеринбурга на базе МАУ «Клинико-диагностический центр» за 2018 год. За весь год было проведено 2272 обследования, из которых были выбраны пациенты с двумя и более положительными пробами. Более детально было изучено 578 направлений на исследования, результаты этих исследований. Основному анализу были подвергнуты только 174 человека (т.к. в оценку не вошли лица, у которых присутствовала микст-инфекция (КЭ и ЛБ), т.е. был проведён анализ только моноинфекций -либо КЭ, либо ЛБ).

Все обследованные лица (n=174), были разделены на две группы наблюдения.

В группу 1 (n=126) вошли лица, у которых интервал между первой и последней пробой крови не превышает 60 дней.

В группу 2 (n=48) включены лица, у которых интервал между первой и последней пробой крови больше 60 дней.

В первой группе оценивали сроки, в которые наблюдали сероконверсию титра антител в сторону нарастания или снижения; во второй – определяли минимальные и максимальные сроки циркуляции IgM в крови. В обеих группах отсчёт периодов начинали с первого дня взятия пробы крови, т.к. точное время укуса неизвестно (в связи с отсутствием данной информации в направительных документах по причине недобросовестного заполнения медицинским персоналом ЛПУ).

Обследование пациентов с подозрением на клещевые инфекции включало в себя определение иммуноглобулинов класса М и G к вирусу клещевого энцефалита (тест-системы для ИФА производства ЗАО «Вектор Бест») и выявление антител IgM и IgG к возбудителю Лайм-Боррелиоза (тест - системы для ИФА NovaТес и ЗАО «Вектор Бест»). Положительные результаты на Лайм-Боррелиоз подтверждали методом иммунного блота (тест-системы «EUROIMMUN», Германия).

Для описания статистических данных использовался непараметрический критерий Манна-Уитни, так как распределение между выборками не соответствует нормальному.

Результаты исследования и выводы

Нами установлено, что циркуляцию IgM в среднем наблюдали до 163 дня при клещевом энцефалите (медиана = 165), при Лам-боррелиозе - 157-го дня (медиана = 160, мода = 114). $U=292$, $p<0.05$, данные статистически незначимы. В исследованиях отсутствовали пробы, в которых титр IgM был минимальным или вовсе был равен 0. Можно предположить, что иммунный ответ сохраняется более длительный период времени. Результаты ранее проведённых исследований подтверждают факт сохранения длительного напряжённого иммунитета к данным инфекциям [1, 5].

Было выявлено отсутствие особенностей сероконверсии при КЭ и при ЛБ как в нарастании, так и в снижении титра антител. Нарастание уровня иммуноглобулинов при КЭ отмечали на 16-й день наблюдения (медиана = 11, мода = 9), при ЛБ – на 13-й (медиана = 11,5, мода =9). $U=808$, $p<0.05$, данные статистически незначимы; снижение титра антител – при КЭ на 18-й день (медиана = 14, мода = 9), при ЛБ – на 14-й (медиана = 12, мода = 9). $U=640$, $p<0.05$, данные статистически не значимы. Полученные результаты соответствуют данным изученной литературы [1,2,9,11]. Вероятно, это зависит от времени между укусом и датой взятия пробы, особенностей иммунного ответа конкретного пациента, от восприимчивости к микроорганизму и от способности отвечать на элиминационную терапию.

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что на территории г.Екатеринбурга, период циркуляции IgM в среднем составляет 163 дня при КЭ и 157 дней – при ЛБ, что коррелирует с данными литературы. Наличие сероконверсии при КЭ на 15 день и при ЛБ – 13 дней, позволяют сделать вывод о необходимости придерживаться минимальных сроков между взятиями материала в 14 дней.

Список литературы:

1. Аммосов, А.Д.Клещевой энцефалит: информационно-методическое пособие / А.Д. Аммосов. – Кольцово: Институт средств медицинской диагностики ЗАО «Вектор-БЕСТ», 2006. 116 с.

2. Бикетов, С.Ф. Особенности этиологии и иммунопатогенеза иксодовых клещевых боррелиозов / С.Ф.Бикетов, В.В.Фирстова, И.И.Любимов // Проблемы особо опасных инфекций – 2009. № 101. С. 44 – 49

3. Железникова, Г.Ф. Патогенетические аспекты иксодового клещевого боррелиоза у детей / Г.Ф. Железникова, Н. В. Скрипченко, Г.П. Иванова [и др.] // Педиатр – 2012. №2. С. 75-86

4. Железникова, Г.Ф. Ранний цитокиновый и иммунный ответ при иксодовом клещевом боррелиозе у детей / Г.Ф. Железникова, Н.В. Скрипченко, Ю.П. Васильева [и др.] // Медицинская иммунология – 2002. №3. С. 459-466

5. Мазенюк, И.Н. Клещевые боррелиозы (болезнь Лайма): пособие для врачей / И.Н. Манзенюк, О.Ю. Манзенюк. – Кольцово: Институт средств медицинской диагностики ЗАО «Вектор-БЕСТ», 2005. 45 с.

6. Миноранская, Н.С. Механизмы иммуноцитокриновой регуляции в патогенезе иксодовых клещевых боррелиозов / Н.С. Миноранская, П.В. Сарап, Е.И. Миноранская // Вестник РАМН – 2014. №9. С. 110-116

7. Симакова, А.И. Особенности иммунного ответа у больных эритемной формой иксодового клещевого боррелиоза / А.И. Симакова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН – 2005. №4. С. 22 – 26

8. Barbro H. Skogman Adaptive and Innate Immune Responsiveness to *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Exposed Asymptomatic Children and Children with Previous Clinical Lyme Borreliosis / Barbro H. Skogman, Sandra Hellberg, Christina Ekerfelt, [etc.] // Clinical and Developmental Immunology. – 2012. – Vol. 2012. – p. 1 – 10

9. Blom, K. Cell-Mediated immune responses and immunopathogenesis of human tick-borne encephalitis virus-infection / K. Blom, A. Cuapio, J.T. Candberg // Frontiers in immunology – 2018. №9. – p. 1 – 10

10. Medlock, J.M. Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes Ricinus* ticks in Europe / J.M. Medlock, K.M. Hasford, A.Bormane [etc.] // Parasites & Vectors – 2013. - №1. – p. 1 – 11

11. <http://www.66.rospotrebnadzor.ru/>