

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Бесхлебова Ольга Васильевна

**СТРУКТУРА И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В АЛТАЙСКОМ КРАЕ**

14.01.09 – инфекционные болезни

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
кандидат медицинских наук, профессор
Гранитов Владимир Михайлович

Барнаул – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	15
1.1 Клинико-лабораторная характеристика клещевых риккетсиозов, вызванных <i>R. sibirica</i> и <i>R. heilongjiangensis</i>	15
1.2 Диагностика риккетсиозов, вызванных <i>R. sibirica</i> и <i>R. heilongjiangensis</i> . . .	22
1.3 Клинико-лабораторная характеристика иксодовых клещевых боррелиозов.	26
1.4 Диагностика иксодовых клещевых боррелиозов.	32
1.5 Клинико-лабораторная характеристика гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека.	36
1.6 Диагностика гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека.	41
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	44
2.1 Общая характеристика исследования.	44
2.2 Молекулярно-биологические методы исследования.	48
2.2.1 Экстракция нуклеиновых кислот.	49
2.2.2 Обнаружение вируса клещевого энцефалита, <i>Borellia burgdorferi sensu lato</i> , <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Ehrlichia chaffeensis</i> / <i>Ehrlichia muri</i>	50
2.2.3 Обнаружение вируса Кемерово.	50
2.2.4 Идентификация риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок. . . .	50
2.2.5 Типирование риккетсий.	51
2.3 Серологические методы исследования.	53
2.3.1 Иммуноферментный анализ.	53
2.3.2 Иммуночипы.	54
2.4 Исследование клещей.	55
2.5 Методы статистической обработки.	57
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	59
ГЛАВА 3 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА	

КЛЕЩЕВЫХ РИККЕТСИОЗОВ У ЖИТЕЛЕЙ АЛТАЙСКОГО КРАЯ.	60
3.1 Особенности лабораторной диагностики клещевого риккетсиоза.	60
3.2 Сравнительный анализ клинико-лабораторного течения клещевого риккетсиоза у «ПЦР-положительных», «серопозитивных» и «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов.	62
3.3 Клинико-лабораторная характеристика сибирского клещевого тифа у жителей Алтайского края.	68
3.4. Первый клинический случай клещевого риккетсиоза, вызванного <i>Rickettsia heilongjiangensis</i> в Алтайском крае.	78
ГЛАВА 4 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА У ЖИТЕЛЕЙ АЛТАЙСКОГО КРАЯ.	83
4.1 Особенности лабораторной диагностики иксодового клещевого боррелиоза.	83
4.2 Клинико-лабораторная характеристика иксодового клещевого боррелиоза у жителей Алтайского края.	84
ГЛАВА 5 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКСТ-ИНФЕКЦИЙ И ДРУГИХ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ У ЖИТЕЛЕЙ АЛТАЙСКОГО КРАЯ.	97
5.1 Клинико-лабораторная характеристика клещевых микст-инфекций у жителей Алтайского края.	97
5.2 Другие клещевые инфекции Алтайского края (клещевой энцефалит, гранулоцитарный анаплазмоз человека)	109
ГЛАВА 6 СПОНТАННАЯ ИНФИЦИРОВАННОСТЬ ПЕРЕНОСЧИКОВ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В АЛТАЙСКОМ КРАЕ.	112
6.1 Результаты исследования клещей, собранных в природе.	112
6.2 Результаты исследования клещей от людей, подвергшихся их нападению.	115
СХЕМА-АЛГОРИТМ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С ПОДОЗРЕНИЕМ НА КЛЕЩЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ.	118

ГЛАВА 7 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.	121
ВЫВОДЫ.	129
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	131
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	132
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	133
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	159
ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное) Карта клинического и лабораторного обследования больного клещевой инфекцией.	162
ПРИЛОЖЕНИЕ Б (справочное) Карта Алтайского края.	166

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

С начала XXI века в отдельных регионах Российской Федерации сохраняются высокие показатели заболеваемости клещевыми инфекциями с природной очаговостью [2; 44; 110]. Наличие регионарных особенностей распространенности и клинической картины этой группы заболеваний диктует необходимость их комплексного изучения в каждом из субъектов России [4; 9; 11; 12; 13; 16; 53; 88].

Алтайский край является эндемичным по ряду природно-очаговых заболеваний, переносчиками которых являются клещи. К настоящему времени на его территории известно существование четырех различной степени изученности нозологических форм клещевых инфекций: сибирский клещевой тиф (СКТ), иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), клещевой энцефалит (КЭ), гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) [120]. В работах приведено описание отдельных, наиболее часто регистрируемых, нозологий: сибирский клещевой тиф, иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой энцефалит [11; 31; 92; 116]. Однако остаются и нерешенные вопросы, в частности, требует уточнения этиологическая структура клещевых инфекций, с учетом возможности обнаружения новых для края патогенов и существования в регионе сочетанных природных очагов, возникает необходимость актуализации и обобщения знаний о клинической картине этих заболеваний.

В последние годы лабораторная диагностика заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, в Алтайском крае находится на низком уровне. В частности, лабораторно не верифицируется самая распространенная нозология – СКТ, диагноз которого основывается только на клинико-эпидемиологических данных. Недостаточная настороженность практических врачей в отношении безэритемных форм клещевого боррелиоза, как следствие, ведет к его гиподиагностике. Отсутствуют четкие алгоритмы обследования больных с подозрением на клещевые инфекции, позволяющие осуществлять раннюю

диагностику данной группы заболеваний.

Степень разработанности темы диссертации

История изучения клещевых инфекций с природной очаговостью насчитывает не одно десятилетие. По данным поиска в электронном ресурсе PubMed за последние 5 лет опубликовано более 5 тысяч статей, посвященных данной группе заболеваний. По данным ресурса Elibrary в течение этого периода времени опубликовано около 100 русскоязычных работ по теме клещевых инфекций.

Наиболее полно изучены и описаны аспекты, касающиеся, прежде всего, широко распространенных по данным официальной регистрации инфекций: сибирский клещевой тиф и иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой энцефалит [5; 6; 7; 15; 17; 96; 110; 111; 228; 236]. Так классическая клиническая картина СКТ описана еще в работах советских ученых [43; 62; 77; 81; 136; 138], ИКБ – в работах отечественных и зарубежных ученых конца 80-х, начала 90-х годов XX века [23; 51; 65; 153; 156]. Совершенствование лабораторной диагностики клещевых инфекций, позволило пополнить клиническую характеристику этих болезней описанием атипичных форм СКТ, безэритемных форм ИКБ [51; 61; 110; 145], а также изучением поражения отдельных органов и систем при ИКБ [7; 14; 15; 18; 36], развития «постлаймского» синдрома у реконвалесцентов ИКБ [75; 84; 244].

Ввиду наличия регионарных особенностей клещевых инфекций, авторами уделено внимание особенностям клинического течения этих заболеваний в различных субъектах РФ [2; 4; 9; 12; 16; 63; 68; 99; 103; 118; 138; 145].

Ряд работ посвящен современным методам лабораторной диагностики клещевых природно-очаговых инфекций: иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция с последующим секвенированием, биочипы, иммуночипы [10; 27; 40; 49; 83; 88; 89; 112; 147; 171; 203; 211].

Наименее изученными остаются «новые» инфекции: моноцитарный эрлихиоз, и гранулоцитарный анаплазмоз человека, которые преимущественно

освещены в зарубежных литературных источниках [152; 184; 196; 200; 227; 239].

Наличие общего для всех клещевых инфекций переносчика определяет возможность существования сочетанных природных очагов и развитие микст-форм данных инфекций. Возможно также заражения разными геновидами одного возбудителя [137].

В научных работах, касающихся Алтайского края, освещены некоторые вопросы эпидемиологии и клиники отдельных клещевых инфекций [11; 32; 96], а также особенности состояния системы гемостаза и реологические свойства крови у больных клещевым сыпным тифом Северной Азии [92].

Однако при анализе автором современных литературных источников назрела необходимость комплексного изучения клещевых инфекций на территории края с учетом изменившихся эколого-социальных условий и появления современных методов лабораторной верификации диагноза.

Цель исследования

Определить этиологическую структуру клещевых инфекций и особенности их клинических проявлений с учетом результатов комплекса лабораторных методов исследования.

Задачи исследования

1. Верифицировать диагноз клещевых инфекций при помощи лабораторных методов с одновременным исследованием нескольких биологических материалов от больных.
2. Изучить особенности клинического течения и лабораторной диагностики клещевых трансмиссивных инфекций в Алтайском крае.
3. Определить нозологическую структуру клещевых природно-очаговых инфекций в Алтайском крае на современном этапе и частоту спонтанной инфицированности переносчиков этих инфекций в природном очаге.
4. Разработать схему-алгоритм лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции в зависимости от сроков заболевания,

наличия патогномоничных для отдельных клещевых инфекций симптомов и предполагаемой этиологии.

Научная новизна

Впервые на территории Алтайского края обнаружение этиологических агентов клещевых инфекций проводилось с одновременным исследованием различных биологических материалов от заболевших: сгустка крови, биоптата (корочки) с места первичного аффекта, парных сывороток комплексом молекулярно-биологических и серологических методов.

Доказана этиологическая роль *R. heilongjiangensis* в возникновении случая клещевого риккетсиоза в Алтайском крае.

Установлено, что СКТ на территории края может протекать как в типичной форме с развитием лихорадочно-интоксикационного синдрома, наличием экзантемы, первичного аффекта в месте присасывания клеща и регионарного лимфаденита, так и в атипичной форме – без экзантемы (0,7 %).

Проведено сравнительное изучение информативности современных лабораторных методов обследования больных клещевыми инфекциями: ПЦР и ИФА для КР и ПЦР и иммуночип для ИКБ. Показано, что с наибольшей частотой подтверждают клинический диагноз КР и ИКБ серологические методы исследования (ИФА и иммуночип соответственно). Метод ПЦР в диагностике КР показывает наибольшую диагностическую эффективность при исследовании биоптатов с места первичного аффекта (81,5 %).

Подтверждено наличие клещевых микст-инфекций, и впервые дана клиническая характеристика этой группы заболеваний с учетом частоты встречаемости отдельных клинических симптомов.

Впервые на территории края в клещах установлено наличие нового для региона возбудителя – вируса лихорадки Кемерово.

Теоретическая и практическая значимость работы

Определена нозологическая структура клещевых инфекций, в том числе

выявлен новый возбудитель, что позволило расширить спектр природно-очаговых трансмиссивных инфекций, регистрируемых на территории края.

Изучена клиническая картина клещевых инфекций, в т. ч. их микст-форм, позволяющая обосновывать предварительный диагноз этих заболеваний.

Проведена сравнительная оценка молекулярно-биологических (ПЦР) и серологических методов обследования (ИФА, иммуночип), что позволит улучшить качество обследования больных с подозрением на клещевые инфекции.

На основании проведенных исследований и анализа литературных данных разработана схема-алгоритм лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции, использование которой оптимизирует своевременную диагностику этих заболеваний.

Методология и методы диссертационного исследования

Методологической основой диссертационной работы послужило последовательное использование эмпирических и теоретических методов познания. Для динамической оценки состояния объекта исследования (больной человек) в различные периоды заболевания использовались общепринятые в клинической практике эмпирические методы: опрос пациента, физикальное, клинико-лабораторное и инструментальное обследование. Теоретические методы научного исследования включали в себя формализацию, анализ, сравнение и обобщение полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту

1. На территории Алтайского края установлено наличие следующих клещевых инфекций с природной очаговостью: сибирский клещевой тиф (64,8 % от числа госпитализированных взрослых), клещевой риккетсиоз, вызываемый *R. heilongjiangensis* (0,5 %), иксодовый клещевой боррелиоз (21,6 %), клещевой энцефалит (1,8 %), гранулоцитарный анаплазмоз человека (0,5 %), а также микст-инфекции (10,8 %).

2. Сибирский клещевой тиф в крае протекает преимущественно в типичной форме (99,3 %) с наличием лихорадочно-интоксикационного синдрома, характерной экзантемы и клинически не отличим от впервые выявленного на территории Алтайского края клещевого риккетсиоза, вызванного *R. heilongjiangensis*.

Большинство случаев иксодового клещевого боррелиоза в Алтайском крае протекает в эритемной форме (78,3 %) и имеет легкое течение.

3. Клещевые микст-инфекции на территории Алтайского края обусловлены сочетанием двух либо трех нозологий, одной из которых является клещевой риккетсиоз с доминированием сочетания клещевого риккетсиоза + иксодового клещевого боррелиоза (73,9 %). В клинической картине микст-инфекций доминируют симптомы лихорадочно-интоксикационного синдрома и поражения кожи в виде эритемы либо характерной для клещевого риккетсиоза экзантемы.

4. Иммуноферментный анализ является высокоинформативным лабораторным методом диагностики клещевого риккетсиоза, диагностическую эффективность которого повышает исследование парных сывороток, забранных с интервалом в 7–10 дней. Метод полимеразной цепной реакции показывает высокую диагностическую значимость при клещевом риккетсиозе (81,5 %) лишь при исследовании биоптатов с места первичного аффекта. Серологическое обследование на иксодовый клещевой боррелиоз методом иммуночипов с обнаружением иммуноглобулинов класса IgM эффективно, начиная со второй недели болезни.

5. Спонтанная инфицированность клещей, собранных на территории Алтайского края, составляет 73,6 %. Помимо возбудителей клещевых инфекций, регистрируемых в регионе (*B. burgdorferi sensu lato*, *A. phagocytophilum*, *R. sibirica sensu stricto*, вирус клещевого энцефалита), в клещах выявлены микроорганизмы (*R. raoulti*, *R. tarasevichae*, вирус Кемерово), чья этиологическая роль в возникновении заболеваний в крае, по результатам проведенного исследования, установлена не была.

Степень достоверности

Степень достоверности результатов, полученных в ходе выполнения работы, определяется анализом репрезентативной выборки больных клещевыми инфекциями (всего 213 человек). Все этапы обследования больных и динамическое наблюдение за ними нашли отражение в разработанной соискателем «Карте клинического и лабораторного обследования больного клещевой инфекцией». Лабораторные исследования клещей и биологических материалов от больных выполнены в ведущем научно-исследовательском институте РФ (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва). В работе использованы статистические методы, адекватные поставленным цели и задачам исследования. Сформулированные выводы логически вытекают из анализа полученных результатов.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: 4-й Итоговой конференции научного общества молодых ученых и студентов, посвященной 60-летию Алтайского государственного медицинского университета (Барнаул, 2014); ESCCAR, International congress on Rickettsia and other intracellular bacteria Lausanne (Switzerland, 2015); 17-й и 18-й городской научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь-Барнаулу» (Барнаул, 2015, 2016); юбилейной научно-практической конференции, посвященной 100-летию зав. кафедрой инфекционных болезней Казанского государственного медицинского университета, профессора А. Е. Резника «Актуальные проблемы инфекционных болезней (вопросы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики)» (Казань, 2016); 2-й Итоговой научно-практической конференции научного общества молодых ученых инноваторов и студентов Алтайского государственного медицинского университета (Барнаул, 2017); 16-й и 17-й научно-практической конференции Алтайского государственного медицинского университета, посвященной дню Российской науки (Барнаул, 2016, 2017).

Диссертационная работа апробирована на заседании кафедры инфекционных болезней и фтизиатрии и Экспертном совете ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (Барнаул, 2017).

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, номер государственной регистрации АААА-А17-117120500008-5.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в практическую работу инфекционного, неврологического стационаров г. Барнаула (КГБУЗ «Городская больница № 5 г. Барнаул») и кабинета инфекционных заболеваний КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул), а также в учебный процесс на пятом курсе лечебного, педиатрического и медико-профилактического факультетов на кафедре инфекционных болезней и фтизиатрии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 1 монография, 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 3 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 166 страницах машинописного текста и состоит из введения, 7 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и

условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложений. Список литературы представлен 248 источниками, из которых 103 – в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 18 таблиц и 19 рисунков.

Личный вклад автора

Автором лично определены цель и задачи исследования, выбраны объекты и методы исследования, разработана «Карта клинического и лабораторного обследования больного клещевой инфекцией». Автором самостоятельно проведено клиническое обследование пациентов, сформирована и статистически обработана электронная база данных первичных материалов. Автор принимал непосредственное участие в заборе биологических материалов от больных, а также в проведении лабораторного исследования полученных материалов и переносчиков на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва.

Доля личного участия автора в накоплении, обобщении и анализе материала составила 100 %, в лабораторном обследовании больных – 80 %.

Автор выражает огромную благодарность своему научному руководителю Заслуженному врачу РФ, Заслуженному работнику науки и образования, Почетному Президенту Ассоциации инфекционистов Алтайского края, к. м. н., профессору Гранитову Владимиру Михайловичу за всестороннюю помощь на всех этапах выполнения диссертации.

Выражаю глубокую признательность к. м. н., младшему научному сотруднику ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт Эпидемиологии» Роспотребнадзора», г. Москва, Дедкову Владимиру Георгиевичу за помощь в исследовании клещей и биологических материалов от больных.

Выражаю признательность д. м. н., руководителю лаборатории экологии риккетсий ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи» г. Москва Шпынову Станиславу Николаевичу за научно-консультационную помощь в изучении риккетсиозов в Алтайском крае.

Выражаю искреннюю благодарность всем сотрудникам кафедры инфекционных болезней и фтизиатрии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России во главе с д. м. н., профессором Карбышевой Ниной Валентиновной, а также сотрудникам инфекционного отделения КГБУЗ «Городская больница № 5» г. Барнаула за помощь, оказанную в выполнении работы.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшее изучение клещевых природно-очаговых инфекций требует выяснения роли микроорганизмов, обнаруженных в клещах, как возможного этиологического фактора «новых» инфекций на территории Алтайского края.

С учетом высокой инфицированности клещей (73,6 %), в т. ч. одновременно различными возбудителями (18,8 %), а также значительной долей выявленных нами микст-инфекций (10,8 %), необходимо совершенствование клинической и лабораторной диагностики данной группы заболеваний.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Клинико-лабораторная характеристика клещевых риккетсиозов, вызванных *R. sibirica* и *R. heilongjiangensis*

Академик П. Ф. Здродовский и Е. М. Голиневич в монографии «Учение о риккетсиях и риккетсиозах» писали: «Под названием клещевого риккетсиоза или клещевого сыпного тифа Северной Азии, в настоящее время объединяют риккетсиозные заболевания, обнаруженные в СССР советскими исследователями» [43]. Прогресс в изучении видового состава риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок (КПЛ), достигнутый в последние годы, поменял представление о клещевых риккетсиозах. Ранее считалось, что имеется один патоген – *Rickettsia sibirica*, вызывающий клещевой риккетсиоз под названием «сибирский клещевой тиф». В течение нескольких последних лет обнаружено еще 6 видов патогенных для человека риккетсий, переносчиками которых являются иксодовые клещи [110].

На сегодняшний день, ввиду отсутствия типирования риккетсий и молекулярно-генетического подтверждения диагноза, в клинической практике под диагнозом «сибирский клещевой тиф» регистрируют клещевой риккетсиоз, вызываемый *Rickettsia sibirica* и *R. heilongjiangensis*, а также другими недавно описанными риккетсиями. Поэтому в настоящее время термин «клещевой риккетсиоз» объединяет группу заболеваний риккетсиозной этиологии, характеризующихся лихорадкой и сыпью, возбудители которых передаются иксодовыми клещами.

Заболевание под названием «сибирский клещевой тиф» на территории Российской Федерации официально регистрируется Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Все верифицированные случаи СКТ связаны с *R. sibirica subsp. sibirica* [110]. Исторически существует еще ряд синонимов названия данной инфекции, как на русском, так и на английском языках: клещевой сыпной тиф Северной Азии,

клещевой риккетсиоз Северной Азии, клещевой риккетсиоз Сибири и Дальнего Востока, сыпная клещевая лихорадка, восточный сыпной тиф, siberian tick-born rickettsiosis, siberian tick typhus, north-asiantick typhus, rickettsiosis of North Asia, ixodo-rickettsiosis asiatica и др.

Основываясь на клинической картине СКТ, Н. В. Рудаков и соавт. склоняются к мнению, что название «сибирский клещевой тиф» неприемлемо к данной нозологии, поскольку классического тифозного состояния при ней не возникает [126].

Поскольку данный риккетсиоз эндемичен, в основном, для территории Азиатской части России и Казахстана [81; 179; 223; 238], то описание его клинической картины в большей степени представлено в работах отечественных ученых: Н. В. Сергеева (1944) [121], Г. М. Цыганкова (1948) [142], С. М. Кулагина (1953) [72], М. М. Лысковцева (1963) [81], К. М. Лобана (1980) [77], В. М. Гранитова и соавт. (1988) [32], М. А. Никулиной (2000) [92], Н. В. Рудакова и соавт. (2001, 2012) [110; 111], О. В. Сахарук [118], А. К. Аитова (2004) [2].

Инкубационный период при СКТ колеблется от 1 до 22 дней, составляя в среднем 3–7 дней [3; 11; 29; 32; 43; 57; 59; 62; 77; 96; 97; 119]. Сокращение инкубационного периода до 1–3 дней наблюдается, в основном, при тяжелом течении заболевания [29; 57]. У некоторых больных инкубационный период не представляется возможным установить ввиду многократного присасывания клещей, либо отрицания такового [3; 11; 32; 119].

На основании динамики основных симптомов и длительности заболевания выделяют три периода: начальный или доэξανтемный – первые 2–4 дня болезни, период разгара (от момента появления сыпи до исчезновения лихорадки), длящийся 3–7 дней, период реконвалесценции (от момента снижения температуры и угасания всех симптомов болезни до полного физиологического восстановления организма) [72; 81].

С учетом общего состояния больных, высоты и длительности лихорадки, интенсивности и характера экзантемы течение СКТ подразделяется на легкую, среднетяжелую и тяжелую формы. Большинство авторов указывают на

преобладание средней степени тяжести заболевания [3; 11; 32; 62; 77; 81; 92; 110; 129].

В подавляющем большинстве случаев имеет место острое начало болезни (у 78,5–100,0 % больных) [11; 57; 59; 62; 78; 97; 119; 136]. При постепенном начале наблюдаются продромальные явления длительностью от 1 до 3 дней, характеризующиеся общей слабостью, быстрой утомляемостью, ознобом, миалгиями, головной болью, потерей или снижением аппетита, ухудшением сна, субфебрильной температурой тела, гиперемией зева и незначительными катаральными явлениями со стороны верхних дыхательных путей.

Лихорадка является постоянным симптомом СКТ. Повышение температуры тела до субфебрильных и фебрильных цифр наступает уже в первый день болезни с достижением максимальных значений на 3–4 сутки. Температурная кривая носит постоянный, реже ремиттирующий характер. Снижается температура литически или по типу укороченного лизиса. В редких случаях возможно критическое падение температуры с последующим сохранением субфебрилитета [77]. Продолжительность лихорадочного периода, в зависимости от тяжести заболевания, варьирует в широких пределах от 1 до 20 дней, чаще составляя 6–15 дней [43; 57; 62; 77; 110]. Температурная реакция сопровождается симптомами интоксикации: общей слабостью, ознобом, чувством жара, головной болью, потливостью, ломотой в теле, артралгией и миалгией, снижением или отсутствием аппетита, нарушением сна, тошнотой, рвотой и катаральными явлениями со стороны верхних дыхательных путей. Нарастание симптомов происходит в течение первых дней болезни.

Одним из характерных признаков заболевания, который может быть обнаружен еще до повышения температуры тела, является специфическая кожная реакция на внедрение *R. sibirica* – первичный аффект [110]. Первичный аффект представляет собой инфильтрированный участок кожи, в центре которого расположен некротический участок или язвочка, покрытый темно-коричневой корочкой. Периферическая часть аффекта окружена венчиком гиперемии, по краям которой могут образовываться мелкие везикулы. Размеры первичного

аффекта вместе с гиперемией и инфильтратом варьируют от нескольких миллиметров до 5 см в диаметре. Болезненность и отечность для первичного аффекта не характерны, за исключением случаев присоединения вторичной инфекции, чаще стафилококкового характера [3; 38; 133]. При множественных укусах клеща могут наблюдаться 2 и более первичных аффекта.

Трудности обнаружения первичного аффекта в связи с отрицанием больными факта присасывания клеща, его безболезненностью и маленькими размерами приводят к тому, что в 9,6–26,0 % случаев выявить его не представляется возможным [3; 11; 59; 110; 118], что, однако, не исключает диагноз СКТ. Локализация первичного аффекта может быть разнообразной. Как правило, заживление первичного аффекта наступает к 9–20 дню заболевания и на его месте остается шелушение кожи или гиперпигментация.

В 38,0–89,0 % случаев первичному аффекту сопутствует регионарный лимфаденит [3; 11; 62; 77; 96; 118]. Лимфатические узлы эластичны, подвижны, не спаяны между собой и с окружающей тканью, малоболезнены или безболезнены, кожа над ними не изменена. Их размер не превышает 2,5–3,0 см в диаметре. Первичный аффект, в совокупности с регионарным лимфаденитом, составляет так называемый первичный комплекс [81]. Патологическая реакция возможна и со стороны лимфатических узлов, территориально не связанных с локализацией первичного аффекта (бронхопульмональные, мезентериальные), что указывает на общую реакцию лимфатического аппарата на риккетсиемию и аллергизацию организма при СКТ [78]. Регионарный лимфаденит исчезает без остаточных изменений в течение 15–18 дней.

Характерная экзантема знаменует период разгара и является еще одним патогномоничным признаком клещевого риккетсиоза. Она появляется на 2–4 день от начала болезни, реже на 1–2 и после 9–10 дня болезни [3; 45; 92; 138; 212]. Большинство авторов отмечают этапность высыпаний с первичной их локализацией на конечностях и дальнейшим распространением на туловище, шею, лицо и ягодицы, иногда захватываются ладони и стопы [11; 78; 110; 115]. Однако имеются указания на первичное появление экзантемы на туловище с

последующим распространением на дистальные отделы конечностей [29]. Повторные высыпания отмечаются в 0,8–3,0 % случаев заболевания.

Сыпь, как правило, обильная располагается на фоне неизмененных кожных покровов, имеет полиморфный характер и состоит из розеол, папул и пятен до 10 мм в диаметре без склонности к слиянию. При тяжелом течении заболевания может иметь место петехиальный характер сыпи [2; 119]. Высыпания наблюдаются в течение 2–19 дней и исчезают, оставляя после себя пигментацию или отрубевидное шелушение [11; 58; 62; 92].

При атипичном течении заболевания наблюдается отсутствие экзантемы при наличии первичного аффекта и реакции со стороны регионарных лимфатических узлов, что может затруднять постановку диагноза [2; 16; 110; 145].

Нередко у больных наблюдается гиперемия и одутловатость лица, инъекция сосудов склер. Возможно появление отека и гиперемии мягкого неба, язычка и миндалин, экзантема [110].

Характерными изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы являются брадикардия, чаще относительная, и гипотония, наблюдаемые в 35,8–91,0 % и 47,2–90,6 % случаев, соответственно [11; 32; 62; 92; 119]. У лиц пожилого возраста с сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями отмечается склонность к повышению артериального давления [3; 11; 39; 62; 92]. Поражение миокарда при СКТ проявляется в виде приглушения тонов сердца, систолического шума в точке выслушивания верхушки сердца, расширения границ сердечной тупости.

Изменения со стороны центральной нервной системы носят транзиторный характер, выявляются уже в первые сутки от начала болезни и характеризуются головной болью, носящей локальный или диффузный характер и сопровождающейся бессонницей или беспокойным прерывистым сном [62; 92; 110]. На высоте лихорадки отмечаются психоэмоциональные нарушения: вялость, апатия, заторможенность [3; 11; 57; 110]. Очаговая симптоматика и поражение мозговых оболочек с развитием менингеальных симптомов или менингизма встречаются крайне редко [2; 62; 81; 119].

Поражение пищеварительной системы выражается в обложенности языка, снижении аппетита, кратковременной диарее, наличии тошноты и рвоты, боли в эпигастральной области. Все исследователи указывают на обнаружение гепатомегалии, частота которой колеблется от 10,0 % до 53,3 % [3; 11; 29; 32; 96; 119]. Спленомегалия определяется несколько реже.

Изменения со стороны мочевыделительной системы встречаются нечасто и ограничиваются незначительной «лихорадочной» протеинурией и лейкоцитурией [29; 32; 57; 119].

Органы дыхания особых изменений не претерпевают. При объективном обследовании возможно выявление катаральных явлений со стороны верхних дыхательных путей, что в сочетании с изменениями в зеве может рассматриваться, как проявления присоединившейся острой респираторно-вирусной инфекции [11]. В легких может выслушиваться жесткое дыхание и единичные сухие хрипы.

Картина периферической крови в разгар заболевания характеризуется нормоцитозом, реже лейкопенией или лейкоцитозом [3; 32; 59; 62; 77; 96; 128]. Развиваются эритропения и умеренная нормохромная или гипохромная анемия [128]. Примерно у половины больных отмечается увеличение скорости оседания эритроцитов [3; 32; 128]. Сдвиг лейкоцитарной формулы влево с преобладанием палочкоядерных нейтрофилов отмечается, преимущественно, у больных с тяжелым, реже со среднетяжелым течением [128]. У больных со среднетяжелым течением в разгар заболевания увеличивается количество тромбоцитов, при тяжелом течении, напротив, отмечается тромбоцитопения [129]. Изменения со стороны периферической крови носят преходящий характер и исчезают в течение 10–12 дней проведения специфической и дезинтоксикационной терапии [128].

В биохимическом анализе крови обнаруживается повышение АлАТ и АсАТ, но не более 1,5–2,0 норм [110].

В период реконвалесценции исчезают симптомы, улучшается общее самочувствие больного. В целом течение заболевания доброкачественное, однако, в литературе имеются указания на возможные осложнения в виде тромбофлебита,

острого токсического миокардита, полиневрита, поясничного радикулита [77; 81]. Синуситы, ринит, ларингит, бронхит, пневмония рассматриваются как осложнения, обусловленные присоединением вторичной микрофлоры [77].

Исход заболевания благоприятный с полным восстановлением трудоспособности больного. Только В. А. Никонов в «доантибиотический» период отмечал два случая смертельного исхода у больных СКТ. Обострений и рецидивов не бывает.

Дальневосточный клещевой риккетсиоз, возбудителем которого является *R. heilongjiangensis*, имеет сходную клиническую картину с СКТ [113; 236]. Заболевание начинается остро с повышения температуры до фебрильных цифр, ознобов и выраженного интоксикационного синдрома с головной болью. Больных беспокоит головокружение, в 87,5 % случаев – миалгии. Характерным признаком заболевания, как и при СКТ, является пятнистая или пятнисто-папулезная сыпь, возникающая на 1–7 день от начала заболевания, которая держится ($5,6 \pm 1,2$) дней [88] и быстро угасает на фоне антибиотикотерапии. У большинства больных отмечается первичный аффект в виде очага воспаления с участком некроза в центре, окруженного областью гиперемии. Первичный аффект сопровождается регионарным лимфаденитом с развитием, в некоторых случаях, выраженного подкожного лимфангоита.

Изменения со стороны сердечно-сосудистой системы, как и при СКТ, характеризуются глухостью сердечных тонов и гипотонией. Преобладает тахикардия (75 %).

В общем анализе крови наблюдаются лейкоцитоз и лейкопения. У всех больных отмечается выраженный сдвиг лейкоцитарной формулы влево, у большинства – увеличение СОЭ. Риккетсиоз имеет доброкачественное течение без осложнений и летальных исходов [149].

Гепатомегалия отмечена у 37,5 % больных и в ряде случаев сопровождается повышением активности сывороточных трансфераз.

О. Ю. Медяников в своей работе указывает на следующие отличия клиники дальневосточного клещевого риккетсиоза от СКТ: менее выраженная

неяркая и редкая сыпь, частое, по сравнению с СКТ, возникновение подкожного лимфангита [88].

1.2 Диагностика риккетсиозов, вызванных *R. sibirica* и *R. heilongjiangensis*

Ранняя диагностика СКТ основывается на клинико-эпидемиологических данных и в типичных случаях не вызывает затруднения. Возможность атипичного течения заболевания, наличие сопряженных ареалов и выраженная схожесть клинических проявлений риккетсиозов группы КПЛ диктуют необходимость лабораторной верификации диагноза.

Выделение риккетсий является абсолютным подтверждением заболевания. Длительное время основным методом изоляции риккетсий служила биопроба на лабораторных животных (самцах морских свинок) с развитием различных форм экспериментальных риккетсиозов (наиболее характерен скротальный феномен). В настоящее время для культивирования риккетсий также используются живые системы: развивающиеся куриные эмбрионы, перевиваемые культуры клеток Vero, Hep-2, HeLa, L929 [1; 104; 110].

Поскольку риккетсии группы КПЛ относятся к III группе патогенности, их культивирование можно осуществлять только в специализированных риккетсиологических лабораториях или лабораториях особо опасных инфекций, что ограничивает использование методов выделения чистой культуры в рутинной диагностической практике.

На территории Российской Федерации лабораторная диагностика СКТ и других риккетсиозов группы КПЛ осуществляется на основании утвержденных методических документов [98; 144], где регламентированы только серологические методы обследования.

Основные серологические методы включают в себя микрометод реакции связывания комплемента с цельнорастворимым антигеном *R. sibirica*, реакцию непрямой иммуофлюоресценции, реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА).

Все реакции основаны на использовании специфических антигенов, выделенных из биомассы *R. sibirica*. Для РСК – это цельнорастворимый антиген, для РНИФ – корпускулярный антиген, для РНГА – липополисахаридный комплекс. Эти методы используются в диагностической практике на протяжении длительного времени и характеризуются относительно высокой специфичностью [40].

«Золотым стандартом» серологической диагностики СКТ является РНИФ, отличающаяся высокой чувствительностью и специфичностью, быстротой получения результата и возможностью одновременного тестирования одного образца сыворотки с разными антигенами [40; 73]. Применение ее микроварианта с точечным нанесением корпускулярного антигена обуславливает низкие затраты сыворотки и антигенов для проведения анализа [133]. Данный метод может применяться для выявления как совместно, так и отдельно IgM и IgG в сыворотке крови больного, в зависимости от применяемых конъюгатов [14; 112]. Диагностически значимые титры IgM-антител выявляются к концу первой недели, IgG-антител – в конце второй недели болезни [110; 112], и для большинства лабораторий составляют 1 : 32 и 1 : 64, соответственно [40; 232]. Антитела к риккетсиям в РНИФ выявляются в 94,0–100,0 % проб, начиная с 14 дня заболевания [40]. Однако, эта реакция достаточно трудоемка и позволяет исследовать одновременно лишь небольшое количество проб [10; 125].

На протяжении многих лет РСК рассматривалась, как основной метод диагностики риккетсиозов группы КПЛ. Тем не менее, присутствие в составе препарата антигена группоспецифического полисахаридного комплекса лишает возможности провести внутривидовую дифференциацию риккетсиозов. Метод недостаточно чувствителен в ранней фазе заболевания [112], поскольку комплементсвязывающие антитела образуются в конце первой – начале второй недели заболевания в низких титрах (1 : 20–1 : 80) [110], отмечено и более позднее их появление на 13–15 дни болезни [57]. Максимальные уровни антител, связывающих комплемент, наблюдаются на 3–4 неделях в значениях 1 : 160–1 : 320. Реакция связывания комплемента может применяться также для ретроспективной диагностики СКТ [43], как в период поздней реконвалесценции,

так и после излечения, спустя 1–3 года, ввиду сохранения антител в титрах 1 : 10–1 : 20 в течение этого времени [77; 133].

Реакция непрямой гемагглютинации используется для диагностики текущего заболевания [43; 77], поскольку определяет преимущественно IgM-антитела. Диагностический титр – 1 : 200, достигает максимальных цифр – 1 : 800–1 : 3 200 на 3 неделе заболевания. В дальнейшем отмечается их резкое снижение. Через 7–10 месяцев после реконвалесценции реакция становится отрицательной [45].

В последнее время для массового использования стал более доступен метод иммуноферментного анализа. Диагностическая тест-система с антигеном *R. sibirica* успешно разработана в Омском НИИ природно-очаговых инфекций. ИФА позволяет провести дифференциацию иммуноглобулинов по классам. Этот метод по чувствительности значительно превосходит РСК и является основой для верификации диагноза клещевого риккетсиоза в подавляющем большинстве случаев, в том числе при отрицательном результате РСК [1]. Кроме того, ИФА позволяет выявлять антитела к риккетсиям в более низких титрах в сравнении с РСК и РНИФ [10].

Для повышения достоверности результатов обследования необходимо использовать метод «парных сывороток», забранных с интервалом 10–14 дней. При этом должно иметь место нарастание титра антител в 2–4 раза. Исследование в ИФА парных сывороток для обнаружения IgM к *R. sibirica* позволяет подтвердить диагноз СКТ у 91,7 % больных. В случае отрицательных результатов выявления IgM, целесообразно исследование сывороток в ИФА на IgG, т. к. обнаружение сероконверсии по IgG в трех сыворотках крови, забранных в динамике и отрицательных по IgM, позволяет подтвердить диагноз в 100,0 % случаев [10].

Методом подтверждения стандартных серологических реакций является иммуноблоттинг (Western blotting), который также может сопровождаться ложноположительными перекрестными реакциями. Данный метод может быть использован для видовой идентификации риккетсий, однако доступен лишь в

референтных лабораториях [83].

Регламентированные серологические методы диагностики, основанные на выявлении антигена *R. sibirica*, не пригодны для видоспецифической верификации других риккетсий (например, *R. heilongjiangensis*), поскольку для риккетсий группы КПЛ характерны перекрестные сывороточные реакции [10; 31; 88; 221; 232]. В связи с этим большое значение в диагностике риккетсиозов приобрели методы молекулярной диагностики, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР), которые позволяют не только обнаружить в исследуемом образце генетический материал уже известных микроорганизмов, но и выявить новых возбудителей инфекционных заболеваний. Отсутствие возможности получения чистых культур риккетсий на искусственных питательных средах делает метод ПЦР особенно актуальным в диагностике риккетсиозов и их видовой идентификации.

Для выявления и идентификации риккетсий группы КПЛ наиболее приемлемы ПЦР-секвенирование и ПЦР-рестрикционный анализ.

Обнаружение риккетсий с помощью ПЦР возможно как в переносчиках, так и в различных клинических образцах, забранных от больных людей (сыворотка крови, сгусток, биопсийные образцы с места первичного аффекта). Необходимо учитывать, что сыворотка – бактериально обедненный клинический материал. Кроме того, процент выявляемости генетического материала риккетсий в сыворотке больных может снижаться даже при однократном применении антибиотиков до забора крови [27]. Поэтому исследование биоптата с места первичного аффекта значительно повышает вероятность выявления риккетсий группы КПЛ у пациентов [88; 112; 130; 246]. Менее травматичной альтернативой забору биопсийного материала является тестирование материала, накопленного под корочкой в зоне инфильтрата первичного аффекта [40].

Специфичные и наиболее используемые праймеры для обнаружения риккетсий – праймеры, амплифицирующие фрагмент гена, кодирующего белок наружной мембраны 190-кД (*ompA*), и праймеры, амплифицирующие фрагмент гена цитратсинтазы (*gltA*) [24; 27; 49; 89; 211]. Участки этих генов подходят для

видовой дифференцировки всех видов риккетсий, за исключением *R. bellii* и *R. canadensis* [40].

Для обеспечения точной идентификации риккетсий необходима постановка двух параллельных реакций, одна из которых должна осуществляться с применением родоспецифичного зонда, другая – с зондом для определения видовой принадлежности риккетсий. При отсутствии специфических зондов видовой идентификация выполняется путем секвенирования полученных ампликонов.

Однако методы, основанные на ПЦР, не нашли широкого применения на практике ввиду сложности, трудоемкости и методических проблем взятия клинического материала, в частности, биоптата с места первичного аффекта [112].

1.3 Клинико-лабораторная характеристика иксодовых клещевых боррелиозов

Под термином иксодовые клещевые боррелиозы объединена группа инфекционных трансмиссивных природноочаговых заболеваний, вызываемых боррелиями группы *B. burgdorferi sensu lato* и передающихся иксодовыми клещами [44]. Описание клинической картины ИКБ в России представлено в работах Е. П. Деконенко и соавт. (1991) [34; 35], Э. И. Коренберга и соавт (1993, 1996, 2013) [64; 65; 66], Л. П. Ананьевой (1995, 2000) [5; 6; 7], Н. Н. Воробьевой (1995, 1998) [22; 51], Ю. В. Лобзина и соавт (2000, 2010) [44; 79], А. С. Оберт и соавт. (2001) [95], С. А. Рудаковой и соавт (2005) [114], Е. С. Алешковской (2009) [4] и других авторов.

На сегодняшний день в мире не существует единой общепринятой клинической классификации ИКБ [44]. В разное время рядом авторов были предложены различные клинические классификации ИКБ: Е. Asbrink (1982), дополненная А. Steere (1989, 1991), В. В. Фоминым (1990), О. М. Лесняк (1995), Н. Н. Воробьевой (1998). В настоящее время в практике широко используется клинико-патогенетическая классификация, предложенная Е. Ю. Лобзиным и

соавт. (1996), в основу которой положены проявления поражений органов и тканей в соответствии со стадией заболевания [80]. Согласно ей выделяют следующие формы заболевания: по клиническим признакам - эритемная и безэритемная; по течению - острое, подострое и хроническое; по степени тяжести - легкая, средняя и тяжелая; по форме болезни - латентная, манифестная; по маркерам инфекции - серонегативная, серопозитивная.

В настоящее время взаимосвязь клинических проявлений ИКБ с генотипическими и регионарными особенностями возбудителя, на которую указывали некоторые отечественные и зарубежные авторы, считается необоснованной [64; 66; 87; 207].

При отсутствии клинических проявлений или невозможности их определения доступными диагностическими методами и сохраняющейся персистенции возбудителя можно говорить о латентной форме заболевания [2; 4; 44; 91; 132].

Манифестация ИКБ может протекать в эритемной (МЭФ) и безэритемной формах (БЭФ). На долю БЭФ, по наблюдениям различных авторов, приходится от 1 до 45 % [4; 9; 23; 30; 63; 70; 91; 116; 145] вплоть до ее преобладания на отдельных территориях [37; 42].

Инкубационный период при ИКБ колеблется от 1 до 45 дней [2; 14; 36; 44; 68; 70; 86; 102; 132], составляя в среднем 2 недели. Имеются данные о более продолжительном инкубационном периоде при ИКБ-БЭФ [9; 86; 105; 124].

В клиническом течении ИКБ выделяют 3 стадии: стадию ранней локализованной инфекции, ранней диссеминированной инфекции и стадию хронической инфекции. Иногда четкой стадийности может не наблюдаться, и болезнь дебютирует одним из синдромов хронической инфекции.

Стадия ранней локализованной инфекции – наиболее полно изученный период ИКБ. Основным клиническим симптомом эритемной формы ИКБ является мигрирующая эритема (МЭ) (син.: мигрирующая хроническая эритема Афцелиуса – Липщютца, эритема мигрирующая хроническая, мигрирующая кольцевидная эритема, блуждающая эритема) – инфильтративное гомогенное или

кольцевидное пятно, возникающее на месте присасывания клеща на стадии ранней локализованной инфекции. По рекомендации Центра по контролю и профилактики заболеваний (CDC, США) оно должно составлять не менее 5 сантиметров в диаметре [208; 245], согласно российским клиническим рекомендациям – не менее 3 сантиметров [17]. Средний размер МЭ составляет 20–40 см в диаметре, достигая в отдельных случаях 70 и более сантиметров [68]. У части больных эритема может сопровождаться субъективными ощущениями, такими, как зуд и жжение. У 0,9–1,1 % больных отмечаются, так называемые, атипичные эритемы в виде папул, везикул с серозным содержимым [4; 14]. Описано также формирование буллезной формы эритемы [240]. Возможно появление одиночных и множественных кольцевидных эритем, не связанных с первичным аффектом (вторичные эритемы), свидетельствующих о переходе заболевания в стадию ранней диссеминированной инфекции [4; 9; 137; 218; 228].

Продолжительность существования эритемы в отсутствии специфического лечения в среднем 3–4 недели, на фоне антибиотикотерапии МЭ исчезает в течение 4 дней, оставляя после себя шелушение, пигментацию, зуд [44]. Мигрирующая эритема может являться как единственным признаком заболевания, что говорит о локальной персистенции возбудителя в коже, так и сопровождаться регионарным лимфаденитом, гепатомегалией и/или «гриппоподобным» синдромом, включающим в себя температурную реакцию от субфебрильных значений до 40 °С, общую слабость, разбитость, головную боль, артралгии, миалгии, боль в горле, тошноту, рвоту иногда конъюнктивит. [4; 7; 19; 228]. Общеинтоксикационный синдром, чаще всего, выражен умеренно и, по разным данным, сопровождает от 10,0–30,0 % до 60,0–70,0 % случаев заболевания [17; 226].

При ИКБ-БЭФ заболевание манифестирует в виде инфекционно-токсического синдрома или признаками поражения отдельных органов [17; 61; 82; 99; 235]. Заболевание в большинстве случаев начинается остро с повышения температуры до фебрильных цифр, более выраженной, чем при ИКБ-ЭФ интоксикации. Помимо лихорадки наблюдаются различной интенсивности

головные боли, потливость, общая слабость, у части больных миалгии, артралгии, инъекция сосудов склер, одутловатость лица.

Как правило, эритемы не образуются и при инфицировании возбудителем из группы клещевых возвратных лихорадок – *B. miyamotoi* [60; 194; 199]. При данном заболевании лихорадочные приступы в отсутствие антибактериальной терапии повторяются многократно. При раннем назначении антибактериальной терапии лихорадка купируется на 5 день. Общая слабость, недомогание могут персистировать в течение нескольких недель после проведения специфического лечения [154; 155; 194; 198]. Подчеркивается возможность течения боррелиоза, вызванного *B. miyamotoi*, с преимущественным респираторным компонентом и выделением на основании этого его катаральной клинической формы [55].

При эритемной форме после угасания симптомов интоксикации, лихорадки и исчезновения МЭ – на 4–6 недели заболевания возникают поражения внутренних органов.

На стадии ранней диссеминированной инфекции типичными являются поражения нервной системы, которые могут быть весьма разнообразны. Так наиболее часто у взрослых встречается синдрома Баннварта (менингоррадикулоневрит), проявляющийся сочетанием поражения мозговых оболочек в виде серозного менингита с незначительно выраженными менингеальными симптомами, радикулита и вовлечением в патологический процесс черепно-мозговых нервов в 90,0 % случаев в виде одно- либо двустороннего периферического паралича лицевого нерва [76].

Возможно также изолированное возникновение корешковых болей на 7–15 день от начала заболевания. Могут иметь место расстройства сна, концентрации внимания, эмоциональная лабильность, что свидетельствует об умеренной энцефалопатии [74; 85]. При ИКБ-БЭФ чаще наблюдается развитие лимфоцитарных менингитов (менингоэнцефалитов), невропатии черепных нервов, радикулоневриты. У пожилых людей описаны случаи развития боррелиозного менингоэнцефалита без предшествующей лихорадочной реакции [146; 209].

На второй стадии ИКБ на коже, чаще всего в области мочки уха, ареол сосков или мошонки, формируются доброкачественная опухоль красно-фиолетового цвета – лимфоцитома.

Поражения сердца при ИКБ встречаются в 1,0–10,0 % случаев и чаще всего манифестируют в виде антриовентрикулярных блокад (10,0–20,0 % всех кардиологических нарушений) с возможностью изменения их степени в течение суток, нарушений ритма, внутрижелудочковых нарушений проводимости. Независимо от наличия гипертонической болезни, отмечается наличие систолической и диастолической дисфункции миокарда. Возможно формирование эксцентричной гипертрофии миокарда левого желудочка, как следствия миокардита [117]. Субклинические поражения сердечно-сосудистой системы выявляются только при использовании дополнительных методов обследования, как правило, в позднем периоде, и их частота остается неизвестной [189; 192].

Через шесть и более месяцев после присасывания клеща формируется третья стадия заболевания – хронической инфекции. Кожные поражения на этой стадии характеризуются развитием хронического атрофического акродерматита – истончением и сухостью кожи с одновременным наличием гиперпигментации и усилением венозного рисунка. Данные патологические изменения локализуются, как правило, в области разгибательных поверхностей конечностей, лица, реже – на туловище [17].

Поздние поражения нервной системы включают в себя: хронический энцефаломиелит, церебральный васкулит, энцефалопатию, радикулопатию, полинейропатию, хронический лимфоцитарный менингит и объединены в понятие «нейроборрелиоз». В настоящее время, благодаря раннему началу антибиотикотерапии, поздние неврологические проявления встречаются в 4,0–20,0 % случаев [168]. Однако, при ИКБ-БЭФ, частота возникновения нейроборрелиоза может увеличиваться до 85,0 % [106]. Формы нейроборрелиоза могут имитировать некоторые неинфекционные заболевания нервной системы: дисциркуляторную энцефалопатию, рассеянный склероз и т.п. [156; 186; 191].

По литературным данным, частота поражения суставов при ИКБ колеблется

от 2,0 до 10,0 %, в зависимости от региона [74]. Поражением опорно-двигательного аппарата в виде олиго- и моноартрита могут манифестировать ИКБ-БЭФ, также признаки суставного синдрома возникают при сохраняющейся эритеме и интоксикации, либо через несколько недель после исчезновения МЭФ. Изменения в суставах характеризуются проявлениями интермиттирующего и мигрирующего реактивного артрита, сопровождающегося болью, гиперемией и отечностью суставов. Чаще вовлекаются суставы той конечности, на стороне которой присасывался клещ. При повторных обострениях в процесс вовлекаются новые суставы и периартикулярные ткани, и в отсутствии этиотропной терапии у 10,0–15,0 % больных острый артрит принимает хроническое рецидивирующее течение [8; 12; 18; 38; 56; 74; 140].

В общем анализе крови (ОАК) при ИКБ может выявляться лейкоцитоз, повышение скорости оседания эритроцитов (СОЭ). У большинства больных (48,0 %) параметры периферической крови остаются в пределах нормальных значений. В биохимическом анализе крови менее чем в 10,0 % случаев показатели цитолиза – аланинаминотрансфераза (АлАТ) и аспартатаминотрансфераза (АсАТ) превышают нормальные значения в 2–3 раза [15; 54].

Рядом авторов установлено, что в 15,0–53,0 % после санации организма от боррелий возникает так называемый «постлаймский» синдром, при котором сохраняющаяся органопатология обусловлена необратимостью сформировавшихся патоморфологических изменений [75; 84; 244]. В зависимости от возраста и преморбидного соматоневрологического фона у реконвалесцентов ИКБ формируется цереброастенический синдром, который рассматривают как начальную стадию формирования психоорганической патологии [41] с последующим развитием тревожно-депрессивных состояний [131; 185; 188; 204; 216; 229].

1.4 Диагностика иксодовых клещевых боррелиозов

При наличии патогномичного синдрома – мигрирующей эритемы, а также характерного эпидемиологического анамнеза (пребывание на эндемичной территории, факт присасывания клеща, соответствие сезона), диагноз ИКБ не вызывает сомнений [76; 241]. Тем не менее, широкое распространение ИКБ-БЭФ и возникновение клинических проявлений ИКБ в любой последовательности и комбинации, диктует необходимость использования лабораторных методов диагностики.

Лабораторные методы диагностики ИКБ могут быть разделены на две группы [243; 247; 248]:

- 1) методы прямой детекции возбудителя, его антигенов или нуклеиновых кислот;
- 2) методы серологической диагностики, основанные на обнаружении антител к боррелиям различных геновидов.

Метод прямой микроскопии боррелий в образцах биологических жидкостей человека в настоящее время практически не применяется, ввиду малого количества возбудителя в исследуемом материале и субъективной оценки результатов [173; 205].

«Золотым стандартом» диагностики ИКБ считается культуральный метод. Однако свое применение он нашел, в основном, в научно-исследовательских целях и на практике применяется лишь в отдельных ситуациях: при атипичной МЭ, у пациентов с иммунодефицитными состояниями. Наиболее подходящим материалом для культивирования боррелий признан кожный биоптат из области мигрирующей эритемы, позволяющий изолировать боррелий в 40 % случаев [66]. Низкий уровень спирохетемии обуславливает гораздо более редкое выделение боррелий из цельной крови, сыворотки и плазмы [83; 87; 156; 157].

Впервые о применении метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) для обнаружения *B. burgdorferi sensu lato* было упомянуто в 1989 году [222]. Стоит отметить, что до настоящего времени данный метод исследования не

стандартизирован, как в России, так и за рубежом.

В зависимости от симптомов манифестации заболевания молекулярно-биологическими методами могут быть исследованы различные биологические жидкости: кровь, спинномозговая жидкость, синовиальная жидкость, моча и т.п. Однако наиболее часто исследуемым клиническим материалом все же является кожный биоптат из области МЭ, забранный на ранних стадиях заболевания (до 14 дня болезни). Чувствительность ПЦР в таком случае составляет по данным ряда авторов от 36,0 % до 88,0 % [147; 171; 174; 175; 203; 217]. Чувствительность ПЦР при исследовании цельной крови, сыворотки является низкой и составляет в среднем 18,4 % [153; 231], что рядом авторов объясняется наличием ингибитора ПЦР в крови больного [159; 193]. Отмечено наличие взаимосвязи между положительными результатами ПЦР и клинической симптоматикой: так при наличии системных проявлений частота обнаружения ДНК боррелий возрастает до 30,3 %, при наличии множественных эритем – до 37,5 %, а при наличии этих двух проявлений – до 40,0 % [153].

Обнаружение ДНК боррелий и их изоляция из крови на поздних стадиях заболевания на сегодняшний день считается сомнительной [210]. Однако, в литературе есть указания на возможность изоляции боррелий из крови пациентов с лимфоцитомой, клиническими проявлениями нейроборрелиоза, Лайм-артрита, а также хронического атрофического акродерматита.

Эффективность ПЦР-диагностики уменьшается на фоне лечения антибактериальными препаратами и по мере отдаления сроков обследования от начала заболевания [134; 163]. Однако возможность определения ДНК-возбудителя сохраняется как на ранних сроках этиотропной терапии (4–5 день), так и после ее окончания [210].

Таким образом, метод ПЦР в настоящее время служит лишь в качестве вспомогательного диагностического исследования и не может быть рекомендован для рутинной диагностики ИКБ, ввиду отсутствия стандартизации этапов его проведения, небольшой длительности оптимального временного интервала для забора биологических образцов [224]. Ограничивает применение данного метода

и возможность детекции ДНК нежизнеспособных спирохет, что приводит к гипердиагностике активного инфекционного процесса [157].

Основным методом подтверждения клинического диагноза на практике является серологическая диагностика. Для этого используются различные серологические реакции: реакция связывания комплемента (РСК), реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), реакция непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), иммуноферментный анализ (ИФА) или ELISA, иммунный блоттинг (ИБ). Антитела к *B. burgdorferi sensu lato* могут определяться в сыворотке крови, внутрисуставной и цереброспинальной жидкостях.

Для диагностики ИКБ одной из первых была разработана и внедрена в практику РНИФ. В ходе этой реакции комплекс антиген + антитело выявляется с помощью антиглобулиновой сыворотки, меченной флюоресцином [206]. Использование в ходе постановки поливалентных антисывороток позволяет определить суммарное количество противоборрелиозных антител, в то время как с помощью специфических сывороток обнаруживают иммуноглобулины определенных классов. Диагностический титр в РНИФ составляет 1 : 40 и выше [87]. Чувствительность данного метода составляет 40,0–50,0 %, специфичность – от 80,0 % до 98,0 % [17].

Широкое применение в клинической практике получил метод ИФА с иммуносорбентами в виде нативных или рекомбинантных белков боррелий, [44]. В такого рода тест-системах используют комбинацию нескольких рекомбинантных аналогов нативных антигенов боррелий: внутренний фрагмент флагеллина (p41i, FlaB), обладающий наибольшей иммуногенностью, белки p83/100, VmpA(p39), p18, OspC, DbpA, DbpB, BBK32 и пептидный антиген VlsE переменного региона 6 (IR(6)) от *B. afzelii*, *B. garinii* и *B. burgdorferi sensu stricto* [71; 87].

Антитела класса IgM при боррелиозной инфекции образуются со 2 недели заболевания, достигая своего максимума к 3–4 неделе, IgG – ко второму месяцу болезни [44; 71]. Поэтому на ранней стадии заболевания антитела могут либо не определяться, либо быть в титрах ниже диагностического [123], что связано как с

особенностями иммунного ответа, так и с наличием циркулирующих иммунных комплексов, формирующихся при наличии большого количества антигена в 30,0 % случаев [5; 21; 165]. Раннее применение антибиотиков также может ингибировать продукцию специфических антиборрелиозных антител [162]. Во избежание гиподиагностики ИКБ необходимо повторять серологическое обследование в динамике через 3–4 недели.

В соответствии с рекомендациями Второй национальной конференции по серологической диагностике Лайм-боррелиоза (октябрь 1994 г., США) для выявления активной боррелиозной инфекции оправдано использование двухшагового принципа серологической диагностики, согласно которому на первом этапе используются скрининговые методы: РНИФ или ИФА с последующим подтверждением полученных результатов методом иммунного блоттинга [76; 158]. Положительными результатами ИБ для IgM принято считать, если в нем выявляются две из трех полос антигенов: 24kDa (OspC – молекулярный вес варьирует), 39kDa (BmpA) и флагеллин – 41kDa (Fla). Для IgG требуется выявление как минимум пяти их десяти полос антигенов: 18kDa, 21kDa (OspC – молекулярный вес варьирует), 28kDa, 30kDa, 39kDa (BmpA), 41kDa (Fla), 45kDa, 58kDa (не GroEL), 66kDa и 93kDa. Однако, ввиду гетерогенности возбудителей ИКБ на территории России, данный тест не всегда полностью решает вопросы серологической диагностики по причине субъективной визуальной оценки результатов, отсутствия возможности определения на одном стрипе спектра антител по классам, а также высокой стоимости этого метода [87; 94].

В настоящее время с целью повышения эффективности диагностики ИКБ разработана и активно внедряется в практику биочип-технология на основе твердофазного фосфоресцентного микроанализа (ФОСФАН). На дно лунок стандартных полистероловых микропланшетов наносятся микрозоны с пептидом С6 (для определения IgM и IgG к боррелиям) и с белками OspC и VlsE (для IgM). Интенсивность сигнала фосфоресценции от каждой микрозоны регистрируется с помощью фосфоресцентных сканеров. [101; 122]. Специфичность ФОСФАН

составляет 93,0–99,0 %, чувствительность – 80,0 %, что сопоставимо с чувствительностью ИФА [107]. Максимальное число положительных проб при этом выявляется на 2–4 неделе болезни и заметно снижается к 2 месяцу от начала заболевания [66]. Главное же преимущество данного метода по сравнению с ИФА – возможность более раннего выявления антител у значительно числа больных.

В ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва) разработана диагностическая тест-система в формате иммуночипа, которая позволяет в одной постановке выявлять широкий спектр антител классов М и G к различным антигенам боррелий геновидов *B. afzelii* и *B. garinii*. В состав иммуносорбента входят 14 антигенов: всего 8 групп антигенов – p100, VlsE, p58, p41, p39, ВВК32, OspC, p17, которые иммобилизованы в пределах каждого эррея в виде индивидуальных спотов (микроочек). Благодаря использованию конъюгата, состоящего из смеси антител к IgG и IgM, меченных флюорофором Cy5 и Cy3 соответственно, возможно одновременное дифференцированное обнаружение антител различных классов [26]. Использование данной тест системы позволяет подтвердить серологический диагноз ИКБ для 87,3 % на стадии ранней локализованной инфекции. Специфичность данного метода составляет 97,2 % [93].

Несмотря на разнообразие лабораторных методов, в России к настоящему времени нет единых алгоритмов и критериев лабораторной диагностики ИКБ на разных стадиях болезни, что, несомненно, требует стандартизации и совершенствования верификации диагноза ИКБ.

1.5 Клинико-лабораторная характеристика гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека

Гранулоцитарный анаплазмоз человека и моноцитарный эрлихиоз человека – это острые клещевые трансмиссивные природно-очаговые лихорадочные заболевания, объединенные в прошлом под термином «эрлихиозы человека».

Возбудителем ГАЧ является *Anaplasma phagocytophilum*, возбудителем МЭЧ на территории России – только *Ehrlichia muris* [50; 66].

Это относительно новые инфекции человека. Первые публикации об их клиническом течении появились в США и Европе в конце 80-х – начале 90-х годов прошлого века. [152; 178; 180; 184; 187; 195]. В России описания на основании собственных исследований появились несколько позже [13; 100]. Официальная регистрация МЭЧ и ГАЧ введена с 1 января 2013 года и в соответствии с приказом Росстата от 20.12.12 № 645 «Об утверждении статистического инструментария для организации Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека федерального статистического наблюдения за заболеваемостью населения инфекционными и паразитарными болезнями и профилактическими прививками, деятельностью дезинфекционных организаций» по ним утверждена статистическая отчетность по форме № 1.

Клиническое течение МЭЧ и ГАЧ в большей степени освещено в трудах зарубежных ученых. Все авторы указывают на отсутствие специфичных симптомов в их клиническом течении [25; 28; 33; 69; 90; 151; 196; 200; 227; 239].

Инкубационный период колеблется от 1 до 21 дня [66; 83; 170; 182; 227; 237], по данным В. Ю. Тетерина и соавт. при ГАЧ – от 2 до 46 дней [190], составляя в среднем 13 дней [33; 66; 90].

Клинические проявления МЭЧ и ГАЧ варьируют от бессимптомных и субклинических форм до тяжелых [66; 67; 151; 182; 239].

Клиника МЭЧ и ГАЧ во многом сходны и характеризуются острым началом с внезапным подъемом температуры до фебрильных цифр и развитием гриппоподобного синдрома. Реже отмечается постепенное повышение температуры до 38–39 °С на протяжении 4–6 дней. В некоторых случаях температура поднимается не выше субфебрильных значений, интоксикация выражена умеренно [90].

Наиболее характерные симптомы при ГАЧ: лихорадка, слабость, недомогание, озноб, головная боль диффузного характера, миалгии, артралгии в

области крупных суставов. Реже встречаются тошнота, боль в животе, диарея и кашель [160; 161; 182; 183; 234; 239]. Лихорадочный период длится от 2 до 10 дней ($3,6 \pm 0,26$) дня [33]. Снижение температуры тела происходит в течение 1–2 дней. Не исключается ее критическое падение с обильным потоотделением. У 5,0 % больных температурная реакция имеет двухволновый характер с возникновением второй волны на 5–8 дни апирексии [66; 90].

Специфическая кожная реакция на месте внедрения возбудителя отсутствует [69; 151]. Экзантема, по зарубежным литературным данным, возникает менее чем в 10,0 % случаев [182]. Обращает на себя внимание гиперемия слизистых оболочек ротоглотки, несколько реже – инъекция сосудов склер [33; 96]. Лимфаденопатия не является постоянным признаком ГАЧ и встречается не более чем в 25,0 % случаев. Лимфоузлы безболезненные и могут быть топографически не связаны с местом присасывания клеща [33].

Со стороны нервной системы наблюдаются брахиальная плексопатия, демиелинизирующая полинейропатия, двусторонний паралич лицевого нерва [200]. По данным В. Ю. Тетерина и соавт., общемозговая симптоматика при ГАЧ в виде головной боли умеренной интенсивности, тошноты, гиперестезии отмечалась не более чем в 32,0 % случаев. У половины из них в разгар заболевания определялись менингеальные симптомы, расцененные как явления менингизма, поскольку изменения со стороны ликвора отсутствовали [33].

Со стороны сердечно-сосудистой системы возможны кратковременные преходящие функциональные нарушения: сердцебиение, понижение артериального давления [66]. Повышение артериального давления возникает на фоне сопутствующей артериальной гипертензии.

Нефропатия в виде гипоизостенурии, протеинурии и эритроцитурии сопровождается увеличением мочевины и креатинина крови [66; 90].

В гемограмме у пациентов с ГАЧ обнаруживаются преходящие изменения: легкая анемия, тромбоцитопения, лейкопения с лимфопенией, повышение СОЭ и общего числа нейтрофилов за счет палочкоядерного сдвига влево [33; 69; 90; 151; 160; 161; 176; 183].

У 85,0 % больных развивается острый безжелтушный гепатит с повышением активности АЛАТ в 2–5 раз на 10–12 день болезни [90; 96].

Регресс клинико-лабораторных изменений на фоне антибиотикотерапии происходит достаточно быстро. К концу первой недели заболевания сокращается количество зрелых нейтрофилов и нормализуется число лимфоцитов. В период реконвалесценции происходит быстрая нормализация остальных показателей периферической крови. При отсутствии этиотропного лечения заболевание может длиться до двух месяцев. Персистенция инфекции и рецидивы не характерны [69; 237].

Картина острого периода МЭЧ схожа с таковой при ГАЧ. Однако МЭЧ протекает тяжелее, чем ГАЧ. Большинство случаев моноцитарного эрлихиоза протекает в виде тяжелых и среднетяжелых форм [69]. Как и при ГАЧ, может наблюдаться двухволновое течение болезни. Вторая волна лихорадки протекает тяжелее первой [66].

При МЭЧ экзантема у взрослых встречается чаще – в 21,0 % случаев, и может быть макулопапулезной или даже петехиальной. Сыпь появляется как в первый день, так и в течении первой недели болезни [69; 227; 239] и, как правило, не обнаруживается на лице, ладонях и подошвах [194]. У детей экзантема описывается чаще – в 66,0 % случаев.

Поражение центральной нервной системы более характерно для МЭЧ и проявляется в виде менингитов и менингоэнцефалитов. Частота поражения ЦНС может достигать 20,0 % [200]. Как редкое осложнение в литературе описаны параличи черепных нервов, развивающиеся даже после начала специфической антимикробной терапии [200].

Поражение желудочно-кишечного тракта при МЭЧ встречается преимущественно у детей. При этом боли в животе могут симулировать картину острого аппендицита [200].

Со стороны периферической крови в разгар болезни отмечается снижение количества лейкоцитов, относительная лимфопения, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, тромбоцитопения и увеличение СОЭ [69; 239].

В спинномозговой жидкости в 60,0 % присутствует плеоцитоз, преимущественно за счет лимфоцитов. Нейтрофильный или смешанный плеоцитоз наблюдается в 1/3 случаев [69].

У 50,0 % больных выявляется картина острого безжелтушного гепатита с умеренным увеличением печени и повышением активности печеночных трансаминаз в 2–4 раза. Развиваться гепатит может как на первой неделе заболевания, так и в последующем на 10–12 день от ее начала [33; 69; 151; 161].

Повышение мочевины и креатинина крови возникает у 20,0 % больных, при этом острая почечная недостаточность не развивается [66].

Средняя длительность клинических проявлений при МЭЧ составляет 23 дня [69].

У реконвалесцентов МЭЧ более чем в 75,0 % случаев выявляются остаточные явления в виде астенического синдрома, гепатомегалии, повышения артериального давления, которые проходят в течение нескольких месяцев [69].

Наблюдаемые осложнения – это острая почечная недостаточность, миокардиты, респираторный дистресс синдром взрослых [201; 227], гастроинтестинальные кровоизлияния и ДВС синдром, гипотензия, неврологические нарушения [69; 239]. Осложнения при ГАЧ встречаются реже, чем при МЭЧ и, в большинстве случаев, возникают у лиц с предрасполагающими факторами, такими, как пожилой возраст, иммуносупрессивные состояния, хронические воспалительные заболевания [239].

Смертность при МЭЧ составляет от 2,0 % до 7,0 %, при ГАЧ – менее чем 1,0 %, наблюдается, как правило, у лиц с недостаточностью иммунитета и является результатом оппортунистических инфекций и инвазий таких, как легочной аспергиллез, герпетический фарингит, криптококкоз, диссеминированный кандидоз [69; 90; 227; 239].

1.6 Диагностика гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека

Ввиду отсутствия патогномоничных симптомов и наличия субклинических и бессимптомных форм клинико-эпидемиологические данные не являются основой для постановки диагноза ГАЧ и МЭЧ. На этом фоне наибольшее внимание должно уделяться лабораторным методам подтверждения диагноза.

Прямая детекция эрлихий и анаплазм осуществляется путем культивирования, микроскопии мазков периферической крови и молекулярно-генетическими методами.

Выделение анаплазм и эрлихий должно проводиться исключительно в лабораториях III уровня биологической опасности (II уровня в России) [83]. Для культивирования анаплазм используют линии клеток HL-60, эрлихий – DH82 [83;167; 182; 202]. Накопление возбудителя в инфицированных клеточных линиях контролируют микроскопически по образованию морул.

Ранним методом обнаружения эрлихий и анаплазм является исследование мазков периферической крови, окрашенных по Райту или Гимза на наличие вакуольных бактериальных включений – морул. Материалами для исследования также могут служить спинномозговая жидкость и костный мозг [66]. При ГАЧ морулы выявляются в нейтрофилах, при МЭЧ – в моноцитах. Для достижения оптимального уровня чувствительности забор материала для микроскопического исследования необходимо проводить в острой фазе заболевания (максимум до 14 дня) и до проведения антибактериальной терапии [67; 83; 164; 172; 182; 196; 227; 239]. При соблюдении этих условий, чувствительность данного метода для обнаружения анаплазм составляет от 25,0 % до 75,0 %, для эрлихий – до 38,0 % [181; 239]. Низкий уровень чувствительности в более поздние сроки может объясняться транзиторной бактериемией и низким количеством морул [239; 167]. Кроме того, возможна гипердиагностика при ошибочном распознавании различных внутриклеточных включений и артефактов как возбудителя [164; 196;

239].

Методом выбора для детекции генетического материала анаплазм на основании последовательности генов 16S rPHK, groESL, ankA, msp2, msp4 и эрлий – на основании 16S rPHK, groESL и мультигенов семейства p28 и padA являются методы, основанные на ПЦР: нестед-ПЦР, ПЦР в реальном времени и ПЦР на основе изотермальной амплификации [167; 225]. ПЦР с видоспецифичными праймерами или последующим секвенированием позволяет идентифицировать возбудителя вплоть до геновида в различных клинических материалах: периферическая кровь, костный мозг, биопсийная ткань селезенки [182].

По зарубежным данным чувствительность молекулярно-генетических методов для обнаружения *E. chaffeensis* составляет 60,0–85,0 %, для *A. phagocytophilum* – 67,0–90,0 % [200; 239]. Различия в чувствительности ПЦР связывают с длиной используемых ампликонов и праймеров [80; 219]. Наибольшая чувствительность ПЦР отмечена в острой фазе заболевания [135; 151; 160; 164]. Однако, достаточная чувствительность данного метода сохраняется, по разным данным, от 21 до 30 дней и даже 66 дня заболевания. Для сравнения чувствительность микроскопии ограничивается 14 днями [83; 135; 164]. Отрицательные результаты в раннюю фазу заболевания могут быть обусловлены началом антибиотикотерапии до забора образцов для исследования [172; 182; 200].

Несмотря на явные преимущества, методы, основанные на ПЦР, до сих пор не стандартизированы и нуждаются в дальнейшей апробации [83; 190].

Для серологической диагностики используется РНИФ с исследованием не менее двух образцов сыворотки крови, забранных в острую фазу болезни и через 14–21 день – в период реконвалесценции. Реакция непрямой иммунофлюоресценции со специфическим антигеном *E. chaffeensis* и с очищенными внеклеточными антигенами *A. phagocytophilum* рассматривается как перспективный метод диагностики ГАЧ и МЭЧ. Несмотря на это, до 15 дня болезни он часто дает отрицательные результаты, и подтвердить диагноз удается

ретроспективно на основании нарастания титра антител в 4 раза [66; 239].

Более специфичным методом серологической диагностики является ИФА с иммунореактивными белками *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis* (*E. muris* – в России) [66]. Образование IgM достигает максимума на 13–24 день заболевания, сыворотка, забранная в первую неделю болезни, дает положительные результаты не более чем в 25,5 % случаев, а доля положительных проб на 3–4 неделе заболевания достигает 66,7 % с постепенным снижением с 5 недели. Поэтому ИФА не является методом выбора для диагностики в острую фазу заболевания [135; 196; 200; 227]. Пик положительных результатов при обнаружении IgG приходится на 27–38 дни от начала болезни [135]. Ввиду перекрестной иммунореактивности как между анаплазмами и эрлихиями, так и с возбудителями бруцеллеза и лихорадки Ку, возможны ложноположительные результаты [52; 181; 182; 200].

Метод иммуноблотта на основе цельноклеточных антигенов для диагностики ГАЧ и МЭЧ рекомендуют использовать для подтверждения специфичности антител, обнаруженных более простыми серологическими реакциями. Однако данный метод не исключает перекрестную реактивность между анаплазмами и эрлихиями. Использование рекомбинантных антигенов позволяет снизить уровень перекрестных реакций [66; 67].

Учитывая различные оптимальные сроки болезни для постановки молекулярно-биологических и серологических методов исследования, их следует рассматривать не как альтернативные, а как взаимодополняющие.

В Европе достоверными лабораторными критериями диагноза ГАЧ являются обнаружение морулы, выявление ДНК возбудителя, сероконверсия и 4-х кратное увеличение титра антител и/или выделение возбудителя на культуре клеток. Изолированное обнаружение антител в острой фазе и в период реконвалесценции свидетельствует только о возможном анаплазмозе [25; 28; 161; 172].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась в период с 2013 по 2017 гг. В процессе выполнения настоящей работы использовался комплекс клинических, молекулярно-генетических, серологических и статистических методов исследования.

2.1 Общая характеристика исследования

В течение 2013–2016 гг. было обследовано 213 больных, госпитализированных в инфекционное отделение КГБУЗ «Городская больница № 5» г. Барнаула с различными заболеваниями, передающимися иксодовыми клещами. Исследование одобрено Комитетом по Этике ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Критериями включения пациентов в исследования являлись:

- 1) возраст старше 15 лет;
- 2) наличие в анамнезе указания на присасывание, либо напозвание клеща;
- 3) подписанное больным «Добровольное информированное согласие на участие в исследовании».

Критериями исключения пациентов из исследования были:

- 1) наличие хронических соматических заболеваний в фазе обострения;
- 2) наличие аутоиммунных заболеваний;
- 3) наличие других острых инфекционных заболеваний, либо хронических инфекционных заболеваний, имеющих непрерывное прогрессирующее течение (ВИЧ-инфекция, хронические вирусные гепатиты);
- 4) отсутствие «Добровольное информированное согласие на участие в исследовании».

Обследование больных включало в себя:

- сбор жалоб путем пассивного и активного опроса;

- сбор анамнеза болезни, в т. ч. устанавливались сроки от момента присасывания клеща до начала заболевания и госпитализации в стационар;
- сбор анамнеза жизни с учетом наличия сопутствующих соматических патологий;
- сбор эпидемиологического анамнеза с учетом перенесенных в прошлом каких-либо клещевых инфекций, информации об активной либо пассивной иммунизации против КЭ и превентивном приеме антибиотиков после присасывания клеща. При опросе выяснялись район (местность), где произошло нападение клеща, сроки, в которые больной подвергся нападению клеща и обстоятельства присасывания (локализация присасывания, его длительность и кратность);
- объективный осмотр больного проводился с использованием общепринятых методов обследования органов и систем, позволяющих выявить отдельные симптомы и синдромы болезни.

Клиническое обследование пациентов проведено непосредственно автором на базе инфекционных отделений КГБУЗ «Городская больница № 5» г. Барнаула (главный врач – И. А. Вильгельм). Для документации полученных при обследовании клинических данных и отражения их динамики была разработана «Карта клинического и лабораторного обследования больного клещевой инфекцией» (далее «Карта») (приложение А). Каждому пациенту в доступной форме были разъяснены его права, цель и основные положения исследования. До начала исследования все больные добровольно подписывали «Информированное согласие на обследование».

При поступлении больному выполнялись общеклинические лабораторные обследования, включавшие в себя общий анализ крови (18 параметров) с подсчетом лейкоцитарной формулы, серологическое обследование на сифилис (RW), общий анализ мочи, кал на яйца гельминтов. В дальнейшем, по показаниям общий анализ крови проводился в динамике. Лабораторные (общеклинические и биохимические) методы исследования выполнены по общепринятым методикам на базе лаборатории КГБУЗ «Городская больница № 5» г. Барнаула. Полученные

при их проведении результаты также нашли динамическое отражение в «Карте».

Всем пациентам выполнялось биохимическое исследование крови с количественным определением билирубина и его фракций по методу Iendrassik et al. (норма – 8,5–20,5 мкмоль/л), определение активности печеночных трансаминаз (АлАТ и АсАТ) методом оптимизированного УФ теста в соответствии с рекомендациями IFCC (Международная Федерация Клинической Химии и Лабораторной Медицины) «ALAT (GPT) FS» и «ASAT (GOD) FS» (IFCCmod). Норма АлАТ до 40 Ед/л, АсАТ норма – до 31 Ед/л. При изменении данных показателей и/или появлении клинических признаков, указывающих на патологию печени, кровь больных исследовалась на маркеры вирусных гепатитов В и С.

Для соблюдения конфиденциальности личных данных больного, каждой «Карте» присваивался индивидуальный номер, которым в дальнейшем маркировались пробирки с материалом для молекулярно-биологических и серологических исследований.

Лабораторное обследование всех 213 пациентов проведено с помощью молекулярно-генетических и серологических методов исследования, подробно описанных ниже.

С этой целью использовали коммерческие диагностические системы на основе метода ПЦР в реальном времени для выявления возбудителей вирусного клещевого энцефалита (вируса КЭ), иксодового клещевого боррелиоза (*Borellia burgdorferi sensu lato*), ГАЧ (*Anaplasma phagocytophilum*) и МЭЧ (*Ehrlichia chaffeensis* / *Ehrlichia muris*).

Выявление ДНК риккетсий осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени, предложенным J. Stenos et al. [233], с последующим секвенированием полученных ампликонов с целью видовой дифференцировки. Выявление РНК вируса Кемерово проводилось с помощью экспериментального диагностического набора для ПЦР с последующим секвенированием ампликонов для подтверждения полученных результатов.

Серологические методы диагностики включали в себя исследование парных

сывороток методом ИФА на обнаружение специфических антител классов IgM и IgG к возбудителям КЭ, ГАЧ и МЭЧ, методом иммуночипов для возбудителей клещевого боррелиоза. Для диагностики КР сыворотки также были исследованы в ИФА с группоспецифичным для риккетсиозов группы КПЛ антигеном *Rickettsia conorii*.

Лабораторные исследования выполнялись при личном участии автора на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва (ФБУН ЦНИИЭ), куда образцы биологического материала от больных (цельная венозная кровь и сыворотка больного, а также биоптаты (корочки) с места первичного аффекта) доставлялись нарочным в специальной сумке-холодильнике с соблюдением температурного режима хранения.

При постановке диагноза клещевой инфекции учитывалась совокупность клинико-эпидемиологических и лабораторных данных.

В 28 (20,1 %) случаях диагноз КР был установлен на основании клинико-эпидемиологических данных (присасывание и/или напозвание клеща, наличие лихорадочно-интоксикационного синдрома, характерной экзантемы, первичного аффекта и регионарного лимфаденита). В остальных случаях диагноз КР был установлен на основании типирования ДНК риккетсий в различных биологических материалах от больных (кожный биоптат, сгусток цельной крови, сыворотка крови) и/или обнаружения антител класса IgM методом ИФА в парных сыворотках с нарастанием коэффициента серопозитивности, либо только во второй сыворотке. При этом у всех пациентов с КР отсутствовали маркеры других клещевых инфекций. Диагноз формировали согласно классификации КР, предложенной К. М. Лобан (1980).

Диагноз ИКБ у 10 (21,7 %) человек установлен на основании данных эпидемиологического анамнеза (присасывание или напозвание клеща), а также наличия на теле эритемы 3–5 и более сантиметров в диаметре. У остальных диагноз подтвержден серологически – определением антител класса IgM на иммуночипах к различным антигенам боррелий в парных сыворотках или только во второй сыворотке. При этом у всех пациентов с ИКБ отсутствовали маркеры

других клещевых инфекций. Диагноз ИКБ формировали на основании классификации Ю. В. Лобзина (1996).

Диагноз КЭ, ГАЧ установлен на основании обнаружения антител класса IgM методом ИФА во второй сыворотке крови от больных при условии отсутствия маркеров других клещевых инфекций.

Диагноз клещевых микст-инфекций установлен на основании обнаружения антител класса IgM методом ИФА (иммуочипов для ИКБ) к искомым возбудителям и / или типирования ДНК возбудителей в различных биологических материалах от больных (для КР).



Рисунок 1 – Дизайн исследования (пациенты)

2.2 Молекулярно-биологические методы исследования

Материалом для молекулярно-биологических методов исследования служили цельная венозная кровь, парные сыворотки крови больного, забранные в первые сутки поступления пациентов в стационар ($4,7 \pm 0,2$) день болезни) и в динамике через 7–10 дней, а также биоптаты (корочки) с места первичного аффекта (на $(8,0 \pm 0,3)$ день болезни) в тех случаях, когда их получение являлось возможным.

Забор цельной крови из локтевой вены проводился утром натощак в первые сутки поступления пациента в стационар и до начала этиотропной терапии одноразовой стерильной иглой в специальную вакуумную систему с 6 % раствором ЭДТА-К2 объемом 6,0 мл в соотношении 1 : 20.

Для получения сыворотки кровь забиралась при тех же условиях в стерильную вакуумную систему без антикоагулянта в объеме 9,0 мл. Сыворотку получали путем отстаивания при комнатной температуре (20 °С) в темном месте в течение 30 минут до полного образования сгустка. По окончании образования сгустка его отделяли от стенок пробирки стерильной стеклянной палочкой и сыворотку центрифугировали со скоростью 1 000 об/мин в течение 20 минут при комнатной температуре. Для длительного хранения сыворотку в количестве 1,0 мл с помощью стерильного шприца отбирали в стерильные пробирки типа Эппендорф, промаркированные в соответствии с номером «Карты» обследуемого больного, и хранили при температуре минус 20 °С [20].

Биоптаты (корочки) с места первичного аффекта забирались с помощью стерильного пинцета в среднем на $(8 \pm 0,3)$ день болезни и до исследования хранились в 70 ° этиловом спирте в морозильной камере при температуре минус 20 °С.

2.2.1 Экстракция нуклеиновых кислот

Нуклеиновые кислоты экстрагировали индивидуально из каждой пробы цельной крови и сыворотки, а также из биоптатов, используя набор «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ) в соответствии с рекомендациями производителя [46]. Выделенную ДНК элюировали в 50 мкл буфера для элюции и хранили при – 70 °С до проведения этапа ПЦР.

2.2.2 Обнаружение вируса клещевого энцефалита, *Borellia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* / *Ehrlichia muris*

Обнаружение вируса КЭ, *Borellia burgdorferi sl*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* / *Ehrlichia muris* осуществлялось после предварительной экстракции нуклеиновых кислот в присутствии внутреннего контрольного образца – ВКО-STI-87-гесметодом ПЦР в режиме реального времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс ТБЕV, *B. burgdorferi sl*, *A. phagocytophilum*, *E. Chaffeensis* / *E. muris*-FL» (ФБУН ЦНИИЭ) в соответствии с протоколом, рекомендуемым производителем [47].

2.2.3 Обнаружение вируса Кемерово

Обнаружение вируса Кемерово осуществляли методом ОТ-ПЦР в реальном времени с помощью диагностического набора для выявления РНК вируса Кемерово в биологическом материале (ФБУН ЦНИИЭ), на приборе для ПЦР в реальном времени «Rotor-Gene 6 000» (Qiagen, Germany) согласно рекомендациям разработчика [109; 214].

2.2.4 Идентификация риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок

Обнаружение риккетсий группы КПЛ проводилось методом ПЦР в режиме реального времени, предложенном J. Stenos et al. (2005) в модификации ФБУН ЦНИИЭ.

Реакцию ПЦР в реальном времени проводили в объеме 25 мкл с использованием прибора для ПЦР в режиме реального времени «Rotor-Gene 6 000» (Qiagen, Germany).

Реакционную смесь содержащую 10 мкл исследуемой пробы, по 5 пмоль прямого и обратного праймеров, 3 пмоль зонда, 2,5 мкл 1,76 мМ дНТФ(Т) (ФБУН

ЦНИИЭ), 5 мкл смеси PCRmix2 FEP/FRT (ФБУН ЦНИИЭ), 0,5 мкл полимеразы TaqF (ФБУН ЦНИИЭ) доводили H₂O (milliQ) до 25 мкл. Праймеры CS-F, CS-R амплифицировали 74 п. о. фрагмента гена цитратсинтазы (gltA), позиции 1126-1199 нт в референсном сиквенсе *Rickettsia rickettsii* (номер в GenBank - U59729).

Структура олигонуклеотидных праймеров и зонда представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Олигонуклеотидные праймеры для обнаружения риккетсий группы КПЛ

Ген	Праймер	Нуклеотидная последовательность (5'–3')
gltA	CS-F	TCGCAAATGTTACGGTACTTT
	CS-R	TCG TGC ATT TCT TTC CAT TGT G
	CS-P	R6G-TGC AAT AGC AAG AAC CGT AGG CTG GAT G-BHQ1

Термоциклирование проводили в следующем режиме: 95 °С – 15 мин, далее 45 циклов: 95 °С – 10 сек., 60 °С – 40 сек. Регистрацию флюоресцентного сигнала проводили при 60 °С по каналу Yellow. Каждая постановка ПЦР включала отрицательный контроль (дистиллированная вода) и положительный контроль (ДНК *Rickettsia sibirica*).

Последующее типирование риккетсий в положительных образцах осуществляли с помощью подтверждающей ПЦР и секвенирования двух фрагментов генов цитратсинтазы gltA и белка наружной мембраны OmpA.

2.2.5 Типирование риккетсий

При обнаружении ДНК риккетсий группы КПЛ с помощью реакции ПЦР в реальном времени осуществляли последующее молекулярное типирование на основании нуклеотидных последовательностей фрагмента гена цитратсинтазы (gltA – 749 нт, позиции 75–823 нт в референсном сиквенсе) *R. sibirica*, штамм

RH05 (номер доступа в GenBank HM050296) и фрагмента гена, кодирующего белок наружной мембраны 190-кД (ompA – 351 нт, позиции 60–410 нт в референсном сиквенсе) *R. sibirica subsp. mongolitimonae* штамм Dsf1-1 (номер доступа в GenBank KF003013). Для этого использовали две пары праймеров собственного дизайна ФБУН ЦНИИЭ: *gltA-s*, *gltA-as* и *ompA-s*, *ompA-as*, представленные в таблице 2.

Таблица 2 – Структура олигонуклеотидных праймеров для типирования риккетсий

Ген	Праймер	Нуклеотидная последовательность (5'–3')
<i>gltA</i>	<i>gltA-s</i>	AGGATGTAATCGATATAAGTAGGGTATC
	<i>gltA-as</i>	AAG CAT ATT TAT TAC CGC TTC ATT AGC C
<i>ompA</i>	<i>ompA-s</i>	CTTTATTCAACCACCTCAACCGCA
	<i>ompA-as</i>	TAA TAG TAA CAG GCA ACA RGT TAC CTC

Фрагменты генов *gltA* и *ompA* амплифицировали и секвенировали. Амплификацию осуществляли с использованием «горячего старта» в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 2 мкл ДНК, по 1 мкл прямого и обратного праймеров (10 пмоль в мкл), 2,5 мкл дНТФ (1,76 мМ, ФБУН ЦНИИЭ), 10 мкл ПЦР-смеси blue-2 (ФБУН ЦНИИЭ). Термоциклирование осуществляли в следующем режиме: 95 °С – 2 мин, 95 °С – 15 сек., 65 °С – 20 сек., 72 °С – 30 сек. (n = 40), 72 °С – 5 мин.

Реакцию проводили на приборе «MaxyGene Gradient Thermocycler» (Axygen, USA).

Каждая постановка ПЦР включала отрицательный контроль (дистиллированная вода) и положительный контроль (ДНК *Rickettsia sibirica*)

Результат ПЦР оценивали электрофоретическим методом в 1,5 % агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Секвенирование полученных фрагментов осуществляли с помощью прибора для автоматического капиллярного секвенирования «ABI-Prism 3500 XLdevice» (Applied Biosystems, USA).

Полученные сиквенсы сравнивали с референсными последовательностями *R. spp.*, представленными в GenBank NCBI, и на основании максимальной гомологии определяли их видовую принадлежность.

2.3 Серологические методы исследования

Материалом для исследования служили парные сыворотки, полученные из венозной крови больного. Первая сыворотка забиралась в день поступления больного в стационар ($4,7 \pm 0,2$ день болезни), вторая – через 7–10 дней.

2.3.1 Иммуноферментный анализ

Обнаружение специфических антител класса IgM и IgG к возбудителям МЭЧ и ГАЧ проводили в коммерческих иммуноферментных тест-системах «МЭЧ-ИФА-IgM», «МЭЧ-ИФА-IgG» и «ГАЧ-ИФА-IgM», «ГАЧ-ИФА-IgG» производства ООО «Омникс», (г. Санкт-Петербург), с использованием композиции рекомбинантных белков эрлий и анаплазм, сорбированных на поверхности лунок стрипов. Исследование образцов сывороток производилось согласно предложенным производителем инструкций по применению для каждой из тест-систем. Учет результатов проводили спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность (ОП) немедленно после внесения Стоп-реагента. Коэффициент серопозитивности (КС), рассчитывался по формуле, указанной производителем в инструкции. Качественная интерпретация результатов осуществлялась сразу после постановки реакции, путем сравнения полученного КС с референтными значениями.

Обнаружение специфических антител класса IgM и IgG к возбудителю КЭ осуществляли с помощью коммерческих иммуноферментных тест-систем «TBEvirus (FSME) IgM ELISA» и «TBEvirus (FSME) IgG ELISA» (Humburg, Germany) согласно инструкции производителя с использованием стрипов, покрытых инактивированным вирусом КЭ и последующим конъюгированием со

специфической анти-ВКЭ-IgM и анти-ВКЭ-IgG пероксидазой соответственно. Учет результатов проводили спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность немедленно после внесения Стоп-реактанта. Коэффициент серопозитивности, рассчитывался по формуле, указанной производителем в инструкции. Качественная интерпретация результатов выполнялась сразу после постановки реакции, путем сравнения полученного КС с референтными значениями.

В связи с наличием перекрестной серологической реакции между риккетсиями группы КПЛ [161], специфические антитела класса IgM и IgG к возбудителю КР определялись в тест-системе «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» (Vircell, Spain) в соответствии с инструкцией производителя.

2.3.2 Иммуночипы

Исследование сывороток на наличие антител к возбудителям клещевого боррелиоза проводили с помощью набора реагентов «ИммуноЧип Боррелиоз» производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. Данный набор реагентов позволяет за одну постановку дифференцированно выявлять большой спектр антител классов IgG и IgM к антигенам боррелий *Borrelia afzelii* и *Borrelia garinii* – основным патогенным геновидам, широко распространенным на территории России. На одном слайде тест-системы расположены 12 эрреев. Каждый эррей является ограниченной зоной для анализа одного клинического образца, в пределах которой иммобилизованы методом бесконтактной печати 14 диагностически значимых рекомбинантных высокоочищенных антигенов производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. На первой стадии в эрреях проводили инкубацию клинических образцов в конечном разведении 1 : 10. Имеющиеся в образцах специфичные к боррелиям антитела классов IgG и/или IgM связывались с антигенами на иммуносорбенте.

На второй стадии образовавшийся иммунный комплекс антиген-антитело выявляли с помощью инкубации с конъюгатом, представляющим собой смесь

антител к IgG и IgM человека, меченых флуорофорами Cy5 и Cy3, соответственно.

Оценка результатов тестирования с помощью набора реагентов «ИммуноЧип Боррелиоз» проводилась с помощью флуоресцентного сканера «MArS» производства Ditabis, Германия по двум каналам: Cy5/Red (оценка специфических антител класса G), Cy3/Green(оценка специфических антител к антигенам боррелий класса M), согласно правилам интерпретации результатов, предложенных разработчиком. Дополнительно для анализа полученных результатов использовали специализированное программное обеспечение «IMSTAR», разработанное в ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

2.4 Исследование клещей

В период с мая по июль 2013–2015 гг. на территории Алтайского края (Заринский, Поспелихинский, Первомайский районы) на флаг (0,7 м × 1,1 м) было собрано 228 клещей, также получено 234 клеща, самостоятельно доставленных в лабораторию Роспотребнадзора г. Барнаула людьми, подвергшимся их нападению. Для исследования были использованы только взрослые особи. Видовую принадлежность клещей и пол определяли на основании сравнения морфологических признаков согласно рекомендациям Н. А. Филипповой [139].

Каждый образец был заморожен индивидуально и хранился при температуре минус 70 °С до начала исследования.

Перед началом исследования образцы были разморожены, дважды промыты 70 % этанолом для удаления загрязнений с поверхности клеща и промыты фосфатно-солевым буфером (PBS).

Отмытых от внешних загрязнений клещей гомогенизировали индивидуально с помощью автоматического гомогенизатора «TissueLyser LT» (Qiagen, Германия) в 200 мкл фосфатно-солевого буфера. Полученный гомогенат центрифугировали (5 000 об/мин, 2 мин) для осаждения крупных фрагментов экзоскелета и отбирали 100 мкл осветленной суспензии для выделения

нуклеиновых кислот.

В случаях, когда клещи для исследования были предоставлены в виде суспензий, генетическое типирование осуществляли по фрагменту нуклеотидной последовательности внутреннего транскрибируемого спейсера 2 (Internal transcribed spacer 2, ITS2) рибосомального гена клещей. С этой целью проводили реакцию ПЦР с использованием олигонуклеотидных праймеров, предложенных Рамером и соавторами [177].

Реакцию проводили в объеме 25 мкл с использованием «горячего старта». Состав реакции включал по 1 мкл прямого и обратного праймеров в концентрации 1 пмоль/мкл, 2,5 мкл ДНТФ 1,76 мМ (ФБУН ЦНИИЭ), 10 мкл ПЦР-смеси Blue2 (ФБУН ЦНИИЭ), 2 мкл ДНК клещей, H₂O milliQ (ФБУН ЦНИИЭ) до объема 25 мкл. Для проведения реакции использовали термоциклер Терцик (ДНК-технологии, Россия) в следующем режиме: 95 °С – 2 мин / 95 °С – 10 сек, 55 °С – 20 сек, 72 °С – 20 сек, (n = 35), 72 °С – 5 мин. Результаты реакции контролировали методом гель-электрофореза в 1,5 % агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Полученный ПЦР-продукт очищали и секвенировали капиллярным методом с помощью прибора для автоматического секвенирования ABI-Prism 3 500 XL (Applied Biosystems Inc., США). Полученные генетические последовательности сравнивали с последовательностями гена ITS2, представленными в международной базе генетических данных NCBI и на основании совпадения определяли видовую принадлежность клеща.

Нуклеиновые кислоты для определения инфицированности клещей различными возбудителями выделяли с помощью набора «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ), в соответствии с протоколом производителя [46].

Инфицированность клещей вирусом КЭ, возбудителями ИКБ, ГАЧ и МЭЧ определяли методом ПЦР в диагностической системе «АмплиСенс TBEV, *B. burgdorferi* sl, *A. phagocytophillum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» (ФБУН ЦНИИЭ).

Зараженность клещей риккетсиями определяли методом ПЦР в реальном времени с последующим типизирующим секвенированием ампликонов [150].

Зараженность иксодовых клещей вирусом Кемерово определяли при

помощи метода ОТ-ПЦР в реальном времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией с использованием набора для детекции РНК вируса Кемерово «КЕМV-FL» (ФБУНЦНИИЭ) по стандартному протоколу [214]. Полученные ПЦР-продукты анализировали электрофоретическим методом в 1,5 % агарозном геле с добавлением бромистого этидия и секвенировали с помощью прибора для автоматического капиллярного секвенирования ABI-Prism 3 500 XL (Applied Biosystems, США). Полученные сиквенсы сравнивали с референсными последовательностями вируса Кемерово, представленными в GenBank.

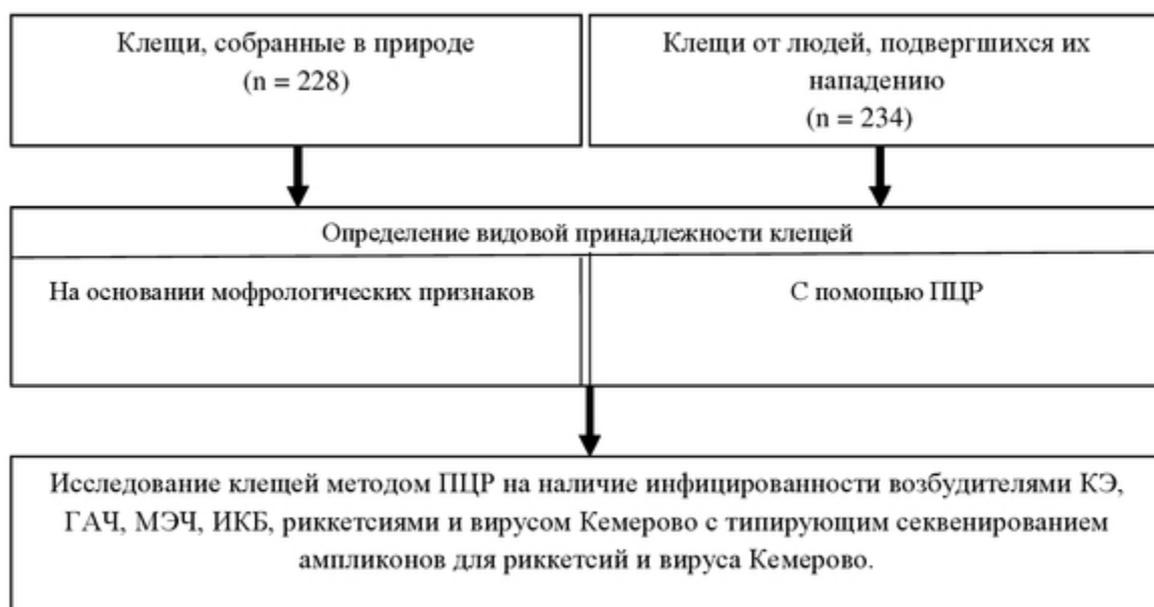


Рисунок 2 – Дизайн исследования (клещи)

2.5 Методы статистической обработки

В работе использованы различные методы статистической обработки в зависимости от типа случайных величин и поставленной задачи исследования.

Для оценки типа распределения признаков использовали показатели эксцесса и асимметрии, характеризующие форму кривой распределения. Распределение считали нормальным при значении данных показателей от -2 до 2 .

Значения непрерывных величин представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее арифметическое и m – стандартная ошибка среднего.

Значения качественных признаков представлены в виде наблюдаемых частот и процентов.

В случаях нормального распределения параметров, а также равенства выборочных дисперсий, для сравнения выборок использовали методы параметрической статистики – t-критерий Стьюдента. В случае распределений, не соответствующих нормальному закону, а также при неравенстве дисперсий, использовали непараметрический U-критерий Манна – Уитни.

Для сравнения частот качественных признаков в независимых выборках использовали критерий χ^2 . При наличии малых частот (менее 10) для данного критерия использовали поправку Йейтса на непрерывность. При частотах меньше 5 использовали метод четырехпольных таблиц сопряженности Фишера. Зависимость между признаками определяли при помощи метода ранговой корреляции Спирмена.

Уровень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы принимали соответствующий $p < 0,05$. Во всех случаях использовали двусторонние варианты критериев. При сравнении нескольких групп между собой использовали поправку Бонферрони на множественность сравнений.

Обработку и графическое представление данных проводили с помощью компьютерных программ Statistica 10.0 (русифицированная версия), Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В период с 2013 по 2016 гг. под наблюдением находилось 213 стационарных больных с различными заболеваниями, передающимися иксодовыми клещами. Из них 139 (65,3 %) пациентов с диагнозом клещевой риккетсиоз, 46 (21,6 %) – с диагнозом иксодовый клещевой боррелиоз, 4 (1,8 %) – клещевой энцефалит и у одного больного диагностирован гранулоцитарный анаплазмоз. У 23 (10,8 %) больных выявлена микст-инфекция, обусловленная возбудителями этих заболеваний в различных сочетаниях.

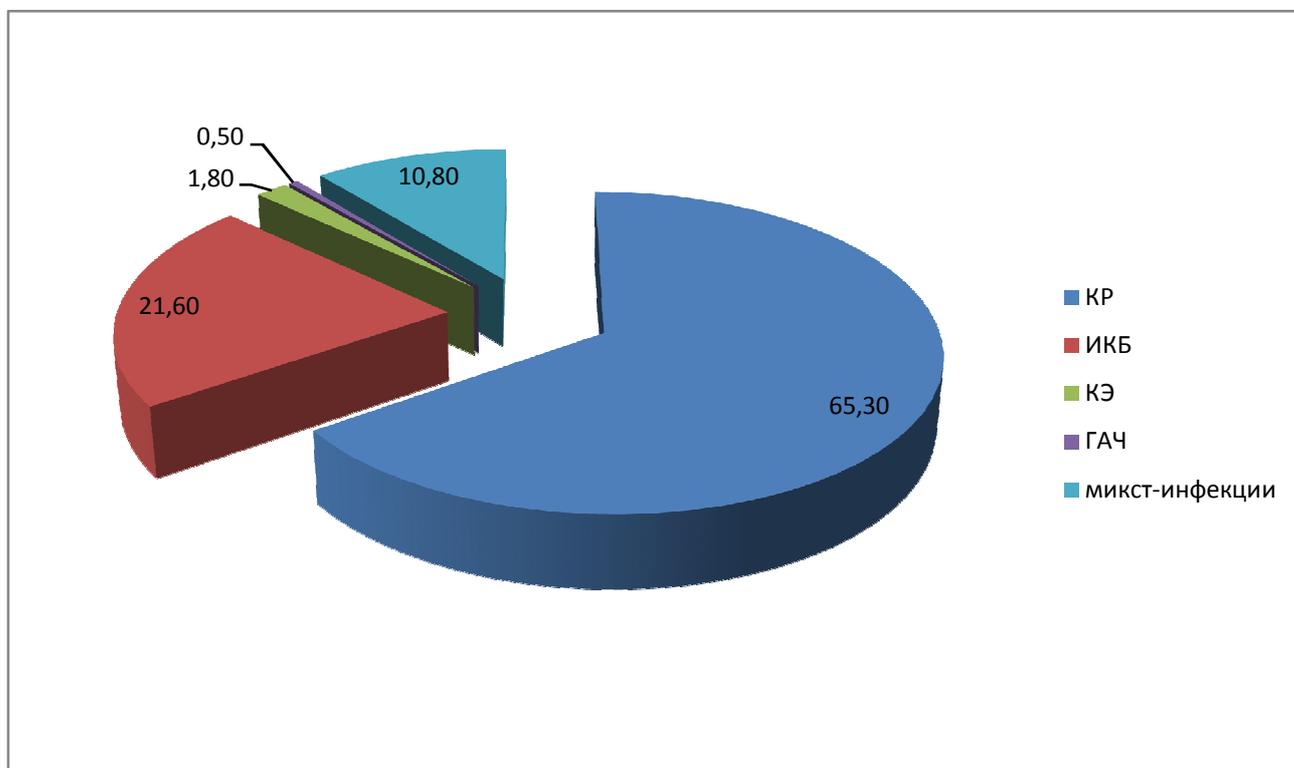


Рисунок 3 – Распределение больных клещевыми инфекциями, % (2013–2016 гг.)

ГЛАВА 3 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕЩЕВЫХ РИККЕТСИОЗОВ У ЖИТЕЛЕЙ АЛТАЙСКОГО КРАЯ

За период с 2013 по 2016 годы проведено динамическое наблюдение за 139 больными КР, находившимися на стационарном лечении. В зависимости от результатов лабораторных методов исследования все больные КР были условно разделены на 3 группы:

Первая группа: 75 (54,0 %) больных, у которых диагноз подтвержден серологически («серопозитивные»). Антитела к риккетсиям группы КПЛ класса IgM в парных сыворотках с нарастанием коэффициента серопозитивности выявлены у 37 человек (49,3 %), только во второй сыворотке – у 38 человек (50,7 %).

Вторая группа: 35 человек (25,2 %) («ПЦР-позитивные») – в различных биологических материалах генотипирована ДНК *Rickettsia sibirica sensu stricto*. В одном случае генотипирована ДНК *Rickettsia heilongjiangensis* – 0,7 %. Данный клинический случай рассмотрен отдельно.

Третья группа: у 28 (20,1 %) больных («серонегативные и ПЦР-негативные») диагноз КР был установлен на основании клинико-эпидемиологических данных.

3.1 Особенности лабораторной диагностики клещевого риккетсиоза

При изучении диагностической значимости ПЦР и серологического метода (ИФА) использованы данные результатов обследования больных, имевших лабораторно верифицированный диагноз КР (110 человек). Всего от этих пациентов было забрано и исследовано методом ПЦР в режиме реального времени, предложенном J. Stenos et al. (2005) в модификации ФБУН ЦНИИЭ, с последующим типизирующим секвенированием полученных ампликонов 27 биоптатов с места первичного аффекта (корочек), 110 образцов цельной крови (сгустки) и 110 парных сывороток, забранных с интервалом в 7–10 дней.

У «ПЦР-положительных» больных ДНК *Rickettsia sibirica sensu stricto* была обнаружена в различных биологических материалах.

При исследовании образцов кожных биоптатов, забранных на $(8,0 \pm 0,3)$ день болезни (на фоне антибиотикотерапии), получено 22 положительных и 5 отрицательных результатов. Диагностическая значимость ПЦР при выявлении ДНК риккетсий в кожных биоптатах составила 81,5 %.

При исследовании образцов сыворотки получено 13 положительных и 97 отрицательных результатов, при исследовании сгустка цельной крови – 6 и 104 результатов соответственно. Эффективность метода при выявлении ДНК риккетсий в сыворотке крови – 11,8 %, в цельной крови – 5,5 %. Одновременное исследование образцов цельной крови и сывороток у больных КР позволило повысить выявляемость ДНК риккетсий лишь до 17,3 %. Стоит отметить, что ДНК риккетсий обнаруживались только в первой сыворотке, забранной на $(4,7 \pm 0,2)$ день болезни до начала этиотропной терапии. Наличие достоверных различий частоты положительных результатов при исследовании методом ПЦР биоптата с места первичного аффекта и первой сыворотки крови ($p < 0,05$) свидетельствует о высокой диагностической значимости метода ПЦР при исследовании биоптатов с места первичного аффекта. Несомненным достоинством ПЦР является и возможность последующего типизирующего секвенирования полученных ампликонов патогена с целью его видовой дифференцировки, что является актуальным для регионов, в которых одновременно встречаются различные риккетсии из группы возбудителей КПЛ.

При исследовании образцов сыворотки методом ИФА антитела класса IgM к риккетсиям группы КПЛ определялись в 99 пробах, и 11 образцов дали отрицательные результаты. Таким образом, эффективность метода ИФА при выявлении антител к риккетсиям группы КПЛ у больных КР составила 90,0 %. У 44 человек (44,4 %) антитела класса IgM к риккетсиям группы КПЛ определялись в первой сыворотке. Исследование же парных сывороток, забранных с интервалом 7–10 дней, позволило повысить выявляемость антител класса IgM на 55,6 %.

Сравнительный анализ результатов ИФА и ПЦР сыворотки крови у пациентов с верифицированным диагнозом КР показал, что совпадение положительных результатов имело место лишь в 10 (9,1 %) случаях. При этом имеются достоверные отличия частоты положительных результатов при использовании ИФА в сравнении с ПЦР и отсутствует корреляционная связь между ними ($r = 0,1$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что метод ИФА в диагностике КР является достаточно эффективным при условии исследования парных сывороток, забранных с интервалом в 7–10 дней.

3.2 Сравнительный анализ клинико-лабораторного течения клещевого риккетсиоза у «ПЦР-положительных», «серопозитивных» и «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов

Наличие случаев КР, в которых этиологическая роль *Rickettsia sibirica sensu stricto* была подтверждена молекулярно-генетическими методами и не вызывала сомнения (случаи СКТ), определило необходимость провести сравнительную характеристику клинико-лабораторного течения заболевания у данных больных с двумя другими группами пациентов с КР.

Таблица 3 – Сравнительный анализ частоты встречаемости основных клинических проявлений клещевого риккетсиоза у «серопозитивных», «ПЦР-позитивных» и «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов

Основные клинические проявления	Всего (n = 138) % (Абс.)	«Серопозитивные» (1 группа, n = 75) % (Абс.)	«ПЦР-позитивные» (2 группа, n = 35) % (Абс.)	«Серонегативные и ПЦР-негативные» (3 группа, n = 28) % (Абс.)	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Острое начало	76,8 (106)	76,0 (57)	80,0 (28)	75,0 (21)	0,995	0,998	0,998
Общая слабость	97,1 (134)	94,7 (71)	100,0 (35)	100,0 (28)	0,782	0,876	—
Озноб	92,0 (127)	92,0 (69)	91,4 (32)	92,9 (26)	0,990	0,990	0,991
Жар	72,5 (100)	70,7 (53)	71,4 (25)	78,6 (22)	0,999	0,926	0,978
Потливость	58,0 (80)	52,0 (39)	57,1 (20)	75,0 (21)	0,987	0,169	0,536
Головная боль	81,9 (113)	78,7 (59)	91,4 (32)	78,6 (22)	0,424	0,991	0,622
Головокружение	29,7 (41)	28,0 (21)	37,1 (13)	25,0 (7)	0,839	1,000	0,833
Снижение аппетита	71,0 (98)	70,7 (53)	74,3 (26)	67,9 (19)	0,998	1,000	0,989
Нарушение сна	63,0 (87)	60,0 (45)	65,7 (23)	67,9 (19)	0,977	0,943	1,000
Миалгии	52,9 (73)	50,7 (38)	62,9 (22)	46,4 (13)	0,688	0,998	0,648
Артралгии	52,9 (73)	56,0 (42)	57,1 (20)	39,3 (11)	1,000	0,483	0,575
Тошнота	26,8 (37)	26,7 (20)	31,4 (11)	21,4 (6)	0,988	0,988	0,907
Рвота	9,4 (13)	6,7 (5)	11,4 (4)	14,3 (4)	0,951*	0,793*	1,000*
Экзантема	99,3 (137)	100 (75)	97,1 (34)	100 (28)	0,998	—	0,977
Регионарный лимфаденит	37,0 (51)	28,0 (21)	48,6 (17)	46,4 (13)	0,163	0,330	1,000
Первичный аффект	87,7 (121)	81,3 (61)	97,1 (34)	92,9 (26)	0,145	0,592	0,996
Относительная брадикардия	18,8 (26)	20,0 (15)	20,0 (7)	14,3 (4)	0,992	0,974*	0,991*
Примечание: p – по критерию χ^2 , p* – по точному критерию Фишера.							

Таблица 4 – Сравнительный анализ длительности основных клинических проявлений клещевого риккетсиоза у «серопозитивных», «ПЦР-позитивных» и «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов

Основные клинические проявления	«Серопозитивные» (1 группа, n = 75) M ± m (дней)	«ПЦР-позитивные» (2 группа, n = 35) M ± m (дней)	«Серонегативные и ПЦР-негативные» (3 группа, n = 28) M ± m (дней)	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Общая слабость	8,1 ± 0,4	7,9 ± 0,5	6,7 ± 0,4	0,979	0,103	0,174
Озноб	5,5 ± 0,3	5,4 ± 0,3	4,8 ± 0,4	0,995	0,306	0,444
Жар	5,6 ± 0,3	5,4 ± 0,3	4,6 ± 0,4	0,945	0,191	0,359
Потливость	6,2 ± 0,5	5,2 ± 0,4	5,1 ± 0,3	0,403	0,158	0,996
Головная боль	6,1 ± 0,4	5,9 ± 0,5	5,6 ± 0,5	0,991	0,847	0,956
Головокружение	6,5 ± 0,9	5,3 ± 0,6	5,1 ± 1,0	0,712	0,803	0,999
Снижение аппетита	6,0 ± 0,4	6,3 ± 0,5	5,5 ± 0,6	0,939	0,894	0,657
Нарушение сна	6,1 ± 0,4	6,0 ± 0,5	5,2 ± 0,5	0,997	0,483	0,657
Миалгии	6,0 ± 0,4	5,8 ± 0,4	5,1 ± 0,6	0,980	0,511	0,653
Артралгии	6,0 ± 0,4	6,6 ± 0,6	4,9 ± 0,5	0,851	0,498	0,168
Тошнота	3,9 ± 0,6	3,4 ± 0,9	2,5 ± 0,8	0,940	0,581	0,897
Рвота	1,4 ± 0,2	2,5 ± 1,2	1,3 ± 0,3	0,812	0,969	0,717
Регионарный лимфаденит	12,7 ± 0,5	13,9 ± 0,7	11,0 ± 0,8	0,371	0,182	0,031
Длительность лихорадки	7,0 ± 0,3	6,6 ± 0,4	6,2 ± 0,4	0,778	0,318	0,877
День появления сыпи (от начала болезни)	3,8 ± 0,2	3,8 ± 0,3	3,3 ± 0,3	1,000	0,477	0,536
Длительность экзантемы	6,7 ± 0,3	6,6 ± 0,3	6,0 ± 0,3	0,994	0,182	0,424
Инкубационный период	7,3 ± 0,4	6,8 ± 0,6	7,4 ± 0,5	0,895	0,999	0,875

Таблица 5 – Сравнительный анализ основных лабораторных показателей у «серопозитивных», «ПЦР-позитивных» и «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов с клещевым риккетсиозом

Лабораторные показатели	Всего (n = 138) % (Абс.)	«Серопозитивные» (1 группа, n = 75) % (Абс.)	«ПЦР-позитивные» (2 группа, n = 35) % (Абс.)	«Серонегативные и ПЦР-негативные» (3 группа, n = 28) % (Абс.)	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Лейкопения (менее $4,0 \times 10^9/\text{л}$)	18,1 (25)	25,3 (19)	11,4 (4)	7,1 (2)	0,399*	0,216*	0,999*
Лейкоцитоз (более $9,0 \times 10^9/\text{л}$)	5,1 (7)	5,3 (4)	8,6 (3)	0	0,994*	—	—
Моноцитоз (более 9 %)	18,1 (25)	20,0 (15)	8,6 (3)	25,0 (7)	0,521*	0,989	0,394*
Нейтрофилез (палочкоядерные нейтрофилы более 5 %)	65,9 (91)	66,7 (50)	74,3 (26)	53,6 (15)	0,914	0,685	0,381
Относительная лимфопения (менее 20,0 %)	43,5 (60)	36,0 (27)	57,1 (20)	46,4 (13)	0,169	0,842	0,911
Относительный лимфоцитоз (более 40,0 %)	2,9 (4)	4,0 (3)	0	3,6 (1)	0,919*	0,952*	0,999*
Тромбоцитопения (менее $160 \times 10^9/\text{л}$)	91 (65,9)	72,0 (54)	62,9 (22)	53,6 (15)	0,839	0,330	0,948
Снижение гемоглобина (менее 120 г/л)	9,4 (13)	10,7 (8)	11,4 (4)	3,6 (1)	0,995*	0,841*	0,874*
Повышение СОЭ (более для мужчин 2–10 мм/ч, для женщин 2–15 мм/ч)	73,2 (101)	69,3 (52)	91,4 (32)	60,7 (17)	0,063	0,911	0,027

Продолжение таблицы 5

Лабораторные показатели	Всего (n = 138) % (Абс.)	«Серопозитивные» (1 группа, n = 75) % (Абс.)	«ПЦР-позитивные» (2 группа, n = 35) % (Абс.)	«Серонегативные и ПЦР-негативные» (3 группа, n = 28) % (Абс.)	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Протеинурия (более 0,033г/л)	57,3 (79)	57,3 (43)	68,6 (24)	42,9 (12)	0,738	0,621	0,203
Лейкоцитурия (более 3 лейкоцитов в поле зрения для мужчин и 6 лейкоцитов в поле зрения для женщин)	41,3 (57)	37,3 (28)	51,4 (18)	39,3 (11)	0,552	1,000	0,859
Гипербилирубинемия (более 20,5 мкмоль/л)	3,6 (5)	1,3 (1)	5,7 (2)	7,1 (2)	0,870*	0,747*	0,988*
Повышение активности АлАТ (более 40 Ед/л)	42,8 (59)	45,3 (34)	42,9 (15)	35,7 (10)	1,000	0,884	0,985
Повышение активности АсАТ (более 31 Ед/л)	52,9 (73)	52,0 (39)	57,1 (20)	50,0 (14)	0,987	1,000	0,985
Примечание: p – по критерию χ^2 , p* – по точному критерию Фишера.							

Как видно из таблиц 3, 4 и 5, достоверных различий в частоте встречаемости основных симптомов и в их длительности при клещевом риккетсиозе в сравниваемых группах больных выявлено не было. Исключение составила длительность регионарного лимфаденита, который у «ПЦР-положительных» больных длился дольше, чем у «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов ($p_{2-3} = 0,031$).

Независимо от результатов лабораторных методов исследования, клещевой риккетсиоз в сравниваемых группах протекал в абсолютном большинстве в типичной форме с преобладанием острого начала, развитием лихорадочно-интоксикационного синдрома, характеризующегося общей слабостью, ознобом, чувством жара, миалгиями, артралгиями, головной болью, снижением аппетита. У всех больных, за исключением одного случая, имела место макуло-папулезная экзантема, в 79,7 % на месте присасывания клеща удавалось обнаружить первичный аффект и несколько реже – увеличение регионарных лимфатических узлов.

Преобладающими изменениями в общем анализе крови являлись лейкопения, моноцитоз, нейтрофилез, относительная лимфопения, тромбоцитопения и повышение СОЭ, которое достоверно чаще встречалось в группе «ПЦР-положительных» больных ($p_{1-2} = 0,063$, $p_{2-3} = 0,027$). В общем анализе мочи во всех группах выявлена умеренная протеинурия и лейкоцитурия. Изменения в показателях биохимического анализа крови характеризовались в основном повышением активности трансаминаз печени.

Серологическое подтверждение диагноза КР в тест-системе с группоспецифичным для риккетсий группы КПЛ антигеном и отсутствие достоверных отличий в частоте встречаемости и длительности основных клинических и лабораторных симптомов в группах с серологическим, молекулярно-биологическим и клинико-эпидемиологическим подтверждением диагноза позволило нам трактовать все случаи КР как СКТ.

3.3 Клинико-лабораторная характеристика сибирского клещевого тифа у жителей Алтайского края

Большинство наблюдаемых больных с клещевым сыпным тифом были направлены на госпитализацию в стационар терапевтом поликлиники по месту жительства. При этом диагноз «сибирский клещевой тиф» на этапе оказания первичной медико-санитарной медицинской помощи в амбулаторных условиях (поликлиника по месту проживания больного) фигурировал в 67,4 % случаев. У 29,7 % больных выставлен диагноз других инфекционных заболеваний. В этих случаях больные были направлены со следующими диагнозами: «Лихорадка неясного генеза» (11 человек), «Клещевой боррелиоз» (8), «Острая респираторная вирусная инфекция» (7), «Псевдотуберкулез» (5), «Клещевой энцефалит» (4), «Укус клеща» (3), «Корь» (1), «Инфекционный мононуклеоз» (1), «Острый тонзиллит» (1). Диагностические ошибки на этом этапе оказания медицинской помощи чаще всего были обусловлены недостаточно тщательным сбором эпидемиологического анамнеза, невнимательным осмотром пациента и, как следствие, не обнаружением экзантемы и первичного аффекта, увеличения регионарных лимфатических узлов. 2,9 % пациентов обратились в приемный покой инфекционного стационара самостоятельно в связи с повышением температуры.

В приемном покое после проведения клинико-эпидемиологического обследования пациентам был выставлен диагноз СКТ, и лишь в одном случае он не был заподозрен из-за атипичного течения.

В стационар больные поступали на $(4,7 \pm 0,2)$ день от начала болезни, чаще всего на 2–5 день. Сроки поступления пациентов в стационар от начала болезни представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Сроки поступления больных сибирским клещевым тифом в стационар от момента начала заболевания (2013–2016 гг.)

Дни	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Всего
Абс.	3	14	34	24	22	12	15	5	5	2	0	2	138
%	2,2	10,1	24,6	17,4	15,9	8,7	10,9	3,6	3,6	1,5	0	1,5	100,0

Случаи заболевания регистрировались с апреля по ноябрь. На рисунке 4 представлена сезонность госпитализации больных сибирским клещевым тифом в стационар.

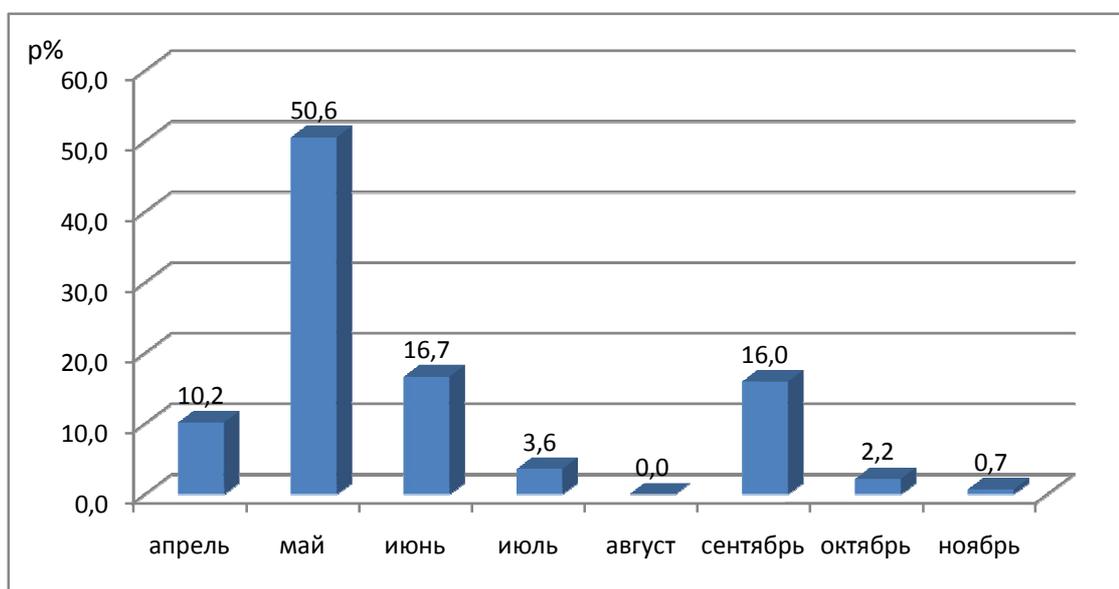


Рисунок 4 – Сезонность госпитализации больных сибирским клещевым тифом в стационар, p % (2013–2016 гг.)

Наибольшее число заболевших приходилось на май (50,6 %) с постепенным снижением к августу и вторым значительно меньшим пиком заболеваемости в сентябре – 16,0 % больных.

Среди заболевших доминировали мужчины – 95 человек (68,8 %). Женщины составляли 31,2 % (43 человека). Возраст пациентов колебался от 16 до 79 лет ($49,3 \pm 1,3$) лет). Средний возраст мужчин составлял ($47,2 \pm 1,4$) лет, женщин – ($54,1 \pm 2,8$) года.

Распределение пациентов по полу и возрасту представлено на рисунке 5.

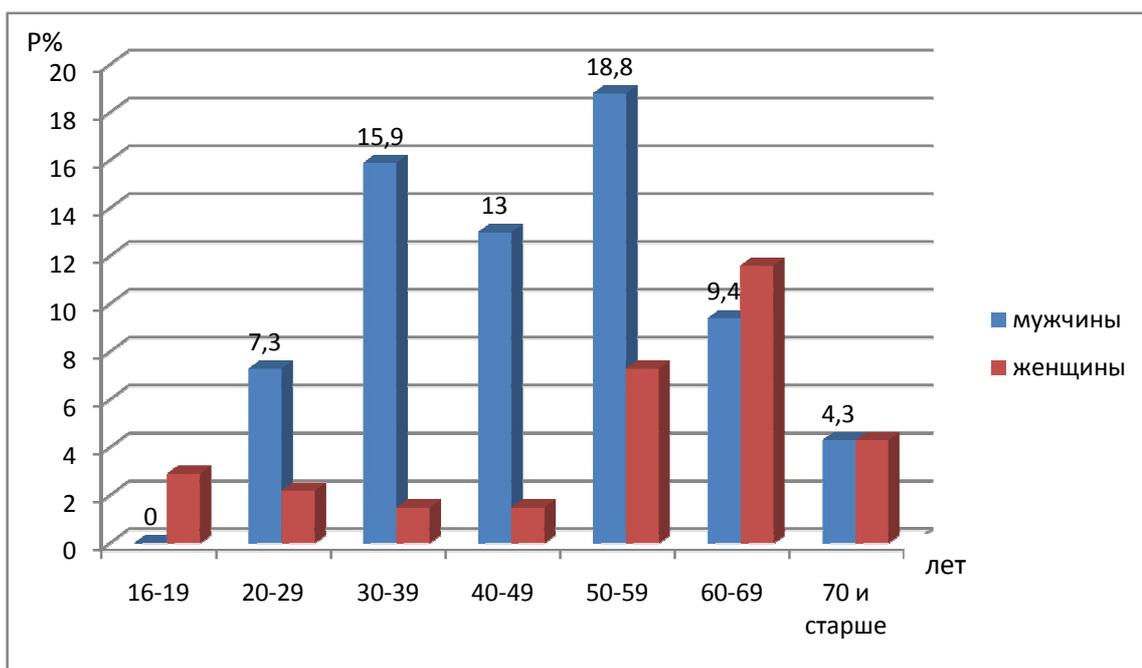


Рисунок 5 – Распределение больных сибирским клещевым тифом по полу и возрасту, р % (2013–2016 гг.)

Из рисунка 5 видно, что наиболее многочисленная группа заболевших была в возрасте от 50 до 59 лет и преобладали в ней мужчины. Женщины доминировали в возрастной группе от 60 до 69 лет.

Из анамнеза жизни удалось установить, что 78 заболевших (56,5 %) имели различные хронические соматические заболевания, вне обострения (гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, хронический гастрит, хронический бронхит и т. д.).

Наибольшее число пациентов являлось работающими людьми: служащими государственных учреждений, частных организаций и предприятий (52,2 %). 24,6 % человек были пенсионерами. Неработающие люди составляли 18,1 %. На студентов и учащихся общеобразовательных школ приходилось по 4,4 % и 0,7 % соответственно.

Преобладали городские жители – 118 человек (85,5 %), жители сельской

местности: поселков, сел и деревень составляли 14,5 %.

При сборе эпидемиологического анамнеза установлено, что 93 пациента (67,4 %) указывали на присасывание одного или нескольких клещей. 45 человек (32,6 %) не отмечали присасывания, однако у 35 из них (77,8 %) при объективном осмотре кожных покровов был найден первичный аффект.

Из всех пациентов, отмечавших факт присасывания клеща, 74 человека (79,6 %) подверглись его нападению на территории различных районов Алтайского края, чаще всего на территории Первомайского, Топчихинского, Тальменского, Калманского и Каменского районов. 18 человек (19,4 %) – на территории города Барнаула и один человек – в городе Бийске.

Чаще всего присасывание клеща происходило во время отдыха на природе – 25,8 % случаев, несколько реже – во время работы городских жителей на дачном участке (20,4 % больных). 16,2 % пациентов подвергались нападению клеща по месту своего проживания во время работы на приусадебном участке, при уходе за домашними животными, 15,1 % заболевших снимали клеща после пребывания на берегу реки либо озера во время рыбалки, 10,6 % – во время работы на производстве (лесозаготовка, строительство и т. д.). У 5,4 % присасывание клеща отмечено во время сбора грибов, охоты – 5,4 % , у 1,1 % – во время работы на пасеке.

В большинстве случаев клещей удаляли с области волосистой части головы и шеи – 33,3 % пациентов, с туловища – 26,9 % пациентов, с нижних конечностей и паховой области – 23,7 % человек, с верхних конечностей и с подмышечной области – 11,8 % пациентов. Отмечали присасывание двух клещей в один день в разных частях тела (шея и паховая область, ухо и предплечье, нога и туловище, туловище и голова) 4,3 % заболевших.

Инкубационный период был установлен только у заболевших, которые смогли точно указать дату присасывания клеща – 90 человек (65,2 %). Инкубационный период составлял $(7,2 \pm 0,3)$ дней (минимальный – 2 дня, максимальный – 14 дней). Остальные пациенты называли лишь приблизительные сроки, либо многократный контакт с переносчиком, а также не отмечали

присасывание клеща даже при обнаружении первичного аффекта.

Острое начало болезни с повышения температуры тела отмечено в 76,8 % случаев. Прочие пациенты указывали на продромальные явления в виде субфебрилитета, общей слабости, головной боли в течение 1–2 дней.

На протяжении болезни температура повышалась до субфебрильных цифр – у 41,3 % больных, у 38,4 % – до фебрильных, у 28 пациентов (20,3 %) температура тела была пиретической, но не превышала 39,5 °С.

Оценка динамики лихорадочной реакции позволила выделить два типа температурных кривых: постоянный тип (*febris continua*) – 73,9 %, реже отмечалась ремитирующая лихорадка (*febris remittens*) с суточными колебаниями в 1–2 градуса – 26,1 % случаев.

Длительность лихорадки колебалась от 2 до 16 дней ($6,7 \pm 0,2$) дней).

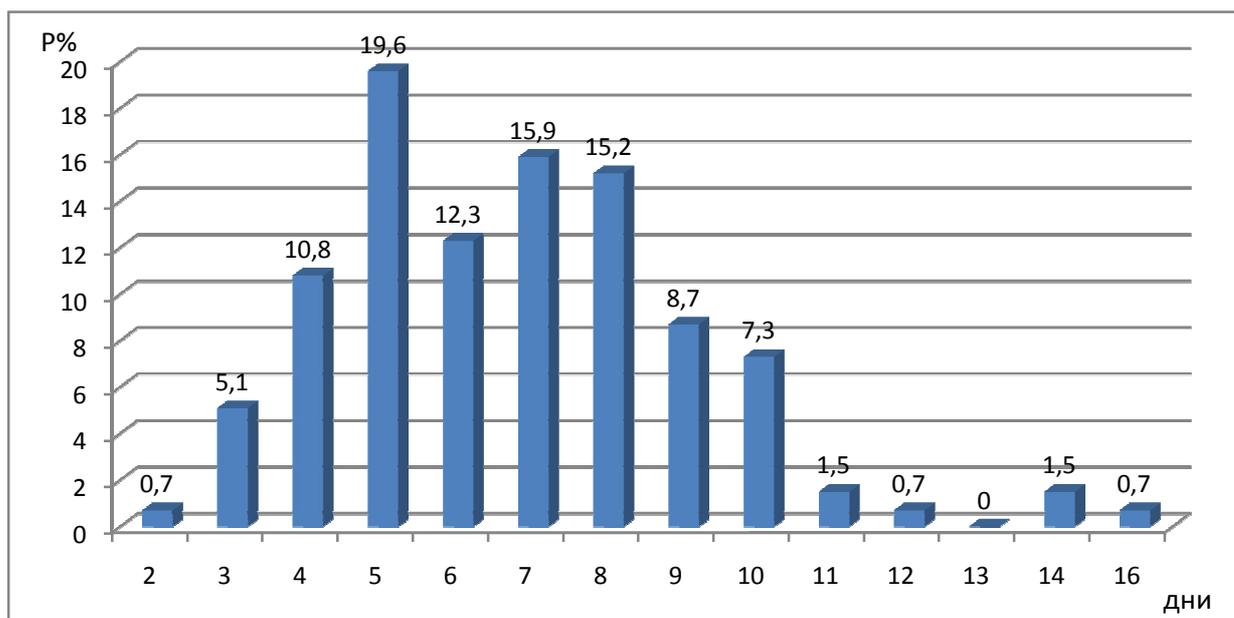


Рисунок 6 – Распределение больных сибирским клещевым тифом по длительности лихорадочного периода, р % (2013–2016 гг.)

Из рисунка 6 видно, что чаще всего температура держалась 5–8 дней (63,0 %). В 92,0 % лихорадка сопровождалась ознобом и в 72,5 % – чувством жара, в 58,0 % – повышенной потливостью. Снижение температуры происходило

критически, либо ускоренным или коротким лизисом.

При опросе установлено, что чаще всего, кроме повышения температуры, лихорадочно-интоксикационный синдром включал в себя жалобы пациентов на общую слабость – (97,1 %), снижение либо отсутствие аппетита (71,0 %), боли в мышцах и суставах (52,9 %). На высоте лихорадки у некоторых больных отмечалась вялость (36,2 %), Миалгии локализовались, в основном, в области поясничных и икроножных мышц, мышцах плечевого пояса. Болели преимущественно коленный, голеностопный, локтевой, лучезапястный суставы. При этом изменения цвета кожных покровов, отечность и ограничение движения в этих суставах не отмечалось.

На высоте лихорадки 26,8 % пациентов отмечали тошноту, которая в 9,4 % случаев сопровождалась однократной, либо двукратной рвотой.

Вовлечение в процесс центральной нервной системы проявлялось в виде головной боли продолжительностью от 1 до 14 дней ($6,0 \pm 0,3$ дней), которая беспокоила 81,9 % больных. Головная боль, чаще всего, имела разлитой характер (46,0 %), несколько реже локализовалась в лобной области (24,8 %), в 16,8 % – в височной, в 10,6 % – в затылочной и в 1,8 % – в теменной. Головокружение отмечали 29,7 % заболевших. Беспокойный, прерывистый сон с частыми ночными пробуждениями отмечали 63,0 % госпитализированных.

При объективном осмотре у 110 (79,7 %) больных на месте присасывания клеща был найден единичный первичный аффект, у – 9 (6,5 %) больных – два первичных аффекта и у 2 (1,5 %) – три первичных аффекта. При этом 37,2 % больных, имевших первичный аффект, отрицали факт присасывания клеща. На локализацию первичного аффекта в области волосистой части головы и шеи, а также в области туловища, приходилось равное число случаев – по 32,2 %. На нижних конечностях и в паховой области первичный аффект был обнаружен в 22,4 % случаев, в 13,2 % – на верхних конечностях и в подмышечной впадине.

В 30,6 % случаев первичный аффект представлял собой участок некроза до 1,0 см, окруженный инфильтратом и венчиком гиперемии не более 4 см в диаметре. Воспалительный инфильтрат не превышал 2,0 см. В 26,4 % наблюдался

только участок некроза с зоной инфильтрации, а в 23,1 % – инфильтрат, с гиперемией по краям без признаков некроза в центре. У 12,4 % – заболевших отмечался лишь участок инфильтрации до 3,0 см в диаметре, у 6,6 % – участок некроза, окруженный венчиком гиперемии. Как правило, больных не беспокоили боль, зуд или неприятные ощущения на месте первичного аффекта. В одном случае, помимо инфильтрата и гиперемии, на месте присасывания клеща образовалась гематома до 4,0 в диаметре, и больной предъявлял жалобы на выраженную болезненность в области первичного аффекта. У 63,6 % пациентов участок некроза был покрыт плотной корочкой багрово-коричневого цвета.

Регионарный лимфаденит выявлен у 37,0 % всех наблюдаемых больных и у 42,2 % от числа заболевших, имевших первичный аффект. Лимфатические узлы были увеличены до 1,5–3 см в диаметре, не спаяны с окружающими тканями, в 37,3 % умеренно болезненны при пальпации в первые дни наблюдения. Регионарный лимфаденит наблюдался от 7 до 18 дней ($12,7 \pm 0,4$ дней). У трех человек от места первичного аффекта по направлению к регионарным лимфатическим узлам четко прослеживался лимфангоит, выраженность которого постепенно уменьшалась и окончательно исчезала к моменту выписки из стационара.

Характерный признак СКТ – экзантема, встречался в 99,3 % случаев. У одного пациента СКТ протекал в атипичной форме с наличием первичного аффекта, регионарного лимфаденита, но без сыпи. Диагноз этой формы был установлен на основании типирования ДНК *R. sibirica sensu stricto* в сыворотке крови больного.

Экзантема появлялась на 1–9 день болезни (на $3,7 \pm 0,1$ день). При этом, 40,9 % заболевших отмечали, что высыпания появлялись поэтапно: первоначально возникали на ногах, затем в области туловища, шеи, распространяясь в дальнейшем на руки. У 5,1 % высыпания захватывали лицо.

В периоде разгара заболевания у 40,9 % заболевших сыпь имела полиморфный характер с одновременным обнаружением пятен, папул и розеол, у 12,4 % – экзантема была макуло-папулезной и в 46,7 % – розелезно-папулезной.

Элементы сыпи размерами от 0,2 до 1,5 см располагались на неизменном фоне кожи, не имели тенденции к слиянию и не сопровождалась зудом. В одном случае наряду с розеолезно-папулезной экзантемой отмечались петехиальные высыпания в области голеней и стоп. Экзантема сохранялась от 3 до 15 дней ($6,5 \pm 0,2$) дня).

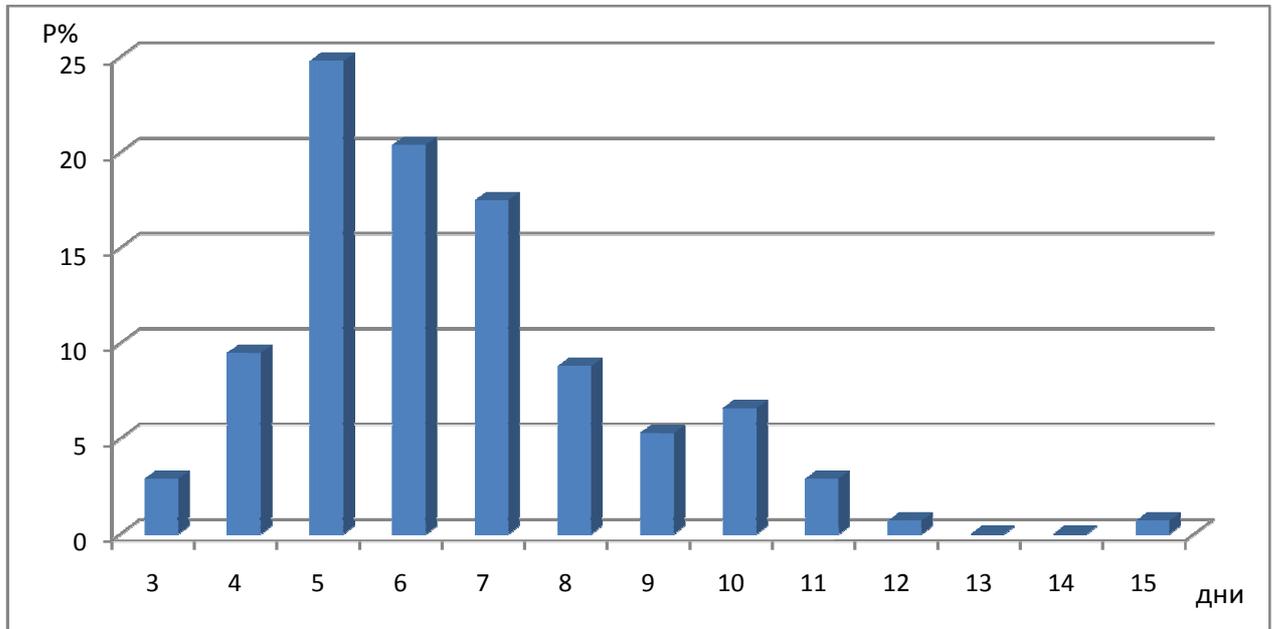


Рисунок 7 – Распределение больных сибирским клещевым тифом по длительности экзантемы, р % (2013–2016 гг.)

В большинстве случаев цвет кожных покровов не менялся (89,9 %). У 4,4 % пациентов отмечена бледность кожи, в 5,8 % – гиперемия лица, с инъекцией сосудов склер.

Со стороны верхних дыхательных путей у 32,6 % заболевших отмечалась гиперемия и инъекция слизистой ротоглотки. Боль в горле продолжительностью от 1 до 8 дней ($4,1 \pm 0,4$) дня беспокоила 18,1 % госпитализированных, кашель – 9,4 %. Со стороны легких у всех больных выслушивалось везикулярное дыхание.

Со стороны сердечно-сосудистой системы на высоте лихорадки у 78,3 % заболевших определялась тахикардия, у 18,8 % – относительная брадикардия. У большинства больных артериальное давление оставалось в пределах нормы (67,4 %), у 11,6 % пациентов отмечена гипотония (давление 100/60 мм рт. ст.),

у 21,0 % – гипертония с повышением артериального давления 140/80–180/100 мм рт. ст., при этом у 72,4 % из них в анамнезе имеется установленный диагноз гипертонической болезни.

Со стороны пищеварительной системы у 95,7 % пациентов при объективном осмотре отмечена обложенность языка белым налетом. В 5,1 % случаев выявлена гепатомегалия (печень выступала из-под края реберной дуги на 1–5 см), сопровождающаяся в 2,9 % умеренной болезненностью при пальпации в правом подреберье.

Изменения в показателях общего анализа крови на момент поступления больного в стационар в 18,1 % характеризовались лейкопенией и в 5,1 % – лейкоцитозом. Тромбоцитопения со снижением уровня тромбоцитов до $66 \times 10^9/\text{л}$ – $159 \times 10^9/\text{л}$ выявлена в 65,9 % случаев. Повышение СОЭ отмечено у 73,1 % больных. Снижение гемоглобина – в 9,4 % случаев. В формуле крови нейтрофилез встречался в 65,9 % случаев, относительная лимфопения – в 43,5 %, лимфоцитоз – в 2,9 %.

Изменения в показателях общего анализа мочи в 57,3 % случаев заключались в умеренной протеинурии, лейкоцитурия наблюдалась в 41,3 % случаев.

Изменения в показателях биохимического анализа крови характеризовались повышением активности трансаминаз печени: у 42,8 % больных – от 42 Ед/л до 315 Ед/л для АлАТ и у 52,9 % – от 32 Ед/л до 431 Ед/л – для АсАТ. Гипербилирубинемия от 21 до 44 мкмоль/л выявлена у 3,6 % больных в т. ч. за счет непрямого билирубина (2,1 %) и прямого (1,5 %). Гепатит у пациентов был лабораторно обнаружен на $(4,7 \pm 0,2)$ день болезни. В стационаре гепатит регистрировался в течение $(9,0 \pm 0,2)$ дней.

С учетом общего состояния больных, высоты лихорадки, выраженности симптомов интоксикации, характера и выраженности экзантемы установлено, что преобладали пациенты со среднетяжелыми формами заболевания – 87,0 %. В легкой форме заболевание протекало в 12,3 % случаев, и в одном случае – в тяжелой, с наличием полиморфной сыпи, с единичными геморрагическими

элементами на нижних конечностях и с менингеальными симптомами.

Критерии определения степени тяжести заболевания, предложенные автором, представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Критерии степени тяжести у больных сибирским клещевым тифом

Степень тяжести	Критерии
Тяжелая	Резко выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела выше 39 °С, экзантема с геморрагическим компонентом, менингеальные симптомы.
Среднетяжелая	Умеренно выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела 38–39 °С, обильная сыпь.
Легкая	Нерезко выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температура тела не более 37,9 °С, необильная сыпь.

До момента госпитализации в стационар 35,5 % заболевших самостоятельно принимали различные препараты: 6,5 % – антибиотики (ципрофлоксацин или левомецетин), либо противовирусные препараты (циклоферон, арбидол), 29,0 % – жаропонижающие и нестероидные противовоспалительные препараты (аспирин, парацетамол, ибупрофен).

В лечении СКТ у наблюдаемых больных использовался комплексный подход с обязательным назначением этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии. Так, в качестве этиотропного лечения, все больные получали антибиотики тетрациклинового ряда: доксициклин по 0,2 г/сут (79,0 % больных), либо тетрациклин в дозе 1,2 г/сут (21,0 %). Курс лечения составлял $(8,8 \pm 0,2)$ дня. На фоне проводимой в стационаре антибиотикотерапии нормализация температуры наблюдалась на 1–14 день (на $(4,6 \pm 0,2)$ день).

Патогенетическое лечение включало в себя дезинтоксикационную терапию в зависимости от тяжести заболевания. При легкой форме болезни пациенты нуждались лишь в обильном питье, при средних и тяжелых формах в первые дни поступления больного в стационар осуществлялось внутривенное введение глюкозо-солевых растворов (раствор 5 % глюкозы, раствор Рингера).

Длительность парентеральной дезинтоксикационной терапии составляла в среднем ($3,3 \pm 0,2$) дня и была показана 87,7 % пациентов.

В качестве симптоматической терапии на высоте лихорадки более половины пациентов получали жаропонижающие препараты (ацетилсалициловая кислота, парацетамол – перорально, либо в/в введение литической смеси).

В период реконвалесценции отмечалось улучшение общего состояния пациентов с регрессом основных клинических симптомов. К моменту выписки из стационара у всех больных полностью исчезала экзантема. У 48,6 % пациентов на месте первичного эффекта отмечалась умеренная инфильтрация или пигментация. 8,7 % больных, были выписаны из стационара с повышением уровня печеночных трансаминаз не выше двух норм, 3,6 % – с протеинурией легкой степени (менее 1 г/л), в 2,9 % – с лейкоцитурией (до 12 лейкоцитов в поле зрения).

Средний койко-день составлял ($8,9 \pm 0,2$) дней (3–17 дней), при этом 5,1 % больных после улучшения самочувствия самовольно покинули стационар на 3–5 день пребывания, не дождавшись дня выписки.

3.4 Первый клинический случай клещевого риккетсиоза, вызванного *Rickettsia heilongjiangensis* в Алтайском крае

Клиническая картина риккетсиоза, вызванного *R. heilongjiangensis*, во многом сходна с клинической картиной СКТ. Поскольку в Алтайском крае в 2014 году зафиксирован первый и единственный случай клещевого риккетсиоза, вызванного *R. heilongjiangensis*, ниже дано более подробное описание этого случая.

Больной К., 34 лет поступил в инфекционный стационар 09.05.2013 года с жалобами на общую слабость, снижение трудоспособности, озноб, чувство жара, повышенную потливость, першение в горле, отсутствие аппетита, нарушение сна, артралгии в коленных суставах, наличие сыпи по всему телу.

Из анамнеза заболевания известно, что заболел остро, за 4 дня до поступления в стационар, с повышения температуры до $39,5^{\circ}\text{C}$. На фоне

лихорадки больной отмечал озноб, сменяющийся чувством жара, артралгии крупных суставов, першение в горле, потливость, снижение аппетита. На уровне $39,5^{\circ}\text{C}$ температура держалась в течение 3 дней. Суточные колебания температуры не превышали 1 градуса. В этот же период в области задней поверхности левого плеча пациент отметил наличие участка покраснения с плотной корочкой, который больного не беспокоил. На 3 день заболевания появилась сыпь на верхних и нижних конечностях с распространением в течение суток на туловище. Больной за медицинской помощью не обращался, самостоятельно принимал жаропонижающие препараты, самочувствие не улучшалось.

Эпидемиологический анамнез: больной проживает в городской благоустроенной квартире. Постоянного места работы нет. За девять дней до начала болезни отдыхал на берегу реки Лосиха в окрестностях села Санниково, Первомайского района Алтайского края. Факт присасывания клеща больной отрицает. Домашних животных нет. Специфическая профилактика клещевого энцефалита не проводилась.

Анамнез жизни: родился и проживает в Алтайском крае. Страдает хроническим тонзиллитом.

При поступлении в стационар состояние больного средней степени тяжести, температура тела составляла $38,3^{\circ}\text{C}$. Сознание ясное, адинамичен. Питание удовлетворительное, телосложение нормостеническое. Менингеальных знаков и очаговой симптоматики не отмечено. Лицо одутловато, гиперемировано. На коже туловища и конечностей, исключая ладони и подошвы, обильная розеолезно-папулезная сыпь без тенденции к слиянию и сгущению, которая субъективно не беспокоила больного. В области задней поверхности левого предплечья определялся первичный аффект в виде воспалительного инфильтрата, покрытого корочкой, которая плотно прилегала к подлежащей ткани и была окружена узким венчиком гиперемии. Периферические лимфатические узлы при пальпации не были увеличены, безболезненны. Слизистая ротоглотки умеренно гиперемирована. Патологии со стороны органов дыхания не выявлено. Частота

дыхания 17 в минуту. Со стороны сердечно-сосудистой системы умеренная тахикардия – 84 уд/мин. Артериальное давление – 120/80 мм рт. ст. Язык влажный, обложен белым налетом. Живот был доступен для пальпации во всех отделах, безболезненный. Печень по краю реберной дуги, безболезненная. Селезенка интактна. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон, мочеиспускание не нарушено. Стул оформлен, окрашен.

Со стороны периферической крови определялся нормоцитоз, тромбоцитопения ($106 \times 10^9/\text{л}$), моноцитоз (до 15 %). СОЭ составляла 14 мм/ч. В клиническом анализе мочи отклонений не выявлено. В биохимическом анализе крови отмечено повышение уровня сывороточных трансаминаз (АлАТ – 117 Ед/л, АсАТ – 95 Ед/л).

На основании клинико-эпидемиологических данных, больному был выставлен предварительный диагноз «Сибирский клещевой тиф».

Первая сыворотка крови пациента исследована с помощью ПЦР в реальном времени. В исследуемом образце обнаружена ДНК *R. heilongjiangensis*.

На основании полученных лабораторных, данных больному был выставлен клинический диагноз «Клещевой риккетсиоз, вызванных *R. heilongjiangensis*, средней степени тяжести».

На фоне проводимой антибактериальной (доксциклин по 0,2 г/сут), дезинтоксикационной терапии наблюдался регресс симптоматики: исчезновение астенизации, артралгии, высыпаний, нормализация сна и аппетита. Сыпь исчезла через 6 дней от момента появления. На месте первичного аффекта после выписки из стационара сохранялась точечная гиперемия. Больной выписан на 8 день нормальной температуры. Показатели общеклинического анализа крови и мочи, биохимического анализа крови на момент выписки были в пределах нормы. В дальнейшем в медицинские учреждения по поводу перенесенного заболевания не обращался.



Рисунок 8 – Сыпь на коже туловища у больного К.

Таким образом, впервые в Алтайском крае с использованием молекулярно-биологических методов исследования верифицирован случай заболевания клещевого риккетсиоза, вызванного *R. heilongjiangensis*, которая наряду с *R. sibirica* может являться этиологическим агентом КР на территории края.

РЕЗЮМЕ

Лидирующее место среди инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в Алтайском крае занимает клещевой риккетсиоз с этиологическим агентом *R. sibirica*– сибирский клещевой тиф (64,8 %). Сибирский клещевой тиф, в преобладающем большинстве случаев, протекал в типичной форме (99,3 %) с наличием симптомов лихорадочно-интоксикационного синдрома и характерной экзантемы, а также у 87,7 % на месте присасывания клеща обнаруживался первичный аффект, в 37,0 % сопровождавшийся увеличением регионарных лимфатических узлов. Гепатит у пациентов был лабораторно обнаружен на $(4,7 \pm 0,2)$ день болезни и характеризовался повышением активности трансаминаз печени: у 42,8 % больных – от 42 Ед/л до 315 Ед/л для АлАТ и у 52,9 % – от 32 Ед/л до 431 Ед/л – для АсАТ.

Наряду с типичной формой СКТ протекал и в атипичной форме (0,7 % случаев) без характерной сыпи, но с наличием первичного аффекта на месте присасывания клеща и регионарным лимфаденитом. В этом случае диагностика заболевания на основании клинико-эпидемиологических данных была затруднена, и диагноз был подтвержден методом ПЦР.

Сравнительное изучение информативности двух современных лабораторных методов диагностики – ИФА и ПЦР показало, что с наибольшей частотой (90,0 %) подтверждало клинический диагноз КР серологическое исследование (ИФА). При этом исследование парных сывороток, забранных с интервалом 7–10 дней, позволило повысить выявляемость антител класса IgM на 55,6 %.

Низкая эффективность метода ПЦР при выявлении ДНК риккетсий в сыворотке крови (11,8 %) и в цельной крови (5,5 %), возможность обнаружения возбудителя только в первой сыворотке, забранной до начала этиотропной терапии, не позволяет рекомендовать этот метод в качестве рутинной диагностики КР.

Диагностическая значимость ПЦР при выявлении ДНК риккетсий в кожных биоптатах составила 81,5 %. Наличие достоверных различий частоты положительных результатов при исследовании методом ПЦР биоптата с места первичного аффекта и первой сыворотки крови ($p < 0,05$) свидетельствует о высокой диагностической значимости метода ПЦР при исследовании биоптатов с места первичного аффекта, даже на фоне проведения этиотропной терапии на $(8,0 \pm 0,3)$ день болезни.

Впервые установлено, что клещевой риккетсиоз на территории Алтайского края может быть вызван двумя видами риккетсий – *Rickettsia sibirica sensu stricto* и *Rickettsia heilongjiangensis*. При этом, с учетом сходства клинического течения данных риккетсиозов, диагноз риккетсиоза, вызванного *R. heilongjiangensis*, был подтвержден только при использовании молекулярно-генетических методов исследования (ПЦР с последующим типизирующим секвенированием полученных ампликонов риккетсий).

ГЛАВА 4 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА У ЖИТЕЛЕЙ АЛТАЙСКОГО КРАЯ

4.1 Особенности лабораторной диагностики иксодового клещевого боррелиоза

В период с 2013 по 2016 год под наблюдением находилось 46 пациентов с иксодовым клещевым боррелиозом, в т. ч. 10 человек с безэритемной формой (21,7 %), и у 36 человек на теле обнаруживалась характерная эритема (78,3 %).

Выявление ДНК боррелий в сыворотках крови больных осуществлялось методом ПЦР в режиме реального времени с помощью набора реагентов «АмплиСенс ТБЕV, *B. burgdorferis*l, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis* / *E. muris*-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии). Исследования сывороток у всех больных дали отрицательные результаты, что не противоречит литературным данным о низкой чувствительности ПЦР при исследовании данного биологического материала [153; 231].

С учетом наличия безэритемных форм заболевания, установление диагноза ИКБ только на основании клинико-эпидемиологических данных представляет определенные трудности и требует обследования пациентов серологическими методами.

Серологическое обследование пациентов включало в себя исследование парных сывороток, забранных в первый день поступления больных в стационар и в дальнейшем в динамике – через 7–10 дней, методом иммуночипов с использованием диагностической системы «ИммуноЧип Боррелиоз» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Данный метод позволяет выявлять антитела класса IgM и IgG к различным антигенам боррелий.

У 10 человек (21,7 %) диагноз ИКБ установлен на основании данных клинико-эпидемиологического обследования (присасывание и\или наползание клеща, наличие на теле характерной эритемы – патогномоничного симптома

заболевания). В этих случаях парные сыворотки крови были забраны также в первый день поступления пациентов в стационар, что соответствовало ($2,0 \pm 0,3$) дню болезни и в динамике на 7–10 день стационарного лечения ($9,6 \pm 0,5$) день болезни).

У 36 человек (78,3 %) диагноз подтвержден серологически – определением антител класса IgM к различным антигенам боррелий: в парных сыворотках крови – у 25 человек (69,4 %) и у 11 человек (30,6 %) – только во второй сыворотке. У пациентов, у которых антитела класса IgM определялись уже в первой сыворотке, она была забрана на ($8,1 \pm 1,1$) день болезни (т. е. на второй неделе заболевания). При отсутствии антител класса IgM в первой сыворотке крови, но наличии их во второй сыворотке, первая сыворотка была забрана на первой неделе заболевания ($2,6 \pm 0,3$) день болезни ($p < 0,05$). Вторая сыворотка крови у больных с серологическим подтверждением диагноза была забрана на ($21,4 \pm 1,4$) день болезни (т. е. в конце третьей недели заболевания), что достоверно позже, чем у пациентов без серологического подтверждения диагноза ($9,6 \pm 0,5$) день болезни), ($p < 0,05$). Это обусловлено длительностью пребывания больных в стационаре.

Таким образом, серологическая диагностика ИКБ с определением антител к различным антигенам боррелий методом иммуночипов эффективна, при заборе биологического материала со второй недели болезни. При соблюдении этого условия метод парных сывороток позволяет повысить выявляемость IgM на 30,6 %. Наибольшая частота положительных результатов наблюдается в конце третьей недели болезни ($21,4 \pm 1,4$) день болезни).

4.2 Клинико-лабораторная характеристика иксодового клещевого боррелиоза у жителей Алтайского края

Диагноз «Иксодовый клещевой боррелиоз» на этапе оказания первичной медико-санитарной медицинской помощи в амбулаторных условиях (поликлиника по месту проживания больного) поставлен 31 пациенту (67,4 %), в

остальных 32,6 % случаев – диагноз других инфекционных заболеваний. В направлениях в инфекционное отделение у таких больных фигурировали следующие диагнозы: «Сибирский клещевой тиф» (4 больных), «Клещевой энцефалит» (2) «Реакция на укус клеща» (3), «Острое кишечное заболевание» (2), «Острое респираторное заболевание» (1), «Вирусный гепатит» (1), «Лихорадка неясного генеза» (2).

Ошибки в постановке диагноза вне инфекционного стационара, по-видимому, были связаны с отсутствием указания на присасывание клеща и эритемы или с недостаточно тщательным осмотром пациентов. В приемном покое после тщательного сбора анамнеза, проведения обследования и обнаружения патогномичного признака – эритемы диаметром более 3 см, больным был выставлен диагноз «Иксодовый клещевой боррелиоз». В случае отсутствия этого признака диагноз подтверждался лабораторно.

На стационарное лечение больные поступали на $(5,4 \pm 0,7)$ день от начала заболевания. Чаще на 1–4 дни болезни (66,0 %). Сроки поступления больных в стационар от момента начала заболевания представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Сроки поступления больных иксодовым клещевым боррелиозом в стационар от момента начала заболевания (2013–2016 гг.)

ДНИ	1–2	3–4	5–6	7–8	9–10	11–12	13–14	15–17	Позднее 17 дней	Всего
Абс.	12	18	6	0	4	1	2	2	1	46
%	26,1	39,0	13,0	0	8,7	2,2	4,4	4,4	2,2	100,0

На рисунке 9 отражена сезонность госпитализации больных иксодовым клещевым боррелиозом в стационар.

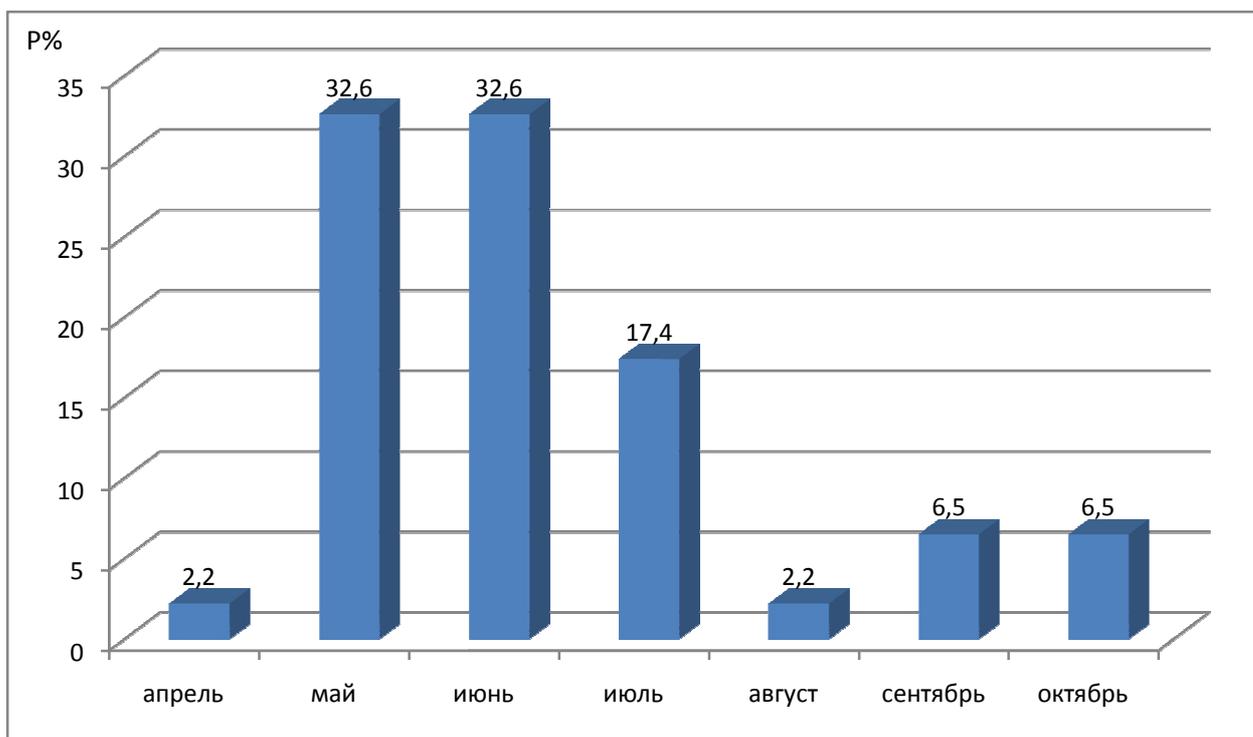


Рисунок 9 – Сезонность госпитализации больных иксодовым клещевым боррелиозом в стационар, р % (2013–2016 гг.)

Наибольшее количество пациентов поступало на стационарное лечение в мае-июне. Второй, менее выраженный, пик поступления больных в стационар регистрировался в сентябре-октябре.

Среди заболевших преобладали мужчины – 58,7 %, что может свидетельствовать об их более частом пребывании в природных очагах во время охоты, рыбалки, на сезонных работах. Женщины составляли 41,3 %.

Возраст заболевших – от 18 до 85 лет ($47,2 \pm 2,4$ лет). Распределение пациентов по полу и возрасту представлено на рисунке 10.

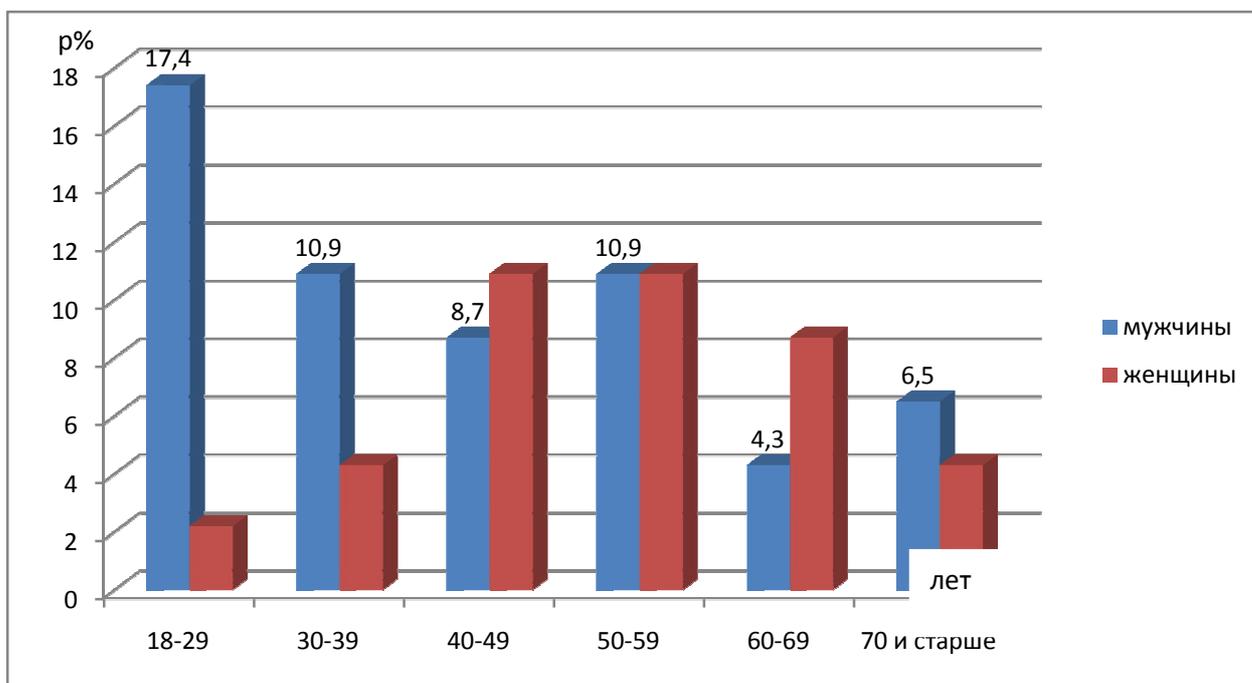


Рисунок 10 – Распределение больных иксодовым клещевым боррелиозом по полу и возрасту (2013–2016 гг.)

Наиболее многочисленную группу составляли пациенты в возрасте от 18 до 29 лет и от 50 до 59 лет (более 20 %). Наименее часто заболевали лица в возрасте 70 лет и старше (10,9 %). В большинстве возрастных групп преобладали мужчины.

Распределение больных по социальному признаку показано в таблице 9.

Таблица 9 – Распределение больных иксодовым клещевым боррелиозом по социальному признаку (2013–2016 гг.)

Социальное положение	Студенты	Работающие	Неработающие	Пенсионеры	Всего
Абс	1	27	7	11	46
%	2,2	58,7	15,2	23,9	100,0

Как видно из таблицы 9, более половины заболевших – работающие люди (58,7 %).

Городские жители составляли 91,3 % от всех заболевших, только 4 человека (8,7 %) проживали в сельской местности.

При сборе эпидемиологического анамнеза 38 (82,6 %) больных указывали на присасывание одного или нескольких клещей, а 8 (17,4 %) пациентов не отмечали присасывания. При этом, у 6 (75,0 %) из них обнаруживалась характерная эритема. Установлено, что 23,7 % больных, отмечавших присасывание клеща, подверглись его нападению на территории г. Барнаула и в его пригороде, в 60,5 % случаев – на территории различных районов Алтайского края (Первомайский, Павловский, Калманский, Заринский, Тальменский и др.). 13,2 % человек – на территории Республики Алтай и 2,6 % – на территории Новосибирской области.

В большинстве случаев заболевшие отмечали присасывание клеща во время пребывания на отдыхе – 43,5 %. Несколько реже (23,9 %) – на дачном участке. В 10,9 % случаях пациенты выполняли сезонные сельскохозяйственные работы, либо (10,9 %) совершали прогулки по г. Барнаулу (аллеи, парки), 6,5 % – осуществляли хозяйственные работы в селе (работа на приусадебном участке, уход за домашними животными), 4,3 % больных снимали с себя клеща после рыбалки.

Чаще всего, заболевшие удаляли присосавшегося клеща с туловища – 42,1 %, несколько реже – с областей естественных складок (паховая и подмышечная области) – 26,3 %, 15,8 % – с нижних конечностей и 13,2 % – с верхних конечностей.

На основании эпидемиологического анамнеза из 38 больных (82,6 %), отметивших присасывание клеща, инкубационный период достоверно удалось установить у 37 (80,4 %) человек. Невозможность установить инкубационный период в одном случае связано с длительным пребыванием на территории природного очага и неоднократным присасыванием клеща. У остальных 8 (17,4 %) пациентов не удалось достоверно определить инкубационный период заболевания ввиду отрицания ими присасывания клеща.

Инкубационный период составлял $(11,0 \pm 0,9)$ дней. При этом

максимальный инкубационный период был равен 30 дням, минимальный – 3 дням. Наиболее часто инкубационный период составлял 8–12 дней (39,5 %). Сроки инкубационного периода у больных ИКБ представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Сроки инкубационного периода у больных иксодовым клещевым боррелиозом (2013–2016 гг.)

Дни	1–4	5–8	9–12	13–16	17–20	21–24	25–28	29–30	Всего
Абс.	3	10	12	8	2	1	0	1	37
%	8,1	27,0	32,5	21,6	5,4	2,7	0	2,7	100,0

Острое начало заболевания с повышения температуры до субфебрильных и фебрильных цифр отмечено у 73,9 % пациентов, постепенное начало с общей слабости, недомогания, головной боли, снижения аппетита в течение 1–2 дней – у 10,9 %.

У 24 заболевших (52,2 %) температура повышалась до субфебрильных цифр, у 12 человек – до фебрильных, у 3 пациентов (6,5 %) температура тела была пиретической, но не превышала 39,2 °С. В 7 случаях (15,2 %) пациенты не отмечали нарушения общего самочувствия, и температура тела оставалась в пределах нормы.

Измерение температуры тела заболевших в динамике позволило выделить два типа температурных кривых. Постоянный тип температурной кривой (*febris continua*) с суточными колебаниями в пределах одного градуса встречался в большинстве случаев (92,3 % от общего числа больных с лихорадкой), в то время как послабляющая лихорадка (*febris remittens*) отмечена у 7,7 % пациентов с указанием на повышение температуры тела. Длительность лихорадки составляла от 1 до 20 дней ($6,8 \pm 0,8$ дня).

Снижение температуры в большинстве случаев происходило критически, либо по типу короткого лизиса и в 15,2 % случаев сопровождалось выраженной потливостью.

При опросе наиболее часто больные жаловались на общую слабость

(78,3 %). Вовлечение в процесс нервной системы характеризовалось жалобами на головную боль (50,0 %), головокружение (13,0 %) в начальном периоде и периоде разгара. Чаще всего головная боль носила разлитой – без определенной локализации – характер (26,1 %), несколько реже локализовалась в височной (15,2 %) и лобной областях (8,7 %). Нарушение сна в виде бессонницы либо прерывистого сна с частыми пробуждениями отмечено у 15,2 % заболевших.

В периоде разгара заболевания у большинства пациентов доминировали симптомы лихорадочно-интоксикационного синдрома. Так в 58,7 % случаев пациенты жаловались на озноб, сменяющийся в 34,8 % чувством жара. Нарушение аппетита (снижение, либо его отсутствие) отмечалось в 32,6 % случаев. Миалгии, преимущественно в области поясничных и икроножных мышц, отмечали 28,3 % больных. Артралгии, локализованные в области крупных суставов (коленных, локтевых, голеностопных), наблюдались у 26,1 % пациентов. Однако признаков поражения суставов: изменения кожи над ними, ограничение движения не было выявлено. На фоне лихорадки у 5 пациентов (10,9 %) отмечена вялость. В первые дни заболевания на высоте лихорадки 10,9 % больных отмечали тошноту в течение 1–2 дней, которая у 6,5 % сопровождалась однократной рвотой.

У 2,2 % заболевших имели место жалобы на першение в горле и в 2,2 % пациентов беспокоил насморк. При объективном осмотре у двух пациентов на высоте лихорадки отмечены изменения цвета кожных покровов в виде бледности.

Наиболее постоянными признаками заболевания являлись эритема и лимфаденит регионарных лимфатических узлов. Эритема более 5 см в диаметре встречалась в 78,3 %. В одном случае наблюдалось 2 эритемы и в одном случае – 3 эритемы. Первичный аффект в этих случаях был в месте одной из эритем.

Средний размер эритемы составлял $(97,2 \pm 7,8)$ мм. Наибольший размер – 250 мм. Чаще всего эритема располагалась в области туловища – 38,9 %, в области естественных складок: паховая область – 19,4 %, подмышечная – в 5,6 % случаев. На нижних конечностях – 19,4 %, на верхних – 13,9 %, в одном случае эритема локализовалась в области волосистой части головы. Частота локализации эритемы

совпадала с частотой удаления пациентами присосавшихся клещей с различных частей тела. Длительность эритемы удалось установить только у тех пациентов, которые могли указать день ее появления. Так наличие эритемы определялось в течение 7–23 дней, в среднем – $(14,8 \pm 0,9)$ дней. Эритема исчезала полностью до выписки из стационара у 47,2 % больных. У остальных больных (31,1 %) эритема исчезала уже после выписки из стационара.

У 78,3 % больных клещевой боррелиоз протекал в эритемной форме и в 21,7 % – в безэритемной форме.

Регионарный лимфаденит отмечен в 23,9 % от общего числа заболевших и в 30,5 % случаев больных, имевших эритему. Лимфатические узлы не были спаяны между собой и с окружающими тканями, не превышали в размерах 2 см, кожа над ними была не изменена. Длительность регионарного лимфаденита также удалось установить только в тех случаях, когда пациенты сами отмечали появление лимфатических узлов, и в дальнейшем они переставали пальпироваться в стационаре – 81,8 %. Регионарный лимфаденит длился от 7 до 23 дней, в среднем $(14,8 \pm 0,9)$ дней.

При объективном осмотре у 82,6 % больных язык был умеренно обложен белым налетом. Гиперемия зева выявлена у 8,7 % заболевших. Аускультативно у всех пациентов выслушивалось везикулярное дыхание.

Со стороны сердечно-сосудистой системы в 58,7 % случаев в разгар заболевания определялась тахикардия, относительная брадикардия – в 21,7 %. У большинства заболевших артериальное давление оставалось в пределах нормы (65,3 %), у 21,7 % отмечалась гипертония (от 140/90 до 180/100 мм рт. ст.), в том числе у 80,0 % на фоне имеющейся гипертонической болезни, в 13,0 % имела место гипотония (90/60–100/60 мм рт. ст.).

В таблице 11 представлены частота встречаемости клинических симптомов и их продолжительность.

Таблица 11 – Частота встречаемости и длительность клинических симптомов у больных иксодовым клещевым боррелиозом (2013–2016 гг.)

Клинический симптом	Частота встречаемости (n = 46)		
	Абс.	%	Длительность (в днях)
Общая слабость	36	78,3	7,8 ± 1,1
Эритема	36	78,3	14,7 ± 0,9
Озноб	27	58,7	5,4 ± 1,1
Головная боль	23	50,0	4,6 ± 0,7
Жар	16	34,8	3,8 ± 0,6
Снижение/отсутствие аппетита	15	32,6	4,4 ± 0,7
Миалгии	13	28,3	6,2 ± 1,2
Артралгии	12	26,1	6,7 ± 1,1
Регионарный лимфаденит	11	23,9	11,1 ± 1,3
Потливость	7	15,2	4,6 ± 0,9
Нарушение сна	7	15,2	4,9 ± 1,2
Головокружение	6	13,0	6,2 ± 2,9
Тошнота	5	10,9	1,4 ± 0,2
Рвота	3	6,5	1,0 ± 0
Кашель	1	2,2	3,0 ± 0
Насморк	1	2,2	3,0 ± 0
Першение в горле	1	2,2	3,0 ± 0

При поступлении в стационар в общем анализе крови лейкоцитоз выявлен у 6,5 % больных, тромбоцитопения – у 17,4 % пациентов. Отклонение от нормы в виде понижения уровня гемоглобина от 89 до 119 г/л отмечено у 17,4 % заболевших.

Относительная лимфопения наблюдалась у 21,7 % больных, лимфоцитоз – у 10,9 %, моноцитоз – у 43,5 %. Повышение СОЭ отмечалось более чем у половины больных – 58,7 %.

На фоне лихорадки в общем анализе мочи у 21,7 % встречалась лейкоцитурия. Умеренная протеинурия определялась в 28,3 % случаев.

Изменения в показателях биохимического анализа крови в виде увеличения

активности сывороточных трансаминаз выявлены в 20,7 % для АлАТ (от 49 до 126 Ед/л) и в стольких же процентах для АсАТ (от 44 до 120 Ед/л). Вирусные гепатиты в этих случаях исключались на основании отрицательных серологических исследований крови на маркеры вирусных гепатитов А, В и С.

Все лабораторные изменения носили преходящий характер и отмечались на фоне лихорадки в периоде разгара заболевания.

Таблица 12 – Лабораторные показатели у больных иксодовым клещевым боррелиозом (2013–2016 гг.)

Признак	Частота встречаемости (n = 46)	
	Абс.	%
Повышение СОЭ (более для мужчин 2–10 мм/ч, для женщин 2–15 мм/ч)	27	58,7
Моноцитоз (более 9 %)	20	43,5
Относительная лимфопения (менее 20,0 %)	10	21,7
Нейтрофилез (палочкоядерные нейтрофилы более 5 %)	10	21,7
Тромбоцитопения (менее $160 \times 10^9/\text{л}$)	8	17,4
Снижение гемоглобина (менее 120 г/л)	8	17,4
Относительный лимфоцитоз (более 40,0 %)	5	10,9
Лейкоцитоз (более $9,0 \times 10^9/\text{л}$)	3	6,5
Биохимический анализ крови		
Повышение активности АлАТ (более 40 Ед/л)	6	20,7
Повышение активности АсАТ (более 31 Ед/л)	6	20,7
Общий анализ мочи		
Протеинурия (более 0,033 г/л)	13	28,3
Лейкоцитурия (более 3 лейкоцитов в поле зрения для мужчин и 6 лейкоцитов в поле зрения для женщин)	10	21,7

У всех больных была определена степень тяжести заболевания согласно алгоритма [48]. Ее критерии представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Критерии степени тяжести у больных иксодовым клещевым боррелиозом

Степень тяжести	Критерии
Тяжелая	Резко выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела выше 39 °С, признаки менингита, нарушение проводимости сердца, выраженные признаки миокардита.
Среднетяжелая	Умеренно выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела 38–39 °С.
Легкая	Нерезко выраженные симптомы общей интоксикации, отсутствуют признаки поражения сердца, суставов и нервной системы. Повышение температуры тела до 38 °С.

При эритемной форме в большинстве случаев заболевание протекало в легкой – 69,4 %, в остальных случаях (30,6 %) – в среднетяжелой форме. При безэритемной форме в 80,0 % – в среднетяжелой форме, только у 2 больных (20,0 %) отмечена легкая форма заболевания. Тяжелой формы ИКБ у больных в Алтайском крае не выявлено.

В стационаре всем пациентам проводилась комплексная терапия, направленная на элиминацию возбудителя и купирование симптомов заболевания. В качестве этиотропной терапии все пациенты получали препараты группы тетрациклинов: в 8,7 % назначался тетрациклин и 91,3 % – доксициклин. Антибиотики назначались в среднетерапевтических дозах: тетрациклин – 1,2 г/сут, доксициклин – по 0,2 г/сут. Курс лечения составлял $(11,4 \pm 0,6)$ дней. Курс антибиотикотерапии менее 10 дней в условиях стационара в 23,9 % случаев был обусловлен самовольным уходом пациентов из отделения.

Температура тела нормализовалась на $(3,9 \pm 0,3)$ день после назначения антибактериальной терапии (от 1 до 10 дней). Антибиотики до поступления в стационар (самостоятельно или по назначению врача поликлиники) принимали 10,9 % заболевших. Из них 6,5 % – тетрациклин и 4,4 % – ципрофлоксацин.

В 41,3 % случаев при среднетяжелой форме болезни пациентам проводилась дезинтоксикационная терапия путем внутривенного введения глюкозо-солевых

растворов в объеме от 500,0 мл до 1 000,0 мл.

В периоде реконвалесценции все пациенты отмечали улучшение общего самочувствия и исчезновение основных симптомов заболевания. У 41,7 % больных эритемной формой клещевого боррелиоза эритема уменьшилась в размерах и имела бледно-розовую окраску, однако полностью кожные проявления исчезали уже после выписки из стационара. Во всех случаях заболевание закончилось выздоровлением.

Койко-день составил ($13,0 \pm 0,7$) дней.

РЕЗЮМЕ

По частоте встречаемости ИКБ занимает второе место (21,6 %) среди клещевых природно-очаговых инфекций в Алтайском крае и протекает как в эритемной (78,3 %), так и в безэритемной формах (21,7 %).

Частота ошибочных предварительных диагнозов на догоспитальном этапе при его диагностике составила 32,6 % от общего числа всех больных с ИКБ и 100,0 % от больных с безэритемной формой заболевания.

Клиническая картина ИКБ характеризовалась лихорадочно-интоксикационным синдромом (84,8 %), наличием на теле эритемы (78,3 %) в диаметре ($97,2 \pm 7,8$) мм и регионарным лимфаденитом (23,9 %). Изменения в показателях биохимического анализа крови характеризовались увеличением активности сывороточных трансаминаз в 20,7 % для АлАТ (от 49 до 126 Ед/л) и в стольких же процентах для АсАТ (от 44 до 120 Ед/л).

При эритемной форме иксодового клещевого боррелиоза в Алтайском крае преобладают легкие формы болезни (69,4 %), в то время как при безэритемной форме – среднетяжелые (80,0 %). Тяжелых форм заболевания зафиксировано не было.

У 78,3 % пациентов диагноз ИКБ был подтвержден определением антител класса IgM на иммуночипах. Исследование парных сывороток позволило повысить выявляемость IgM на 30,6 %. При этом у пациентов, у которых антитела класса IgM определялись уже в первой сыворотке, она была забрана достоверно позже (на $(8,1 \pm 1,1)$ день болезни), чем у пациентов без серологического

подтверждения диагноза (на $(2,0 \pm 0,3)$ день болезни). Во всех случаях ИКБ, в сыворотке, забранной в конце третьей недели болезни ($21,4 \pm 1,4$ день болезни) были обнаружены специфические антитела класса Ig M к боррелиям.

Ни у одного из пациентов с серологически подтвержденным диагнозом ИКБ методом ПЦР в режиме реального времени в сыворотке крови не была обнаружена ДНК боррелий.

ГЛАВА 5 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКСТ-ИНФЕКЦИЙ И ДРУГИХ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ У ЖИТЕЛЕЙ АЛТАЙСКОГО КРАЯ

5.1 Клинико-лабораторная характеристика клещевых микст-инфекций у жителей Алтайского края

За период выполнения работы под наблюдением находилось 23 пациента (10,8 %) с клещевыми микст-инфекциями. Во всех случаях диагноз был подтвержден с использованием лабораторных методов (обнаружение в сыворотке крови антител класса IgM к возбудителям клещевого энцефалита, гранулоцитарного анаплазмоза человека, риккетсиям группы КПЛ методом ИФА, а также обнаружением ДНК риккетсий в биоптате, сыворотке крови или в цельной крови и выявлением антител класса IgM к боррелиям методом иммуночипов). При этом в 91,3 % диагностировалась микст-инфекция с наличием двух возбудителей (КР + ИКБ, КР + ГАЧ, КР + КЭ) и в 8,7 % – с наличием трех возбудителей (КР + ИКБ + КЭ, КР + ИКБ + ГАЧ). Все наблюдаемые случаи микст-инфекций были обусловлены сочетанием КР с другими клещевыми нозологиями, регистрируемыми на территории края. Чаще всего встречалось сочетание КР + ИКБ (73,9 %), КР + ГАЧ (13,0 %), так же в одном случае выявлено сочетание КР + КЭ.

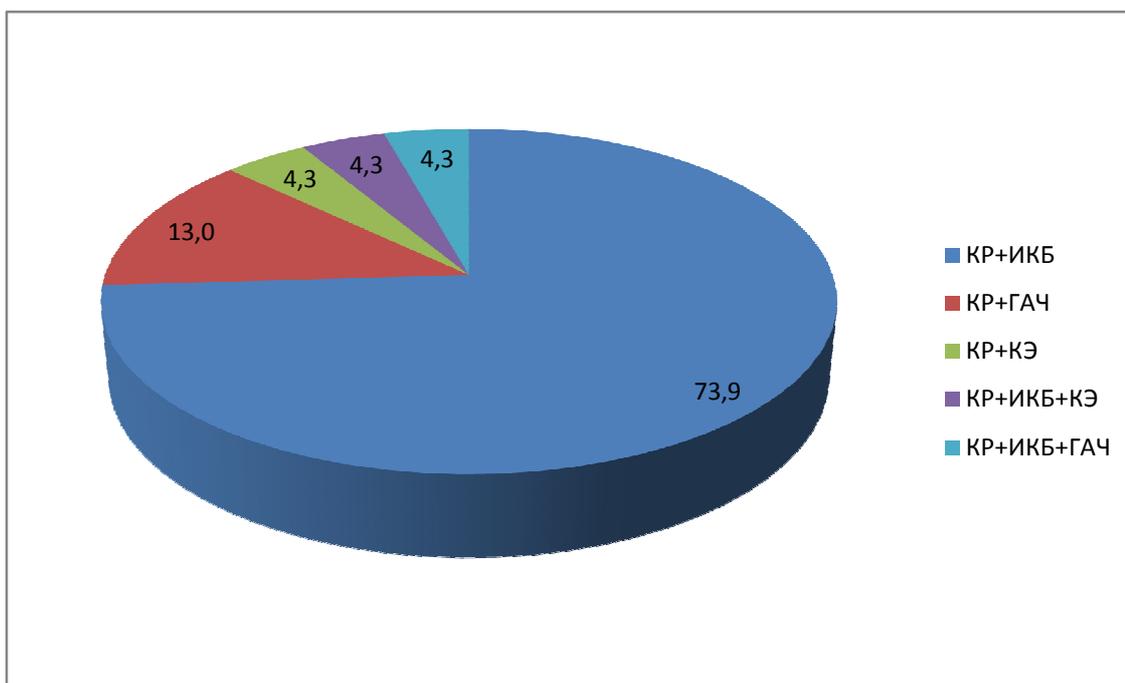


Рисунок 11 – Структура больных клещевыми микст-инфекциями, %
(2013–2016 гг.)

На этапе оказания первичной медико-санитарной медицинской помощи в амбулаторных условиях (поликлиника по месту проживания больного) данным пациентам были поставлены следующие диагнозы: «Клещевой боррелиоз» (8 человек), «Сибирский клещевой тиф» (11), «Клещевой энцефалит» (1), «Острое респираторное заболевание» (2), «Псевдотуберкулез» (1). В инфекционном стационаре пациентам были поставлены диагнозы различных клещевых инфекционных заболеваний: «Клещевой боррелиоз» (8 человек), «Сибирский клещевой тиф» (13), «Клещевой энцефалит» (1), в одном случае – «Реакция на укус клеща» (1). Ни у одного из пациентов на этапе оказания первичной медико-санитарной медицинской помощи в амбулаторных условиях и в инфекционном стационаре до проведения лабораторных методов обследования не была заподозрена микст-инфекция.

На рисунке 12 представлена сезонность госпитализации больных клещевыми микст-инфекциями в стационар.

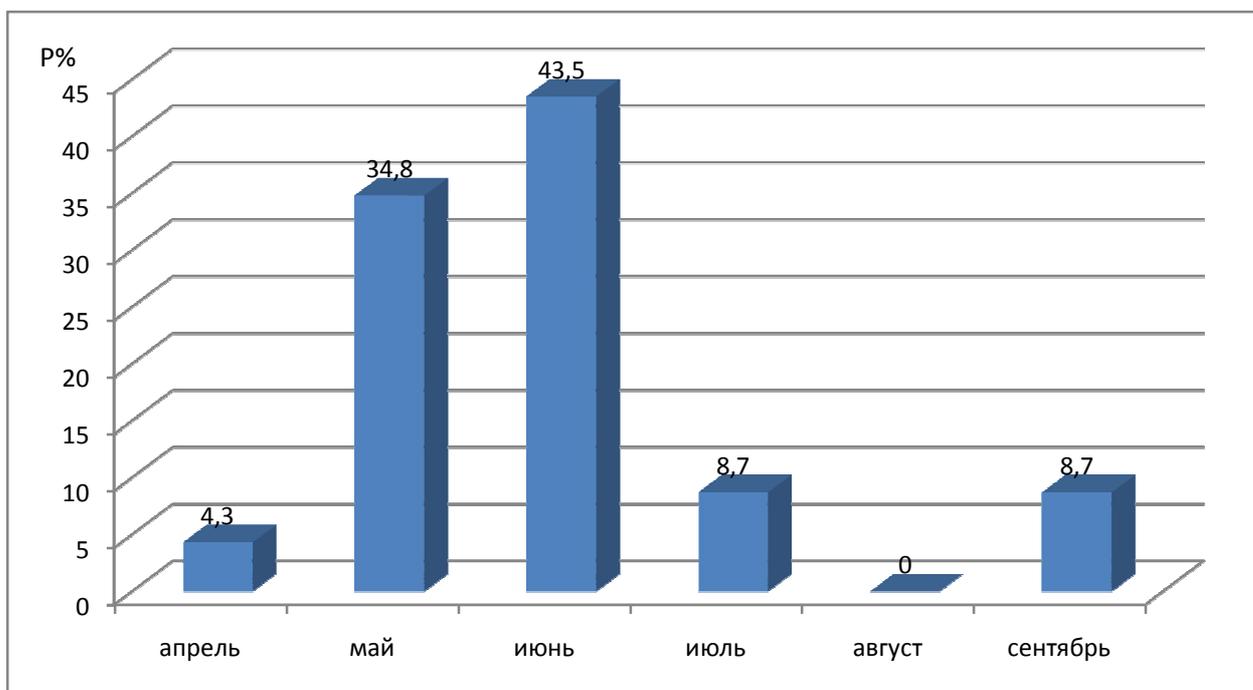


Рисунок 12 – Сезонность госпитализации больных клещевыми микст-инфекциями в стационар, р % (2013–2016 гг.)

Наибольшее количество заболевших приходилось на май-июнь (78,3 %), со снижением количества больных к июлю и последующим значительно меньшим пиком поступления больных в отделение в сентябре (8,7 %).

В таблице 14 представлены сроки поступления больных микст-инфекциями в стационар от момента начала заболевания.

Таблица 14 – Сроки поступления больных микст-инфекциями в стационар от момента начала заболевания (2013–2016 гг.)

Дни	1–2	3–4	5–6	7–8	9–10	Позднее 10 дней	Всего
Абс.	6	6	5	3	2	1	23
%	26,1	26,1	21,7	13,1	8,7	4,3	100,0

Наиболее часто больные поступали в стационар в первые 4 дня от момента начала заболевания (52,2 %).

Чаще всего микст-инфекция, как и другие клещевые инфекции, диагностировалась у мужчин (82,6 %). Возрастной состав заболевших колебался от 20 до 85 ($46,9 \pm 3,7$) лет). Распределение пациентов по полу и возрасту представлено на рисунке 13.

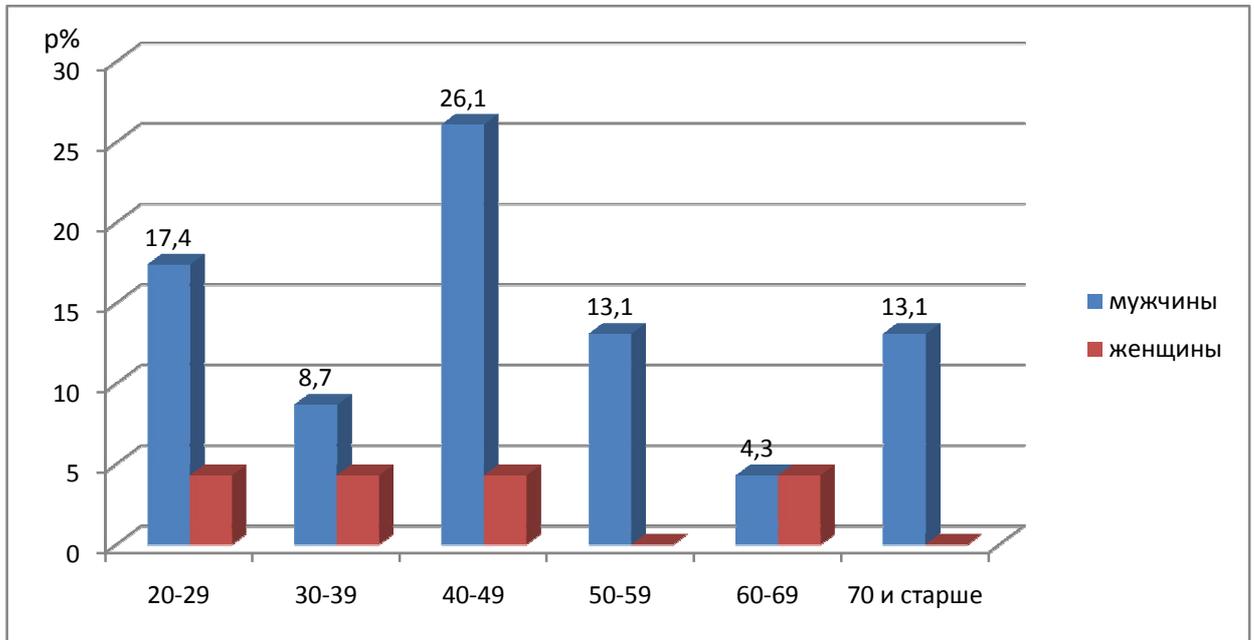


Рисунок 13 – Распределение больных клещевыми микст-инфекциями по полу и возрасту (2013–2016 гг.)

Как видно из рисунка 13, доминировали среди заболевших лица в возрасте 40–49 лет – 30,4 %, несколько реже заболевали люди 20–29 лет – 21,7 %. Во всех возрастных группах преобладали мужчины.

По социальному признаку пациенты распределялись следующим образом: работающие люди составляли 56,5 %, неработающие люди – 26,1 %, пенсионеры – 17,4 %. Городские жители составляли 73,9 %, сельские – 26,1 %.

При опросе на факт присасывания клеща указывали 17 (73,9 %) больных, при этом 6 пациентов (35,3 %) из них отмечали многократное присасывание клеща в течение одного или нескольких дней.

Заболевшие подвергались присасыванию клеща на территории различных районов Алтайского края, где они находились с целью отдыха – 13,0 %, охоты,

рыбалки, сбора грибов – 30,5 %, либо работали на приусадебном, дачном участке – 39,1 %. В двух случаях пациенты снимали с себя клеща после посещения кладбища. Два пациента (8,7 %) подверглись нападению клеща во время сезонных работ в поле.

На основании анамнеза инкубационный период достоверно был установлен у 65,2 % больных. Сроки его колебались от 3 до 21 дня ($9,9 \pm 1,2$) дней). Остальные больные указывали либо приблизительные сроки присасывания, либо многократное присасывание клеща.

В большинстве случаев заболевание начиналось остро (87,0 %) с повышения температуры и появления симптомов интоксикации. В 13,0 % случаев заболевшие отмечали продромальные явления в виде общей слабости, головной боли, отсутствия аппетита, ухудшения сна в течение 1–3 дней.

У всех больных с микст-инфекцией имело место повышение температуры тела: до субфебрильных цифр – у 39,2 % больных, у 30,4 % – до фебрильных, у 7 пациентов (30,4 %) температура тела была пиретической. Наиболее выраженная лихорадка с повышением температуры тела до 40°C отмечена при ИКБ + КР и ИКБ + КСТ + КЭ.

С целью определения особенностей клинической картины микст-инфекций, с учетом частоты встречаемости все симптомы были разделены на три группы: первая группа – «наиболее часто встречающиеся симптомы» (частота встречаемости от 100 % до 60 %), вторая группа – «часто встречающиеся симптомы» (от 59 % до 30 %), редко встречающиеся симптомы (29 % и менее).

На рисунке 14 представлена частота встречаемости клинических симптомов клещевых микст-инфекций в первой группе – «наиболее часто встречающиеся симптомы».

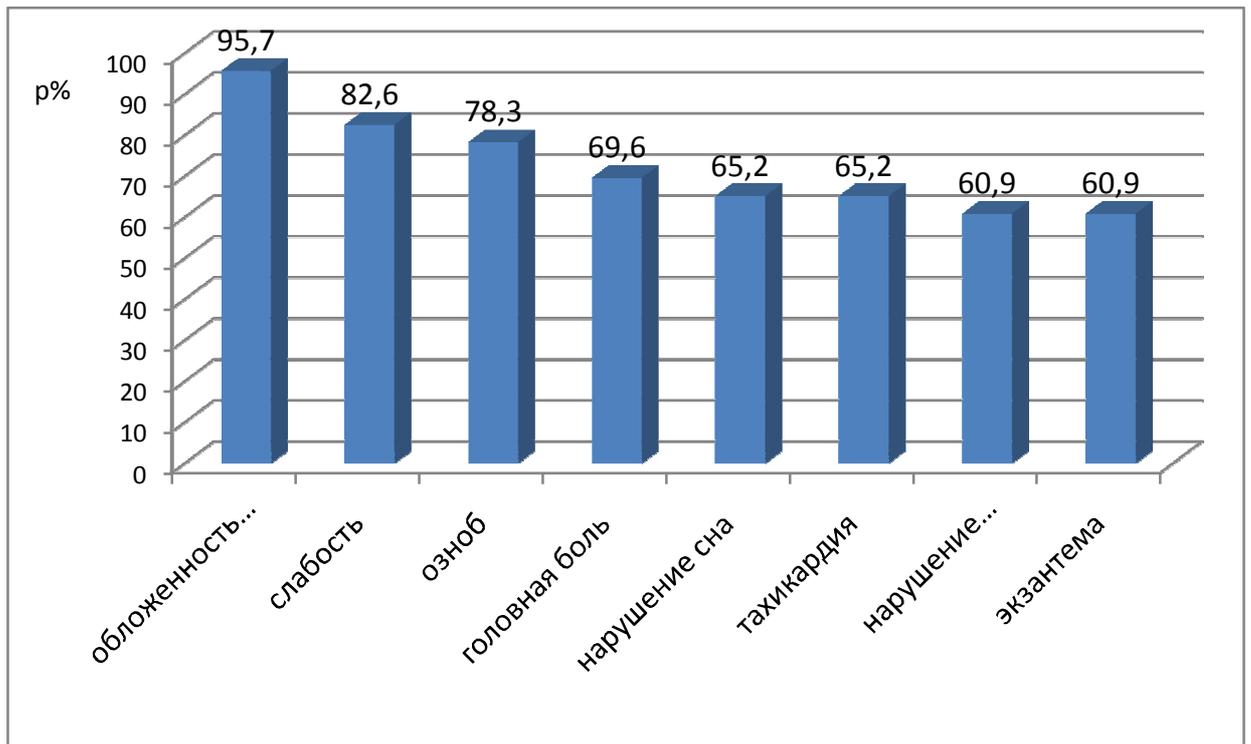


Рисунок 14 – Частота встречаемости клинических симптомов при клещевых микст-инфекциях («наиболее часто встречающиеся симптомы», p %)

Чаще всего при опросе пациенты предъявляли жалобы на общую слабость (82,6 %), озноб (78,3 %), снижение либо отсутствие аппетита (60,9 %). На вовлечение в патологический процесс нервной системы указывали распространенные жалобы больных на головную боль (69,6 %) и нарушение сна (65,2 %) в виде трудности засыпания, частого ночного пробуждения либо бессонницы.

При объективном осмотре в абсолютном большинстве случаев удавалось обнаружить обложенность языка белым, либо бело-желтым налетом (95,7 %) и экзантему (60,9 %).

В случаях микст-инфекций преобладали поражения кожных покровов, характерные для клинической картины одной из нозологий (ИКБ либо КР).

Сыпь встречалась при таких формах микст-инфекций, как КР + ИКБ, КР + КЭ, КР + ГАЧ, КР + ИКБ + КЭ. У 52,9 % пациентов с микст-инфекцией ИКБ + КР наблюдалась характерная для риккетсиозов группы КПЛ экзантема.

Экзантема появлялась не позднее 5 дня заболевания (на $(3,1 \pm 0,4)$ день болезни), была обильная, субъективно больных не беспокоила, носила розеолезно-папулезный, либо полиморфный характер с наличием пятен, розеол и папул, распространялась по всему телу и, за исключением одного случая, от нее были свободны лицо, волосистая часть головы и ладони. В ее распространении по телу пациенты не отмечали какой-либо этапности. Длительность высыпаний составляла от 4 до 13 дней ($7,6 \pm 0,7$ дней), в последующем сыпь исчезала без какого-либо следа.

Аускультативно, со стороны сердечно сосудистой системы в 65,2 % случаев на высоте лихорадки фиксировалась тахикардия с учащением ЧСС от 90 до 122 ударов в минуту.

Частота встречаемости симптомов второй группы – «часто встречающиеся симптомы» представлена на рисунке 15.

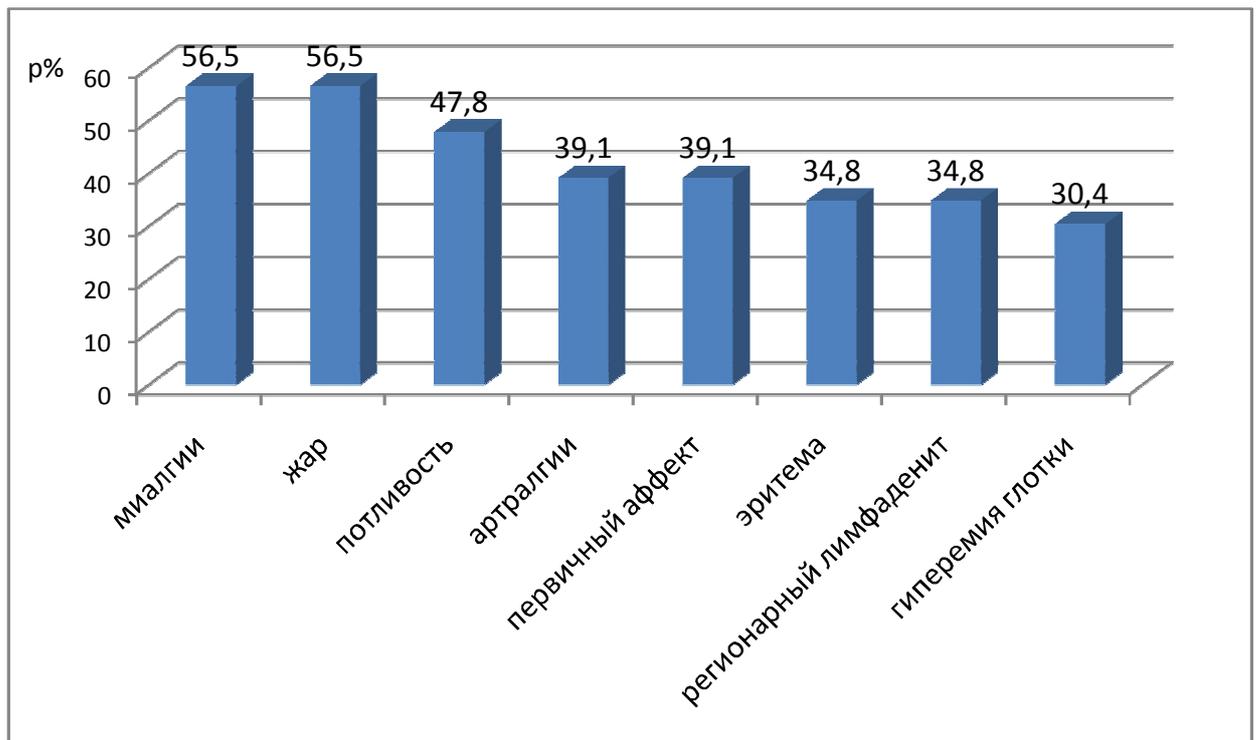


Рисунок 15 – Частота встречаемости клинических симптомов при клещевых микст-инфекциях («часто встречающиеся симптомы», p %)

Из рисунка 15 видно, что более 50 % пациентов предъявляли жалобы на чувство жара, возникающее на высоте лихорадки, боли в мышцах, преимущественно в икроножных и поясничной. 47,8 % пациентов жаловались на потливость, 39,1 % – на боли в суставах. В процесс вовлекались преимущественно коленные, плечевые и лучезапястные суставы. При этом, при объективном осмотре деформации суставов, изменения температуры тела и цвета кожи над ними не выявлено. Также при осмотре у 39,1 % заболевших обнаружен первичный аффект, который представлял собой очаг воспаления в виде участка некроза, расположенного на инфильтрированном основании, покрытый корочкой с венчиком гиперемии по краям, либо без такового. В двух случаях наблюдалось 3 первичных аффекта.

Несколько реже при осмотре кожных покровов обнаруживалась эритема (34,8 %) от 50 до 400 мм в диаметре (в среднем $(123,8 \pm 42,1)$ мм). Гиперемия носила гомогенный характер и наблюдалась в течение всего периода нахождения в стационаре, постепенно бледнея к моменту выписки. В одном случае наблюдалось 3 эритемы: 60мм, 40 мм и 20 мм в диаметре. Также у одного пациента отмечено сочетание эритемы 60 мм в диаметре и первичного аффекта в виде участка некроза с корочкой, расположенного на инфильтрированном основании. Эритема встречалась при таких микст-инфекциях, как ИКБ + КР, КР + ИКБ + ГАЧ.

При сочетании ИКБ + КР в 7 случаях (41,2 %) обнаруживалась характерная для ИКБ эритема, в одном случае при наличии верифицированного диагноза ИКБ + КР изменений со стороны кожных покровов не было, что дало основание говорить о безэритемной форме ИКБ в данном случае.

Регионарный лимфаденит имел место у 34,8 % больных. Лимфатические узлы были подвижные, эластичные, не спаянные между собой и с окружающими тканями. Их размер составлял от 1,0 до 2,5 см в диаметре. Кожа над ними была не изменена, у 37,5 % пациентов, имевших первичный аффект, лимфатические узлы были умеренно болезненные при пальпации. У 30,4 % пациентов отмечена гиперемия задней стенки глотки.

Частота встречаемости симптомов в третьей группе представлена на рисунке 16.

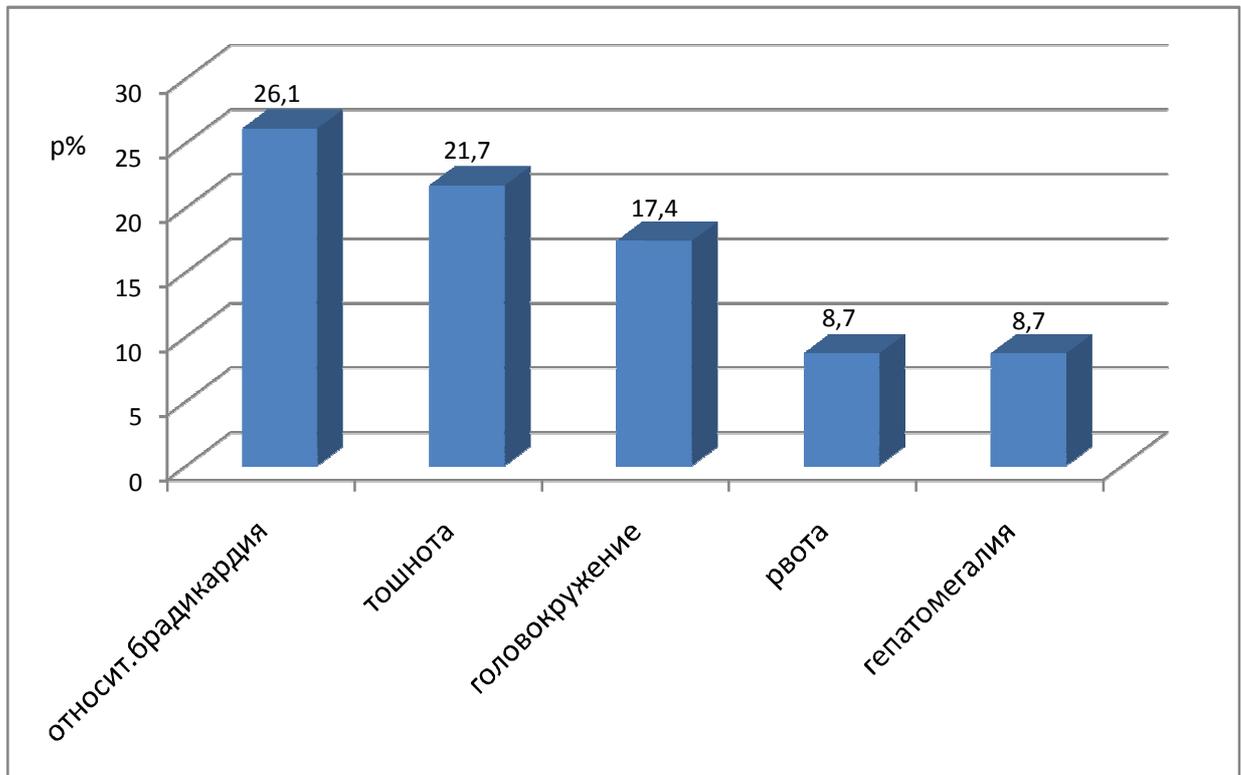


Рисунок 16 – Частота встречаемости клинических симптомов при клещевых микст-инфекциях («редко встречающиеся симптомы», p %)

В 21,7 % случаев пациенты на высоте лихорадки жаловались на тошноту, которая в 8,7 % сопровождалась рвотой. На неврологические нарушения в виде головокружения при повышении температуры тела указывали 17,4 % больных. При объективном обследовании у 26,1 % человек выявлена относительная брадикардия, в 8,7 % – гепатомегалия. Печень, как правило, выступала из-под края реберной дуги на 1–3 см, была эластичной консистенции и умеренно болезненной при пальпации.

Изменения лабораторных показателей у пациентов с микст-инфекцией представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Лабораторные показатели у больных клещевыми микст-инфекциями (2013–2016 гг.)

Признак	Частота встречаемости (n = 23)	
	Абс.	%
Повышение СОЭ (более для мужчин 2–10 мм/ч, для женщин 2–15 мм/ч)	17	73,9
Тромбоцитопения (менее $160 \times 10^9/\text{л}$)	15	65,2
Нейтрофилез (палочкоядерные нейтрофилы более 5 %)	10	43,5
Относительная лимфопения (менее 20,0 %)	5	21,7
Моноцитоз (более 9 %)	4	17,4
Лейкопения (менее $4,0 \times 10^9/\text{л}$)	3	13,0
Снижение гемоглобина (менее 120 г/л)	3	13,0
Относительный лимфоцитоз (более 40,0 %)	1	4,3
Биохимический анализ крови		
Повышение активности АсАТ (более 31 Ед/л)	15	65,2
Повышение активности АлАТ (более 40 Ед/л)	12	52,2
Общий анализ мочи		
Протеинурия (более 0,033 г/л)	12	52,2
Лейкоцитурия (более 3 лейкоцитов в поле зрения для мужчин и 6 лейкоцитов в поле зрения для женщин)	7	30,4

Как видно из таблицы 15, наиболее частыми отклонениями от нормы в общем анализе крови были повышение СОЭ и снижение количества тромбоцитов – 73,9 % и 65,2 %, соответственно. Несколько реже отмечен палочкоядерный нейтрофилез (43,5 %) и относительная лимфопения (21,7 %). Остальные гематологические изменения встречались реже, чем в 20,0 % случаев.

В биохимическом анализе крови в периоде разгара более чем в 50,0 % случаев отмечено повышение трансаминаз печени до ($89,3 \pm 33,2$) для АлАТ и до ($84,0 \pm 30,1$) для АсАТ длительностью ($11,0 \pm 1,0$) дней.

В общем анализе мочи выявлена протеинурия (52,2 %) и умеренная лейкоцитурия (30,4 %).

Все изменения лабораторных показателей были наиболее выражены в периоде разгара заболевания и постепенно регрессировали в период реконвалесценции. С учетом данных литературы и собственных наблюдений, автором предложены критерии оценки степени тяжести пациентов с клещевыми микст-инфекциями (таблица 16).

Таблица 16 – Критерии степени тяжести у больных клещевыми микст-инфекциями

Степень тяжести	Критерии
Тяжелая	Резко выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела выше 39 °С, экзантема с геморрагическим компонентом и/или признаки менингита, нарушение проводимости сердца, выраженные признаки миокардита.
Среднетяжелая	Умеренно выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела 38–39 °С, обильная сыпь.
Легкая	Нерезко выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела не более 37,9 °С, необильная сыпь, отсутствуют признаки поражения сердца, суставов и нервной системы.

К среднетяжелым формам (при КР + ИКБ, КР + ГАЧ, КР + КЭ, КР + ИКБ + КЭ) были отнесены 65,2 % всех клещевых микст-инфекций.

У 34,8 % пациентов регистрировалась легкая форма болезни, которая встречалась при ИКБ + КР и ИКБ + КР + ГАЧ.

До госпитализации в стационар 43,5 % пациентов лечились дома самостоятельно и в 26,1 % случаев принимали антибиотики различных групп (эритромицин, тетрациклин, ципрофлоксацин), сочетая их с жаропонижающими препаратами (парацетамол, аспирин). В 8,7 % заболевшие принимали йодантипирин, в остальных случаях – только нестероидные противовоспалительные препараты (диклофенак, кеторол и т. д.).

В стационаре этиотропная терапия включала в себя назначение антибиотиков тетрациклинового ряда: тетрациклина (в 26,1 % случаев), либо доксициклин (73,9 %). Продолжительность этиотропной терапии составляла от

5 до 15 дней ($10,1 \pm 0,5$) дней). Три человека (13,0 %) при улучшении самочувствия самовольно покинули стационар и прервали назначенный курс антибиотикотерапии.

В случаях, когда было диагностировано сочетание КЭ и другой клещевой инфекции, пациентам назначался иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита в дозе 0,1 мл/кг массы тела на протяжении 5 дней.

Дезинтоксикационная терапия проводилась глюкозо-солевыми растворами в течение ($4,1 \pm 0,4$) дней всем больным со среднетяжелыми формами болезни.

На фоне лечения на 2–10 день (в среднем на $5,0 \pm 0,5$) у больных происходило снижение температуры тела: у 47,8 % пациентов температура снижалась критически, у остальных – литически. В периоде реконвалесценции регрессировали все симптомы заболевания, но к моменту выписки из стационара у 30,4 % больных на месте первичного аффекта сохранялась умеренная инфильтрация и гиперпигментация. Все заболевшие были выписаны в удовлетворительном состоянии под наблюдение участкового врача-инфекциониста. Койко-день составил ($11,5 \pm 0,9$) дней.

РЕЗЮМЕ

Удельный вес клещевых микст-инфекций на территории края составляет 10,8 %. В большинстве случаев микст-инфекции обусловлены сочетанием двух (91,3 %), реже – трех возбудителей (8,7 %), одним из которых является возбудитель КР. Чаще всего отмечаются микст-инфекции, обусловленные сочетанием ИКБ + КР (73,9 % всех случаев микст-инфекций).

Сходство эпидемиологического анамнеза, общность переносчика, наличие в клинической картине микст-инфекций, как и при моноинфекциях, симптомов лихорадочно-интоксикационного синдрома и изменений со стороны кожных покровов, характерных для КР или ИКБ, затрудняют клиническую диагностику данной группы заболеваний. Об этом свидетельствует 100,0 % частота ошибочных предварительных диагнозов, установленных до проведения лабораторного обследования пациентов на наличие маркеров клещевых инфекций.

5.2 Другие клещевые инфекции Алтайского края (клещевой энцефалит, гранулоцитарный анаплазмоз человека)

Показатель заболеваемости КЭ в Алтайском крае относительно не высок, по сравнению с другими описанными клещевыми инфекциями и составил 1,39 на 100 тыс. населения по состоянию на 2016 год. Из числа всех наблюдаемых больных КЭ диагностирован лишь у 4 человек (1,9 %), поэтому получить репрезентативную выборку пациентов с данной нозологией не представилось возможным. У двух пациентов была диагностирована лихорадочная форма заболевания и у двух – полиомиелитическая форма с развитием вялых парезов мышц проксимальных отделов верхних конечностей.

За все время выполнения работы под наблюдением находился лишь один пациент с диагнозом «Гранулоцитарный анаплазмоз человека». Ниже приведено описание данного клинического случая.

Пациент Б., 25 лет поступил на стационарное лечение 19.06.2013 года с жалобами на выраженную общую слабость, чувство озноба, на головную боль «по всей голове», отсутствие аппетита, повышение температуры тела до 39,5 °С.

Анамнез заболевания: заболел остро, когда отметил к вечеру резкий подъем температуры тела до 39,5 °С, выраженную общую слабость, озноб. Самостоятельно принимал жаропонижающие препараты (Аспирин, Парацетамол), на фоне которых отмечал кратковременное снижение температуры до 37,8°С. Утром 17.06.2013 (на 5 день болезни) заметил высыпания в области груди и живота. Этапности в появлении сыпи не наблюдалось, и субъективно больного она не беспокоила.

19.06.2013 (на 7 день болезни) пациент обратился в поликлинику по месту жительства к терапевту, где больному был установлен диагноз «Лихорадка неясного генеза», «Псевдотуберкулез» и дано направление на госпитализацию в инфекционное отделение.

Эпидемиологический анамнез: больной проживает в городской благоустроенной квартире. Работает кладовщиком на предприятии. За два дня до

начала болезни отдыхал в лесополосе в черте г. Барнаула (микрорайон Новосиликатный). Факт присасывания клеща больной не отмечал. Домашних животных нет. Специфическая профилактика клещевого энцефалита не проводилась.

Анамнез жизни: родился и проживает в Алтайском крае. Сопутствующих хронических заболеваний не имеет. Вредных привычек нет.

При поступлении в стационар состояние больного средней степени тяжести, температура тела составляла $39,3^{\circ}\text{C}$. Сознание ясное, вял. Питание удовлетворительное, телосложение нормостеническое. Менингеальных знаков и очаговой симптоматики нет. На коже груди и живота обильная полиморфная сыпь, состоящая из розеол, пятен и папул без тенденции к слиянию и сгущению, которая субъективно не беспокоит больного. Первичный аффект при осмотре обнаружить не удалось. Периферические лимфатические узлы при пальпации не увеличены, безболезненны. Слизистая ротоглотки умеренно гиперемирована. Патологии со стороны органов дыхания не выявлено. Частота дыхания 16 в минуту. Со стороны сердечно-сосудистой системы умеренная тахикардия – 90 уд/мин. Артериальное давление – 120/80 мм рт. ст. Язык влажный, чистый. Живот доступен для пальпации во всех отделах, безболезненный. Печень выступает из-под края реберной дуги на 2 см, гладко-эластичной консистенции, умеренно болезненная при пальпации. Селезенка интактна. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон, мочеиспускание не нарушено. Стул оформлен, окрашен.

В общем анализе крови выявлены следующие отклонения показателей от нормы: лейкопения ($3,3 \times 10^9/\text{л}$) с относительным лимфоцитозом (50,0 % лимфоцитов в формуле), тромбоцитопения ($126 \times 10^9/\text{л}$), моноцитоз (до 12 %). СОЭ составляла 17 мм/ч. В общем анализе мочи отмечена умеренная протеинурия. В биохимическом анализе крови выявлено повышение уровня сывороточных трансаминаз (АлАТ – 121 Ед/л, АсАТ – 158 Ед/л).

На основании клинико-эпидемиологических данных больному был поставлен предварительный диагноз «Сибирский клещевой тиф».

На основании полученных результатов исследования парных сывороток крови (обнаружение IgM к *A. phagocytophilum* при отрицательных результатах обследования на другие клещевые инфекции) больному был установлен клинический диагноз «Гранулоцитарный анаплазмоз, средней степени тяжести».

На фоне проводимой антибактериальной (доксциклин по 0,2 г/сут) и дезинтоксикационной (внутривенное введение глюкозо-солевых растворов) терапии наблюдался регресс симптоматики: исчезновение астенизации, высыпаний, улучшение аппетита и уменьшение размеров печени до нормы. Нормализация температуры произошла на 3 день от начала антибиотикотерапии. Сыпь исчезла через 8 дней от момента появления. Больной выписан на 9 день нормальной температуры. Показатели общего анализа крови и мочи, биохимического анализа крови на момент выписки были в пределах нормы. В дальнейшем в медицинские учреждения по поводу перенесенного заболевания не обращался.

РЕЗЮМЕ

Гранулоцитарный анаплазмоз человека диагностируется в Алтайском крае крайне редко. В описанном случае ГАЧ имел схожую клиническую симптоматику с клещевым риккетсиозом и был подтвержден лабораторно.

ГЛАВА 6 СПОНТАННАЯ ИНФИЦИРОВАННОСТЬ ПЕРЕНОСЧИКОВ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ В АЛТАЙСКОМ КРАЕ

Исследуемые образцы включали в себя 228 клещей, собранных с территории различных районов Алтайского края (Заринский, Поспелихинский, Первомайский) и 234 клеща самостоятельно доставленных людьми, пострадавшими от их присасывания, в вирусологическую лабораторию Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Алтайскому краю. Всего было исследовано 462 особи переносчиков.

6.1 Результаты исследования клещей, собранных в природе

Энтомологическое исследование клещей, собранных с территории, позволило отнести изучаемые особи к следующим видам: *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor reticulatus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes pavlovskyi*.

Таблица 17 – Видовое соотношение клещей, собранных с территории Алтайского края

Вид	<i>D. Marginatus</i>	<i>D. Reticulatus</i>	<i>I. Persulcatus</i>	<i>I. Pavlovskyi</i>	Всего
Абс.	38	17	148	25	228
%	16,7	7,5	64,9	10,9	100,0

Из таблицы 17 видно, что по частоте встречаемости среди собранных образцов доминировал таежный клещ (*I. persulcatus* – 64,9 %). Особи других видов встречались значительно реже – менее чем в 20,0 % случаев.

Наиболее часто переносчик содержал в себе одного возбудителя – 54,8 %, микст-инфицированность сочетанием двух различных патогенов выявлена в 16,2 % клещей, трех патогенов – в 2,6 %. В 26,4 % клещах искомым микроорганизмов выявлено не было.

В клещах рода *Ixodes* (173 особи) доминировала зараженность *R. tarasevichae* – 61,9 % исследуемых особей, как в виде моно-инфекции (37,6 %), так и в сочетании с другими возбудителями (24,3 %). *R. tarasevichae*, по данным зарубежной литературы [197], является патогенной для человека. Однако роль *R. tarasevichae* в проводимом исследовании ни в одном наблюдаемом случае заболевания клещевой инфекцией не была доказана.

По частоте обнаружения возбудителей в клещах рода *Ixodes* второе место занимали представители рода *Borrelia*, в частности, удалось обнаружить боррелий комплекса *B. burgdorferi sensu lato* – в 49 клещах (28,3 %), выделение геномных групп не проводилось, и *B. miyamotoi* (5,2 %). При этом в одном случае установлена инфицированность переносчика одновременно этими двумя боррелиями.

A. phagocytophilum – возбудитель гранулоцитарного анаплазмоза человека выявлена в 7,5 % всех обследованных клещей рода *Ixodes*. Из всех собранных клещей, вирус КЭ выявлен в одном случае.

Впервые на территории Алтайского края в двух клещах рода *Ixodes* удалось обнаружить новый для края патоген – вирус лихорадки Кемерово. Это подтверждено секвенированием протяженного фрагмента генома обнаруженного вируса.

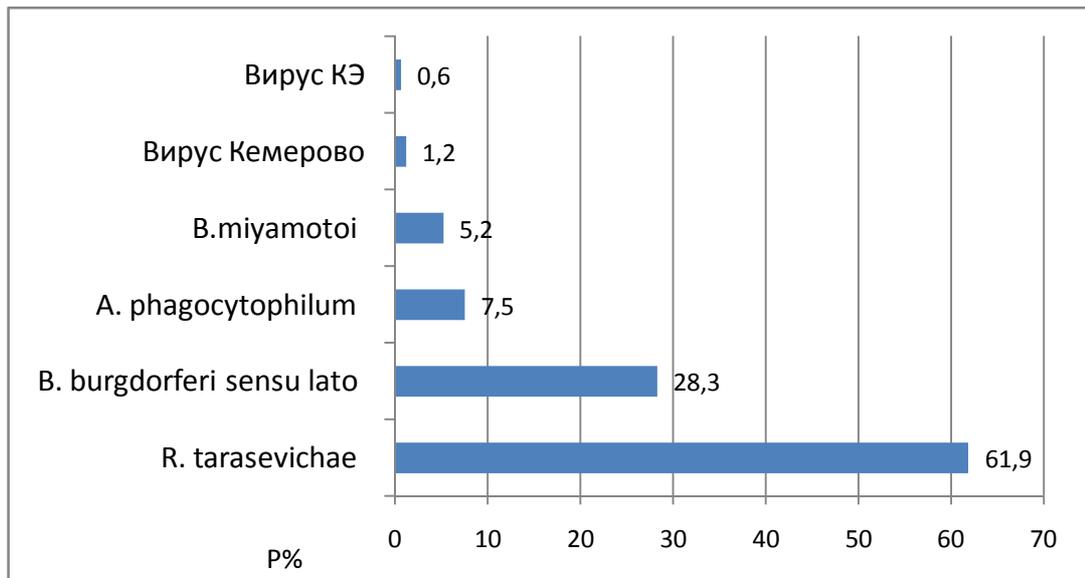


Рисунок 17 – Спонтанная инфицированность клещей рода *Ixodes*, с территории Алтайского края, 2013–2015 гг., р % (n = 173)

При микст-инфицированности клещей рода *Ixodes* (43 особи) встречались следующие комбинации микроорганизмов: *B. burgdorferi sensu lato* + *R. tarasevichae* (65,1 %), *B. miyamotoi* + *R. tarasevichae* (7,0 %), *R. tarasevichae* + *A. phagocytophilum* (9,3 %), *A. phagocytophilum* + *B. burgdorferi sensu lato* + *R. tarasevichae* (14,0 %), вирус лихорадки Кемерово + *R. tarasevichae* (2,3 %), *B. burgdorferi sensu lato* + *B. miyamotoi* (2,3 %).

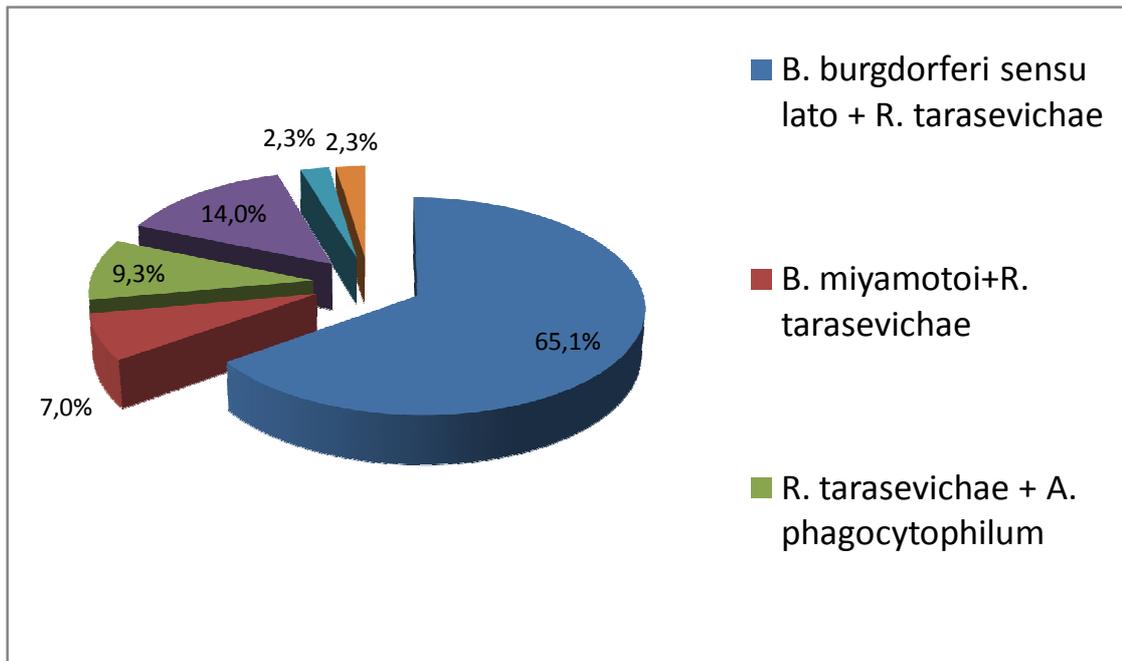


Рисунок 18 – Спонтанная инфицированность клещей с территории Алтайского края 2013–2015 гг. (микст-инфекции, n = 43)

Клещи рода *Dermacentor* в большинстве случаев содержали в себе возбудителя СКТ – *R. sibirica sensu stricto* (65,5 %). В одном случае в переносчике данного рода (*D. marginatus*), наряду с *R. sibirica sensu stricto*, выявлен вирус лихорадки Кемерово.

6.2 Результаты исследования клещей от людей, подвергшихся их нападению

Поскольку 234 клеща, доставленных людьми в лабораторию для дальнейшего исследования, находились в виде суспензий, их видовая принадлежность определялась с помощью ПЦР.

Видовая принадлежность 234 клещей представлена в таблице 18.

Таблица 18 – Видовая принадлежность клещей от людей, подвергшихся их нападению

Вид	<i>D. marginatus</i>	<i>D. reticulatus</i>	<i>D. nutalli</i>	<i>I. persulcatus</i>	<i>I. pavlovskyi</i>
Абс.	24	49	8	126	27
%	10,3	20,9	3,5	53,8	11,5

Из 234 клещей у 75 (32,0 %) выявлен один из искомым микроорганизмов, у 7 клещей (3,0 %) – 2.

По частоте встречаемости, из всех содержащихся в переносчиках микроорганизмов, доминировала *Rickettsia raoulti* – 44 клеща – 53,8 % всех инфицированных клещей. Данный вид обнаруживался во всех клещах рода *Dermacentor*: *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *D. nutalli*. Реже обнаруживался возбудитель клещевого боррелиоза *B. burgdorferi sensu lato* – 31,8 %, вирус клещевого энцефалита выявлен в 2,4 % инфицированных клещей. В двух клещах обнаружена *R. tarasevichae* (2,4 %) и в одном – *R. sibirica sensu stricto* (1,2 %).

Микст-инфекция в клещах, снятых с пострадавших от их присасывания людей, была представлена сочетанием вируса КЭ + *B. burgdorferi sensu lato*, вируса КЭ + *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi sensu lato* + *E. muris* с одинаковой частотой – по 2 случая, в одном клеще содержались – вирус КЭ + *R. raoulti*. Не были инфицированы ни одним из искомым возбудителей 152 клеща (65,0 %).

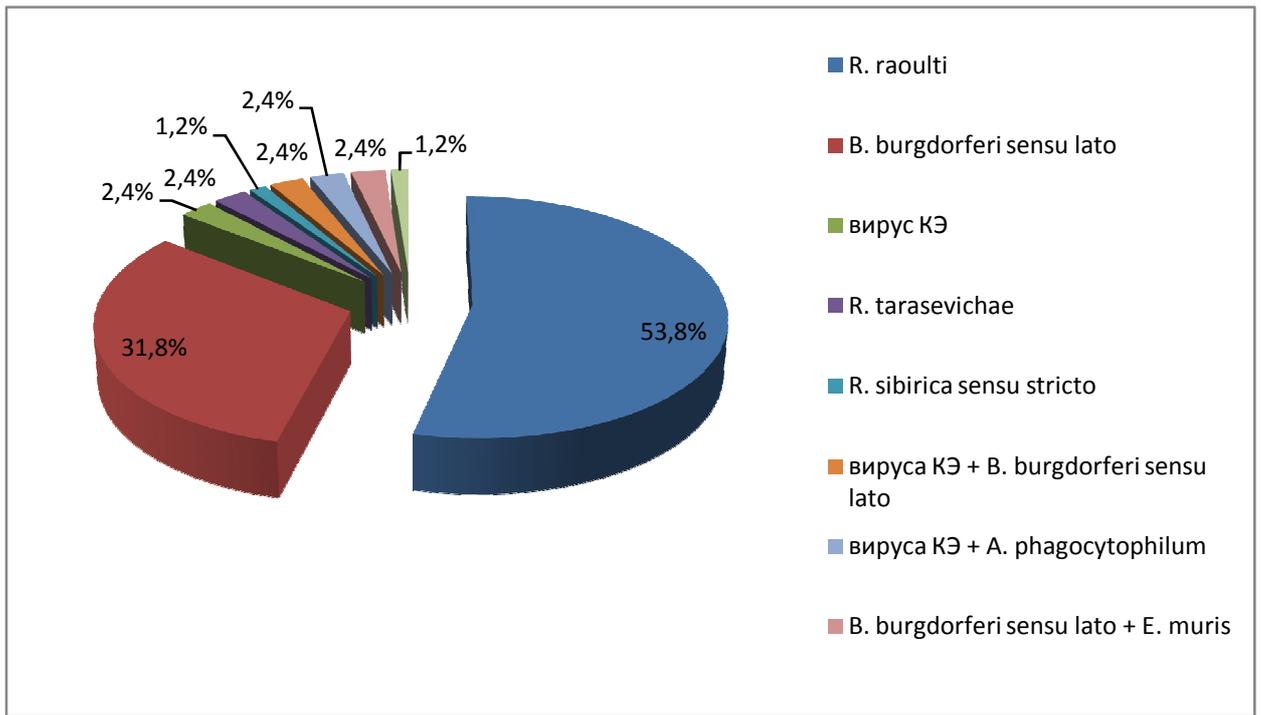


Рисунок 19 – Инфицированность клещей от людей, подвергшихся их нападению, 2013–2015 гг. (n = 82)

РЕЗЮМЕ

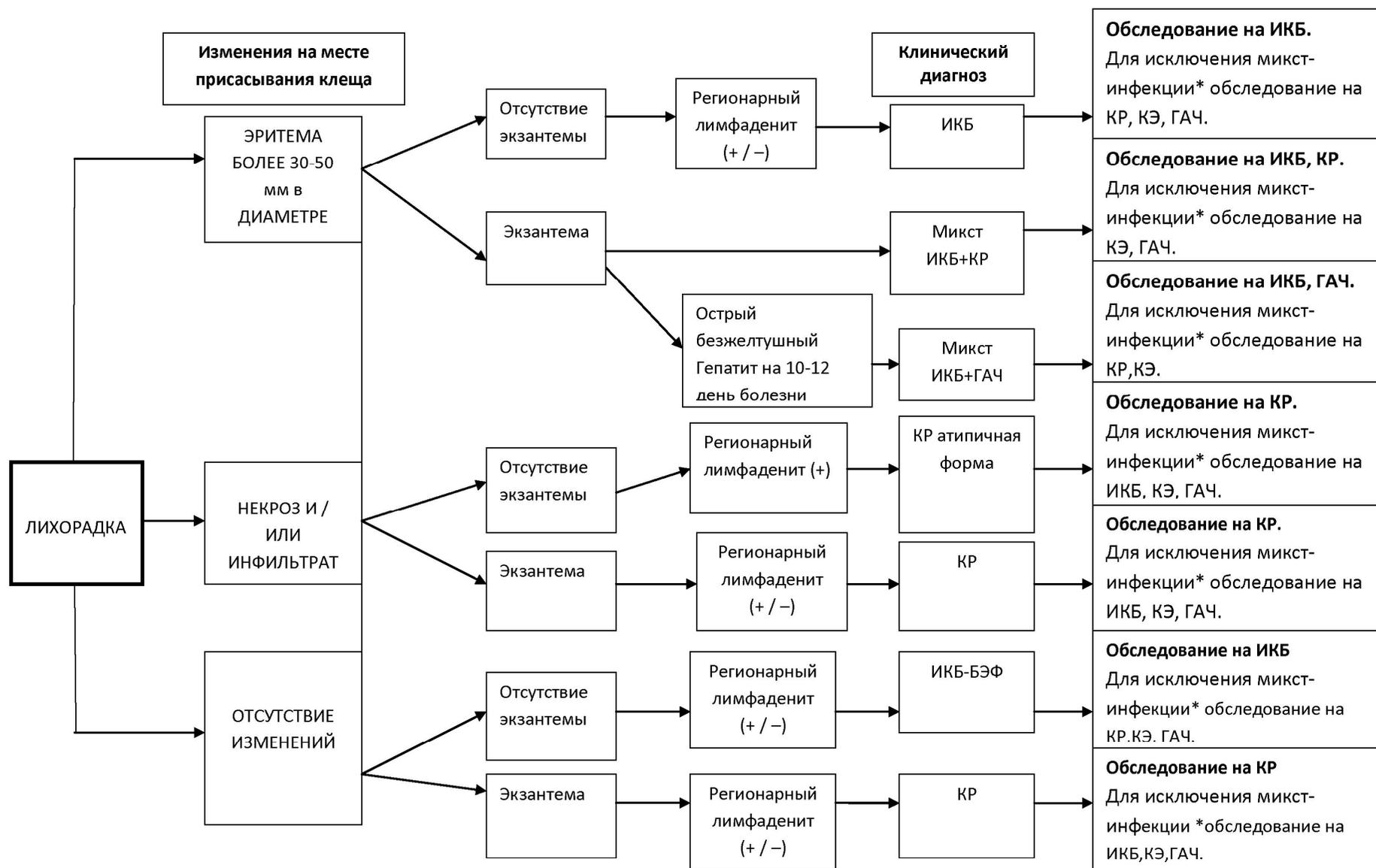
Спонтанная инфицированность клещей, собранных в природе, различными микроорганизмами составляет 73,6 %, при этом в одном клеще одновременно может находиться от одного до трех микроорганизмов.

Помимо возбудителей клещевых инфекций, вносящих свой вклад в структуру заболеваемости природно-очаговыми инфекциями среди людей (*B. burgdorferi sensu lato*, *A. phagocytophilum*, *R. sibirica sensu stricto*, вирус КЭ), в клещах широко распространены микроорганизмы (*R. raoulti*, *R. tarasevichae*, *B. miyamotoi*), чья роль в качестве этиологического фактора заболеваний на территории Алтайского края до настоящего времени не установлена.

Впервые на территории Алтайского края установлена инфицированность переносчиков вирусом Кемерово, зараженность иксодид которым ранее выявлена в соседних с Алтайским краем регионах [169; 215; 236].

СХЕМА-АЛГОРИТМ ЛАБОРАТОРНОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С ПОДОЗРЕНИЕМ НА КЛЕЩЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ

На основании наблюдаемых клинических симптомов, у пациентов с различными клещевыми инфекциями, анализа диагностической эффективности серологических и молекулярно-генетических методов исследования, распространенности возбудителей в переносчиках и обобщенных литературных данных, была разработана схема-алгоритм лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции. Данная схема позволит усовершенствовать диагностику наиболее часто встречающихся на данной территории клещевых инфекций и оптимизировать затраты на лабораторную диагностику этой группы болезней путем дифференцированного подхода к забору материалов от больных, в зависимости от предварительного диагноза и длительности заболевания.



№	Искомый возбудитель (заболевание)	Клинический материал от больных	Рекомендуемые лабораторные методы	Оптимальные сроки забора (от начала болезни)
1.	<i>R. sibirica</i> (СКТ), <i>R. heilongjiangensis</i> (КР, вызванный <i>R. heilongjiangensis</i>)	биоптат (корочка) с места первичного аффекта	ПЦР (с секвенированием ампликонов)	с первого дня болезни и до 3 недели болезни
		парные сыворотки	ИФА	с 4–6 дня болезни, затем в динамике через 7–10 дней
2.	<i>B. burgdorferi sensu lato</i> (ИКБ) <i>B. miyamotoi</i>	кожный биоптат из области МЭ	ПЦР	с 1 по 14 день болезни
		парные сыворотки	ИФА, иммуночип	на второй недели болезни, затем через 7–10 дней
3.	Вирус КЭ (КЭ)	цельная кровь	ПЦР	с первого дня болезни
		парные сыворотки	ИФА	на 5–7 день болезни, затем через 7–10 дней
4.	<i>A. phagocytophilum</i> (ГАЧ)	цельная кровь	ПЦР	с первого дня болезни
		парные сыворотки	ИФА	с 13 дня болезни, затем через 7–10 дней
Примечание: Обследование с целью исключения микст-инфекции проводить в порядке перечисления нозологий, указанном в схеме-алгоритме. Так как микст-инфекция может быть обусловлена сочетанием не более чем трех возбудителей, при подтверждении трех нозологий у одного пациента дальнейшее обследование не рекомендовано.				

ГЛАВА 7 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящее время возможности лабораторной диагностики клещевых природно-очаговых инфекций на территории края достаточно ограничены, что, безусловно, ведет к гиподиагностике данной группы заболеваний. Поэтому, в *первую задачу* исследования входила верификация диагноза клещевых инфекций на территории края с помощью комплексного лабораторного обследования пациентов с подозрением на клещевую инфекцию. В рамках этой задачи выполнено клинико-лабораторное обследование с использованием молекулярно-биологических (ПЦР с последующим секвенированием ампликонов) и серологических методов (ИФА, иммуночипы) 213 человек, обратившихся за медицинской помощью по поводу заболеваний, развившихся после присасывания, наползания клеща. Комплексный подход к проведению обследования позволил верифицировать диагноз различных клещевых инфекций у всех 213 пациентов.

Клещевые трансмиссивные инфекции – группа нозологий, имеющих свои особенности заболеваемости, распространенности и клинической картины в каждом регионе России [4; 9; 11; 12; 13; 16; 53; 88]. Поэтому данные, полученные при изучении клещевых инфекций в одном из регионов, зачастую, не могут быть спроецированы на другие, даже соседние, территории. Кроме того, многообразие методов диагностики клещевых инфекций при отсутствии к настоящему времени четкой стандартизации их применения, послужило причиной для решения *второй задачи* исследования – изучения особенностей клинического течения и лабораторной диагностики клещевых инфекций на территории Алтайского края.

В результате исследования нозологические формы клещевых инфекций распределились следующим образом: 139 (65,3 %) пациентов с диагнозом клещевой риккетсиоз в т.ч. 138 больных СКТ (64,8 %) и один (0,5 %) с КР, вызванным *R. heilongjiangensis*, 46 (21,6 %) – с диагнозом иксодовый клещевой боррелиоз, 4 (1,8 %) – клещевой энцефалит, у одного больного диагностирован гранулоцитарный анаплазмоз. У 23 (10,8 %) больных выявлена микст-инфекция, обусловленная возбудителями этих заболеваний в различных сочетаниях.

Установлено, что в абсолютном большинстве случаев у больных после присасывания клеща развивается сибирский клещевой тиф (64,8 %), который протекает циклически с острым началом (76,8 % случаев), преобладанием симптомов лихорадочно-интоксикационного синдрома (лихорадка, слабость, нарушение аппетита, миалгии, артралгии) и вовлечением в процесс центральной нервной системы (головная боль, головокружение, нарушение сна). Первичный аффект на месте присасывания клеща обнаруживался у 79,7 % заболевших. Лимфаденопатия регионарных лимфатических узлов – у 37,0 % наблюдаемых больных.

Постоянным признаком СКТ является экзантема, которая может носить розеолезно-папулезный (46,7 %), полиморфный (40,9 %), либо макуло-папулезный (12,4 %) характер. Однако очень редко (0,7 % случаев) СКТ протекает без характерной сыпи, но с наличием первичного аффекта, регионарного лимфаденита. С учетом общего состояния больных, высоты лихорадки, выраженности симптомов интоксикации, характера и выраженности экзантемы установлено, что доминировали пациенты со среднетяжелыми формами заболевания – 87,0 %, в легкой форме заболевание протекало в 12,3 % случаев, и в одном случае в тяжелой форме.

В целом в Алтайском крае, как и в других регионах (Прибайкалье, Республика Бурятия), СКТ в настоящее время сохраняет черты острой риккетсиозной инфекции с наличием лихорадочно-интоксикационного синдрома, экзантемы и регионарного лимфаденита с доминированием среднетяжелых форм болезни [2; 16]. Однако, по данным нашего исследования, в Алтайском крае регионарный лимфаденит при СКТ у больных встречается в 37,0 % случаев, что несколько реже, чем на сравниваемых территориях (66,4 % и 78,2 % соответственно). В проведенном исследовании атипичное течение СКТ зарегистрировано лишь у одного больного, в то время как, в Республике Бурятия указание на атипичное течение СКТ имелось более чем у 27,0 % пациентов [16].

Сравнительное изучение информативности двух современных лабораторных методов диагностики – ИФА и ПЦР показало, что с наибольшей

частотой (90,0 %) подтверждало клинический диагноз КР серологическое исследование (ИФА). При этом исследование парных сывороток, забранных с интервалом 7–10 дней, позволило повысить выявляемость антител класса IgM на 55,6 %.

Низкая эффективность метода ПЦР при выявлении ДНК риккетсий в сыворотке крови (11,8 %) и в цельной крови (5,5 %), возможность обнаружения возбудителя только в первой сыворотке, забранной до начала этиотропной терапии, не позволяет рекомендовать этот метод в качестве рутинной диагностики КР.

Диагностическая значимость ПЦР при выявлении ДНК риккетсий в кожных биоптатах составила 81,5 %. Наличие достоверных различий частоты положительных результатов при исследовании методом ПЦР биоптата с места первичного аффекта и первой сыворотки крови ($p < 0,05$) свидетельствует о высокой диагностической значимости метода ПЦР при исследовании биоптатов с места первичного аффекта, даже на фоне проведения этиотропной терапии на $(8,0 \pm 0,3)$ день болезни. Результаты, полученные в ходе исследования, подтверждают имеющиеся литературные данные по диагностике КР [112; 130; 246].

Сравнительный анализ частоты встречаемости и длительности клинических симптомов у больных, у которых СКТ был диагностирован с помощью молекулярно-биологических, серологических, либо клинико-эпидемиологических методов, не выявил достоверных различий, за исключением того, что длительность обнаружения регионарного лимфаденита была больше у «ПЦР-позитивных» больных, нежели чем у «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов ($p_{2-3} = 0,031$), а повышение СОЭ достоверно чаще встречалось в группе «ПЦР-позитивных» больных ($p_{1-2} = 0,063$, $p_{2-3} = 0,027$).

Помимо *R. sibirica sensu stricto* – возбудителя клещевого риккетсиоза на территории Западной Сибири, ранее в клещах с территории Алтайского края была обнаружена отнесенная к «новым» патогенам *R. heilongjiangensis* [143]. Клиническая картина риккетсиоза, вызванного *R. heilongjiangensis* во многом

сходна с сибирским клещевым тифом [113; 236], а наличие перекрестных серологических реакций между риккетсиями группы КПЛ делает серологическую диагностику данного заболевания весьма затруднительной. В результате обследования больных с помощью молекулярно-биологических методов (ПЦР с последующим секвенированием полученных ампликонов) впервые в Алтайском крае в сыворотке крови больного удалось генотипировать *R. heilongjiangensis* и установить ее этиологическую связь со случаем заболевания клещевым риккетсиозом на территории края.

Больные иксодовым клещевым боррелиозом составили 21,6 % от числа всех наблюдаемых за период выполнения работы пациентов с клещевыми инфекциями. Стоит отметить, что уровень заболеваемости ИКБ на территории Алтайского края в два раза ниже аналогичного в целом по РФ. Так заболеваемость ИКБ в соседней с краем Новосибирской области по состоянию на 2016 г – 8,36 на 100 тыс. населения, в Кемеровской области – 8,06 на 100 тыс. населения, в Алтайском крае – 1,89 на 100 тыс. населения.

В преобладающем большинстве (78,3 %) в Алтайском крае была диагностирована эритемная форма клещевого боррелиоза. При этом в одном случае наблюдалось 2 эритемы, и в одном случае – 3 эритемы. Первичный аффект в этих случаях был в месте одной из эритем. Средний размер эритемы составлял $(97,2 \pm 7,8)$ мм. Наибольший размер – 250 мм. Наличие эритемы определялось в течение 7–23 дней, в среднем – $(14,8 \pm 0,9)$ дней

В клинической картине иксодового клещевого боррелиоза доминировали симптомы лихорадочно-интоксикационного синдрома: лихорадка (84,8 %), общая слабость (78,3 %), озноб (58,7 %), нарушение аппетита (32,6 %), миалгии (28,3 %), артралгии (26,1 %). Вовлечение в процесс центральной нервной системы отражали жалобы пациентов на головную боль (50,0 %), нарушение сна (15,2 %), головокружение (13,0 %). Регионарный лимфаденит отмечен в 23,9 % от общего числа заболевших и в 30,5 % случаев больных, имевших эритему. 15,2 % заболевших обратились за медицинской помощью только в связи с наличием эритемы на теле, т. к. температура тела у них не повышалась и самочувствие не

страдало. При эритемной форме клещевого боррелиоза в Алтайском крае преобладают легкие формы болезни (69,4 %), в то время как при безэритемной форме – среднетяжелые (80,0 %). Тяжелых форм заболевания зафиксировано не было.

Таким образом, регионарными особенностями ИКБ на территории Алтайского края является доминирование эритемной формы, что сопоставимо с данными других регионов РФ, таких как, Новосибирская область, Прибайкалье, Красноярский край, Кемеровская область [2; 9; 103] и преобладание легких форм заболевания, в 15,2 % случаев протекающих без лихорадки и интоксикации. Однако в не столь отдаленном от края регионе – Томской области выявлено преобладание безэритемных форм ИКБ [37]. Как и в других регионах – в Алтайском крае в клинической картине ИКБ отмечается полиморфизм клинической симптоматики. Увеличение регионарных лимфатических узлов у больных с ИКБ в крае регистрировалось реже, чем на других территориях, не было выявлено генерализованной лимфаденопатии. Также не было отмечено тяжелых форм заболевания и развитие менингеальных симптомов.

Серологическое подтверждение диагноза было у 78,3 % всех пациентов с ИКБ. Исследование парных сывороток позволило повысить выявляемость IgM на 30,6 %. При этом у пациентов, у которых антитела класса IgM определялись уже в первой сыворотке, она была забрана достоверно позже (на $(8,1 \pm 1,1)$ день болезни), чем у пациентов без серологического подтверждения диагноза (на $(2,0 \pm 0,3)$ день болезни). Во всех случаях ИКБ, в сыворотке, забранной в конце третьей недели болезни ($(21,4 \pm 1,4)$ день болезни) были обнаружены специфические антитела класса Ig M к боррелиям.

Ни у одного из пациентов, с серологически подтвержденным диагнозом ИКБ методом ПЦР в режиме реального времени, в сыворотке крови не была обнаружена ДНК боррелий. Таким образом, метод иммуночипов может быть рекомендован в качестве основного метода подтверждения диагноза ИКБ. Данный метод показывает свою эффективность при исследовании сывороток, начиная со второй недели заболевания. Максимальная диагностическая ценность

серологического обследования наблюдается на третьей недели болезни. Исследование методом ПЦР сывороток и цельной крови от больных не может рекомендоваться в качестве рутинного метода диагностики ИКБ.

Благодаря комплексному обследованию больных на весь спектр клещевых инфекций установлено, что одновременное инфицирование лиц при нападении клещей несколькими возбудителями составляет 10,8 %. При этом в 91,3 % диагностировалась микст-инфекция с наличием двух возбудителей и в 8,7 % – с наличием трех возбудителей (КР + ИКБ + КЭ, КР + ИКБ + ГАЧ). Чаще всего встречалось сочетание КР + ИКБ (73,9 %), КР + ГАЧ (13,0 %), также в одном случае выявлено сочетание КР + КЭ.

Характерной особенностью клещевых микст-инфекций на территории края является во всех случаях сочетание КР с другими клещевыми нозологиями и отсутствие сочетания ИКБ + КЭ у наблюдаемых больных, на доминирование которого указывают исследователи в других регионах [2; 9; 63].

При клещевых микст-инфекциях преобладают симптомы лихорадочно-интоксикационного синдрома: лихорадка, общая слабость, снижение аппетита, чувство озноба, тахикардия и неврологические нарушения в виде головной боли, нарушения сна, изменения со стороны кожных покровов соответствуют патогномичным признакам одной из нозологий (КР либо ИКБ). По этой причине их клиническая диагностика вызывает большие трудности, и верифицировать диагноз возможно только после лабораторного обследования пациента. В большинстве случаев (65,2 %), по наличию и выраженности клинических проявлений, заболевания были отнесены к среднетяжелым формам (при КР + ИКБ, КР + ГАЧ, КР + КЭ, КР + ИКБ + КЭ). У 34,8 % пациентов регистрировалась легкая форма болезни, которая встречалась при таких микст-инфекциях, как ИКБ + КР и ИКБ + КР + ГАЧ

Полученные в ходе исследования результаты, позволяют внести ряд предложений по совершенствованию диагностики и мониторинга клещевых инфекций с природной очаговостью. В частности, для диагностики КР эффективно применять серологическое обследование пациентов (ИФА) с

определением IgM в парных сыворотках, забранных с интервалом в 7–10 дней. Метод ПЦР может быть рекомендован только для исследования биоптатов с места первичного аффекта, и в этом случае его эффективность сохраняется даже на фоне применения антибактериальной терапии.

Серологическое исследование с определением антител класса IgM к различным антигенам боррелий методом иммуночипов также рекомендовано в качестве основного метода диагностики ИКБ. Парные сыворотки для данного исследования эффективно забирать в динамике на 2–3 неделе заболевания.

При определении наиболее полной структуры возбудителей клещевых инфекций на территории Алтайского края была решена *третья задача* исследования, которая, помимо определения нозологической структуры клещевых инфекций, включала в себя определение частоты спонтанной инфицированности переносчиков на территории края.

Анализ спонтанной инфицированности переносчиков на территории края показал, что в преобладающем большинстве клещи инфицированы одним микроорганизмом (54,8 %). Однако в 16,2 % переносчики содержали в себе два и в 2,6 % случаев – три возбудителя, что соотносится с данными по частоте обнаружения микст-инфекций у заболевших. Это свидетельствует о наличии сочетанных природных очагов клещевых инфекций на территории Алтайского края.

Наряду с обнаружением в клещах микроорганизмов, чья роль в развитии заболеваний, передающихся клещами на территории края не вызывает сомнения (*B. burgdorferi sensu lato*, *A. phagocytophilum*, *R. sibirica sensu stricto*, вирус КЭ), генотипированы и микроорганизмы, которые, по данным литературы, являются патогенными для человека (*R. raoulti*, *R. tarasevichae*) [197; 220]. Несмотря на то, что по результатам данной работы достоверно роль данных микроорганизмов в развитии клещевых инфекций у людей на территории края установлена не была, нельзя исключить, что они могут являться этиологическими агентами заболеваний, возникающих после присасывания клещей в данном регионе. Также впервые на территории Алтайского края обнаружена инфицированность

переносчиков вирусом Кемерово, зараженность иксодид которым ранее выявлена в других регионах РФ [169; 215; 236]. Случаев заболевания лихорадкой Кемерово в крае зарегистрировано не было.

С учетом наблюдаемых клинических симптомов у пациентов с различными клещевыми инфекциями, анализа диагностической эффективности серологических и молекулярно-генетических методов исследования, распространенности возбудителей в переносчиках и обобщенных литературных данных, решена *четвертая задача* исследования – разработана схема-алгоритм лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции. Эта схема позволит усовершенствовать диагностику наиболее часто встречающихся клещевых инфекций и оптимизировать затраты на лабораторную диагностику этой группы болезней.

ВЫВОДЫ

1. На территории Алтайского края в нозологической структуре клещевых инфекций госпитализированных больных преобладает клещевой риккетсиоз (65,3 %), который может быть вызван двумя видами риккетсий: *R. sibirica* – СКТ (64,8 %) и *R. heilongjiangensis*. Из других клещевых инфекций в 21,6 % регистрируются иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой энцефалит (1,8 %), гранулоцитарный анаплазмоз человека (0,5 %) и микст-инфекции (10,8 %).

2. Сибирский клещевой тиф на территории Алтайского края в 99,3 % протекает в типичной форме; атипичное течение без характерной сыпи, но с наличием первичного аффекта и регионарного лимфаденита диагностировано в 1 случае.

3. Иксодовый клещевой боррелиоз в крае протекает как в эритемной (78,3 %), так и в безэритемной (21,7 %) формах. В клинической картине иксодового клещевого боррелиоза доминируют симптомы лихорадочно-интоксикационного синдрома: общая слабость (78,3 %), озноб (58,7 %), головная боль (50,0 %), миалгии (28,3 %), артралгии (26,1 %); а также регионарный лимфаденит (23,9 %). При эритемной форме преобладает легкая форма болезни (69,4 %), при безэритемной – среднетяжелая (80,0 %).

4. Частота выявления клещевых микст-инфекций в регионе составляет 10,8 %. В этой группе заболеваний преобладают симптомы лихорадочно-интоксикационного синдрома: лихорадка, общая слабость, снижение аппетита, чувство озноба, тахикардия, головная боль, нарушение сна, а изменения со стороны кожного покрова соответствуют патогномичным признакам одной из нозологий (клещевой риккетсиоз либо иксодовый клещевой боррелиоз).

5. Диагностическая значимость иммуноферментного анализа при обследовании на клещевой риккетсиоз составила 90,0 %. Метод полимеразной цепной реакции показал наибольшую диагностическую эффективность при исследовании кожных биоптатов с места первичного аффекта (81,5 %) по сравнению с полимеразной цепной реакцией крови (17,3 %). Метод иммуночипов

является эффективным лабораторным методом диагностики иксодового клещевого боррелиоза (78,3 %) при условии его использования со второй недели болезни.

6. Спонтанная инфицированность клещей, собранных на территории Алтайского края, составляет 73,6 %. Помимо возбудителей клещевых инфекций, регистрируемых в регионе: *B. burgdorferi sensu lato* (28,3 %), *A. phagocytophilum* (7,5 %), *R. sibirica sensu stricto* (65,5 %), вирус клещевого энцефалита (0,4 %). В переносчиках также выявлены микроорганизмы, роль которых в инфекционной патологии на территории края к настоящему времени не известна: *R. raoulti* (51,2 %), *R. tarasevichae* (61,9 %), вирус Кемерово (0,9 %).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Ввиду наличия на территории края безэритемной формы клещевого боррелиоза, при которой отсутствует патогномичный диагностический признак, а в клинической картине доминируют симптомы лихорадочно-интоксикационного синдрома, все пациенты с заболеваниями, связанными с присасыванием клеща и клинически не укладывающимися ни в одну из нозологий, должны быть обследованы серологическим методом (иммуночип) на клещевой боррелиоз, начиная со 2 недели болезни и в динамике через 7–10 дней.

2. В практической работе инфекционных стационаров для лабораторного обследования пациентов на клещевой риккетсиоз необходимо использовать метод иммуноферментного анализа с исследованием парных сывороток, забранных с интервалом в 7–10 дней на наличие специфических IgM. Метод полимеразной цепной реакции рекомендуется только для исследования биоптатов с места первичного аффекта на наличие ДНК риккетсий.

3. Клиническая диагностика клещевых микст-инфекций практически невозможна. Поэтому необходим комплексный подход к лабораторному обследованию больных с лихорадочными состояниями, возникшими после присасывания клеща. Для лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции целесообразно использовать предложенную автором схему-алгоритм.

4. С целью определения спонтанной инфицированности переносчиков, с учетом полученных доказательств наличия на территории края сочетанных природных очагов, рекомендовать Управлению Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучию человека по Алтайскому краю расширить спектр исследования клещей на наличие микроорганизмов, чья этиологическая роль в возникновении лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща, требует дальнейшего изучения (*R. raoulti*, *R. tarasevichae*, вирус Кемерово).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АлАТ	аланинаминотрансфераза
АсАТ	аспартатаминотрансфераза
БЭФ	безэритемная форма
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
ИБ	иммунный блотинг
ИКБ	иксодовый клещевой боррелиоз
ИФА	иммуноферментный анализ
КПЛ	клещевые пятнистые лихорадки
КР	клещевой риккетсиоз
КС	коэффициент серопозитивности
КЭ	клещевой энцефалит
МЭ	мигрирующая эритема
МЭФ	эритемная форма
ОАК	общий анализ крови
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
п. о.	пары оснований
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РНГА	реакция непрямой гемагглютинации
РНИФ	реакция непрямой иммунофлюоресценции
РПГА	реакция пассивной гемагглютинации
РСК	реакция связывания комплемента
СКТ	сибирский клещевой тиф
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
УЗИ	ультразвуковое исследование
ЦНС	центральная нервная система
TIBOLA	tick-borne lymphadenopathy

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, Н. В. Совершенствование серологического мониторинга в системе эпидемиологического надзора за риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.02.02, 03.02.03 / Абрамова Наталия Валерьевна. – Омск, 2012. – 23 с.
2. Аитов, К. Природно-очаговые трансмиссивные клещевые инфекции Прибайкалья : автореф. дис. ... д-ра мед. наук 14.00.30, 14.00.10 / Аитов Курбандурды. – Иркутск, 2005. – 49 с.
3. Аитов, К. А. Клинико-эпидемиологическая характеристика клещевого риккетсиоза в Прибайкалье / К. А. Аитов, И. В. Малов // Бюл. сибирской медицины. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 126–130.
4. Алешковская, Е. С. Клинико-лабораторная характеристика иксодового клещевого боррелиоза в Центральном регионе России : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / Алешковская Елена Сергеевна. – СПб., 2009. – 133 с.
5. Ананьева, Л. П. Иксодовые клещевые боррелиозы (Лаймская болезнь). Экология, клиническая картина и этиология / Л. П. Ананьева // Терапевт. архив. – 2000. – № 5. – С. 72–78.
6. Ананьева, Л. П. Клинические и серологические проявления Лаймской болезни в России / Л. П. Ананьева, И. А. Скрипникова, В. Г. Барскова // Терапевт. архив. – 1995. – № 11. – С. 38–42.
7. Ананьева, Л. П. Особенности поздних и хронических проявлений ИКБ в России / Л. П. Ананьева // Клещевые боррелиозы : материалы науч.-практ. конф. – Ижевск, 2002. – С. 43.
8. Ананьева, Л. П. Лайм-боррелиоз, или иксодовые клещевые боррелиозы. Ч. 1 / Л. П. Ананьева // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 20–27.
9. Андропова, Н. В. Клинико-иммунологическая характеристика острых иксодовых клещевых боррелиозов в Красноярском крае : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.09 / Андропова Наталья Владимировна. – Новосибирск, 2011. – 22 с.

10. Апробация иммуноферментного анализа для серологической диагностики инфекций, вызываемых риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки / Н. В. Абрамова [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2010. – № 1 (50). – С. 17–21.
11. Арсеньева, И. В. Эпидемиологические и клиничко–лабораторные аспекты Сибирского клещевого тифа в Алтайском крае : дис. ... канд. мед. наук : 14.02.02 / Арсеньева Ирина Владимировна. – Барнаул, 2011. – 190 с.
12. Архипина, С. А. Лайм-боррелиоз: анализ заболеваемости в Орловской области / С. А. Архипина // Инфекционные болезни: современные проблемы диагностики и лечения : сб. тез. Рос. науч.-практ. конф. – СПб., 2008. – С. 15–16.
13. Афанасьева, М. В. Клиничко-эпидемиологическая характеристика гранулоцитарного анаплазмоза человека в России: на примере Пермского края : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10, 14.00.30 / Афанасьева Марина Валерьевна. – М., 2006. – 20 с.
14. Байгеленов, К. Ж. Клиничко-иммунологическая характеристика менингеальных форм иксодовых клещевых боррелиозов и клещевого энцефалита : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 10.00.10 / Байгеленов Касымбек Жапарович. – СПб., 2009. – 22 с.
15. Баранова, Н. С. Поражение нервной системы при хроническом лайм-боррелиозе : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.11 / Баранова Наталия Сергеевна. – М., 2013. – 46 с.
16. Бельжинимаева, И. Ц. Эпидемиологические и клиничко-патогенетические аспекты клещевого риккетсиоза в Республике Бурятия : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Бельжинимаева Ирина Цыренжаповна. – Иркутск, 2009. – 130 с.
17. Болезнь Лайма у взрослых: клинические рекомендации, 2014 г.
18. Бургасова, О. А. Дифференциальная диагностика иксодовых клещевых боррелиозов с поражением суставов и псевдотуберкулеза / О. А. Бургасова, А. Н. Усков, К. Д. Байгеленов // Инфекционные болезни: современные проблемы диагностики и лечения : сб. тез. Рос. науч.-практ. конф. –

СПб., 2008. – С. 37–38.

19. Вельгин, С. О. Клиника, дифференциальная диагностика и профилактика острых лихорадочных заболеваний после присасывания иксодовых клещей / С. О. Вельгин, С. А. Дракина, И. И. Протас // Военная медицина. – 2008. – № 6 (1). – С. 51–55.

20. Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики : справочно-информационное издание [электронный ресурс] / ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. – М., 2017. – 19 с. – Режим доступа :http://www.interlabservice.ru/upload/iblock/533/2017_Metodichka_Vzятие_Trasport.pdf.

21. Воробьева, Н. Н. Иксодовые клещевые боррелиозы / Н. Н. Воробьева // Рос. мед. журн. – 2000. – № 6. – С. 33–38.

22. Воробьева, Н. Н. Клиника, лечение и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов / Н. Н. Воробьева. – Пермь: Урал-Пресс, 1998. – 136 с.

23. Воробьева, Н. Н. Клинико-патогенетические аспекты и антибиотикопрофилактика иксодовых клещевых боррелиозов : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.10 / Воробьева Наталья Николаевна. – М., 1996. – 28 с.

24. Выявление α 1-протеобактерий в иксодовых клещах и образцах от больных в России / С. Н. Шпынов [и др.] // Омский науч. вестн. – 2006. – № 3 (37). – С. 32–37.

25. Выявление антител к *Borrelia burgdorferi sensu lato* и *Anaplasma phagocytophilum* у больных, госпитализированных с диагнозом клещевой энцефалит / Н. В. Фоменко [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 3 (55), Прил. – С. 177–180.

26. Выявление боррелиозной инфекции с помощью инновационной тест системы в формате иммуночипа при склероатрофических поражениях кожи / В. А. Молочков [и др.] // Рос. журн. кожных и венерических болезней. – 2012. – № 2. – С. 32–35.

27. Выявление возбудителей клещевого риккетсиоза в клещах и крови пациентов на Дальнем Востоке с помощью ПЦР-анализа в режиме реального

времени / Е. И. Бондаренко [и др.] // Лабораторная диагностика. – 2014. – № 5. – С. 44–48.

28. Выявление гранулоцитарного анаплазмоза человека у пациентов с клещевыми инфекциями / С. А. Дракина [и др.] // Здоровоохранение. – 2014. – № 10. – С. 20–23.

29. Галимзянов, Х. М. Астраханская риккетсиозная лихорадка / Х. М. Галимзянов, В. В. Малеев, И. В. Тарасевич. – Астрахань : АГМА, 1999. – 156 с.

30. Галюков, И. А. Антропогенные факторы в заболеваемости населения клещевым энцефалитом и клещевым боррелиозом на Южном Урале и Зауралье, организация профилактики, восстановительного лечения и диспансеризации больных : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.02.03 / Галюков Игорь Анатольевич. – Екатеринбург, 2010. – 47 с.

31. Генетическая идентификация риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки, изолированных в очагах клещевого риккетсиоза / С. Н. Шпынов [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – № 5. – С. 43–48.

32. Гранитов, В. М. Особенности клещевого сыпного тифа Северной Азии у жителей города / В. М. Гранитов, Г. Г. Старцева, Т. Н. Горбунова // Клинич. медицина. – 1988. – № 4. – С. 115–115.

33. Гранулоцитарный анаплазмоз человека и микст-инфекция с иксодовым клещевым боррелиозом / В. Ю. Тетерин [и др.] // Инфекционные болезни. – 2012. – Т. 10, № 1. – С. 21–27.

34. Деконенко, Е. П. Заболевания, передающиеся клещами / Е. П. Деконенко, Г. Н. Кареткина // Лечащий врач. – 2009. – № 5. – С. 47–52.

35. Деконенко, Е. П. Полиморфизм клинических проявлений при Лайм-боррелиозе / Е. П. Деконенко, К. Г. Уманский, Л. В. Куприянова // Клинич. медицина. – 1991. – Т. 69, № 4. – С. 68–70.

36. Дерюгин, М. В. Поражение сердца у молодых больных клещевым лайм-боррелиозом в Северо-Западном регионе России : автореф. дис. ... канд. мед.

наук : 14.00.10, 14.00.06 / Дерюгин Михаил Владимирович – СПб., 1996. – 23 с.

37. Добкина, М. Н. Характер течения и исходы иксодового клещевого боррелиоза в условиях различной антибактериальной терапии : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / Добкина Марина Николаевна. – Новосибирск, 2004. – 28 с.

38. Дружинина, Т. А. Эколого-эпидемиологическая характеристика и профилактика трансмиссивных клещевых инфекций (по материалам Ярославской области) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.30 / Дружинина Татьяна Александровна. – М., 2005. – 22 с.

39. Егембердиева, Р. А. Клещевой риккетсиоз в Северо-Казахстанской области / Р. А. Егембердиева // Мед. журн. Западного Казахстана. – 2010. – № 3 (27). – С. 39–42.

40. Еремеева, М. Е. Современные подходы к лабораторной диагностики риккетсиозов / М. Е. Еремеева, С. Н. Шпынов, Н. К. Токаревич // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4, № 2. – С. 113–134.

41. Железнова, И. О. Признаки органического поражения головного мозга у пациентов, обследованных в остром периоде иксодового клещевого боррелиоза / И. О. Железнова, П. П. Балашов, А. В. Лепехин // Бюл. сибирской медицины. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 19–24.

42. Железнова, И. О. Характеристика психических нарушений у пациентов с иксодовым клещевым боррелиозом : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.18 / Железнова Ирина Олеговна. – Томск, 2009. – 25 с.

43. Здродовский, П. Ф. Учение о риккетсиях и риккетсиозах / П. Ф. Здродовский, Е. М. Голиневич. – М., 1972. – 496 с.

44. Иксодовые клещевые боррелиозы у детей и взрослых : методические рекомендации для врачей / под ред. Ю. В. Лобзина [и др.]. – СПб., 2010. – 64 с.

45. Иксодовые клещевые инфекции в практике участкового врача / И. В. Малов [и др.]. – Иркутск, 2007. – 90 с.

46. Инструкция по применению комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-преп». – 2012. – 9 с.

47. Инструкция по применению набора реагентов для выявления РНК/ДНК возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами TBEV, *Borellia burgdorferi* sl, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* / *Ehrlichia muris*, в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс» TBEV, *B. burgdorferi*sl, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis* / *E. Muris-FL*» АмплиСенс [электронный ресурс] / ФБУН «Центральный научно–исследовательский институт эпидемиологии» РФ. – М., 2012. – 21 с. – Режим доступа :[http://www.interlabservice.ru/upload/iblock/f6c/TBEV, %20B. %20burgdorferi %20sl, %20A. %20phagocytophilum, %20E. %20chaffeensis– E. %20muris %20 %28 %D0 %B7 %D0 %B0 %D1 %80 %D0 %B5 %D0 %B3 %D0 %B8 %D1 %81 %D1 %82 %D1 %80 %29 %20 %28NEW %29_PM_180717.pdf](http://www.interlabservice.ru/upload/iblock/f6c/TBEV,%20B.%20burgdorferi%20sl,%20A.%20phagocytophilum,%20E.%20chaffeensis%E.%20muris%20%28%D0%B7%D0%B0%D1%80%D0%B5%D0%B3%D0%B8%D1%81%D1%82%D1%80%29%20%28NEW%29_PM_180717.pdf).

48. Инфекционные болезни: учебное пособие / Ю. В. Лобзин [и др.] ; под ред. Ю. В. Лобзина. – Спб., 2014. – 226 с.

49. Использование комплекса молекулярно–генетических методов (ПЦР-ПДРФ) для изучения риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки / А. Н. Коломеец [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 3 (55), Прил. – С. 117–120.

50. Использование полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для выявления ДНК возбудителей гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека / Е. И. Бондаренко [и др.] // Клинич. лабораторная диагностика. – 2012. – № 11. – С. 54–57.

51. Клиника и течение безэритемной формы иксодовых клещевых боррелиозов / Н. Н. Воробьева [и др.] // Мед. паразитология. – 1995. – № 3. – С. 12–15.

52. Клинико-лабораторная апробация новых отечественных рекомбинантных тест-систем для серологической верификации моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека / М. В. Афанасьева [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2005. – № 1. – С. 45–48.

53. Клинико-лабораторная диагностика инфекций, передающихся

иксодовыми клещами в Пермском крае / В. Ю. Тетерин [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2013. – № 4. – С. 15.

54. Клинико-лабораторные особенности Лайм-боррелиоза и лихорадки Западного Нила в Воронежской области / Ю. Г. Притулина [и др.] // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2014. – № 4 (9). – С. 35–39.

55. Клинико-рентгенологическая характеристика поражения легких при боррелиозе *miyamotoi* / Д. С. Саркисян [и др.] // Медицинский альманах. – 2012. – № 2 (21). – С. 250–253.

56. Клинико-эпидемиологическая характеристика болезни Лайма в Республике Мордовия / Р. З. Альмяшева [и др.] // Инфекционные болезни: современные проблемы диагностики и лечения : сб. тез. Рос. науч.-практ. конф. – СПб., 2008. – С. 9.

57. Клинико-эпидемиологические особенности клещевого риккетсиоза в Казахстане / Р. А. Егембердиева [и др.] // Национальные приоритеты России. – 2009. – № 2. – С. 205–207.

58. Клиническая характеристика редких клещевых инфекций : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. уч. «Природно-очаговые и другие актуальные инфекции Сибири и Дальнего Востока» (16–18 сентября 2015 года) / А. А. Бельтикова [и др.] // Журн. инфектологии. – 2015. – Т. 7, № 3. – С. 17.

59. Клиническая характеристика состояния системы гемостаза и реологии крови у больных клещевым сыпным тифом Северной Азии / М. А. Никулина [и др.] // Актуальные вопросы инфекционной патологии : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 40-летию кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии АГМУ. – Барнаул, 1999. – С. 142–145.

60. Клинические особенности «нового» клещевого боррелиоза, вызванного *B. miyamotoi* / Д. С. Саркисян [и др.] // Терапевт. архив. – 2011. – № 11. – С. 34–41.

61. Клинический полиморфизм заболевания, вызываемого *Borreliamiyamotoi* / Л. И. Багаутдинова [и др.] // Практическая медицина. – 2013. – № 5 (74). – С. 125–130.

62. Ковальский, А. Г. Клинико-эпидемиологическая характеристика клещевого сыпного тифа Северной Азии / А. Г. Ковальский // Клинич. медицина. – 1990. – № 3. – С. 75–78.
63. Конькова-Рейдман, А. Б. Эпидемиологическая и клинико-иммунологическая характеристика иксодовых клещевых боррелиозов (моно- и микст-инфекция с клещевым энцефалитом) в Южно-Уральском регионе России : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.02.02, 14.01.09 / Конькова-Рейдман Алена Борисовна. – Омск, 2011. – 43 с.
64. Коренберг, Э. И. Иксодовые клещевые боррелиозы: основные итоги изучения и профилактики в России / Э. И. Корнеберг // Клещевые боррелиозы : материалы науч.-практ. конф. – Ижевск, 2002. – С. 165–174.
65. Коренберг, Э. И. Инфекции группы Лайм-боррелиоза – иксодовые клещевые боррелиозы в России / Э. И. Коренберг // Мед. паразитология и паразитар. болезни. – 1996. – № 3. – С. 14–18.
66. Коренберг, Э. И. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами / Э. И. Коренберг, В. Г. Помелова, Н. С. Осин ; под ред. акад. РАМН А. Л. Гинцбурга, В. Н. Злобина. – М., 2013. – 464 с.
67. Коренберг, Э. И. Эрлихиозы – новая для России проблема инфекционной патологии / Э. И. Коренберг // Мед. паразитология и паразитарные болезни. – 1999. – № 4. – С. 10–14.
68. Косых, Н. Г. Эпидемиологические и клинико-патогенетические аспекты иксодового клещевого боррелиоза в Восточной Сибири : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Косых Наталья Георгиевна. – Иркутск, 2002. – 18 с.
69. Красиков, А. П. Риккетсиозы и анаплазмозы человека и животных : монография / А. П. Красиков, Н. В. Рудаков. – Омск, 2013. – 280 с.
70. Крумгольц, В. Ф. Этиотропная терапия и экстренная антибиотикопрофилактика иксодовых клещевых боррелиозов : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / Крумгольц Вячеслав Францискович. – СПб., 1999. – 24 с.
71. Куимова, И. В. Клинические особенности иксодовых клещевых боррелиозов у детей / И. В. Куимова, О. А. Родионова, Е. И. Краснова // Леч. врач.

– 2014. – № 3. – С. 65–68.

72. Кулагин, С. М. Клещевой сыпной тиф в Алтайском крае : дис. ... д-ра мед. наук / С. М. Кулагин. – М., 1953. – 159 с.

73. Лабораторная диагностика и идентификация риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки / В. А. Макарова [и др.] // Национальные приоритеты России. – 2009. – № 2. – С. 85–86.

74. Лайм-боррелиоз: современное состояние проблемы / В. П. Малый [и др.] // Международный медицинский журнал. – 2009. – № 1. – С. 123–126.

75. Лесняк, О. М. Лайм-боррелиоз / О. М. Лесняк. – Екатеринбург : УГМА, 1999. – 226 с.

76. Липов, А. В. Болезнь-Лайма: обзор литературы и клинический случай / А. В. Липов, В. Э. Товмасын, П. В. Корой // Вестник молодого ученого. – 2017. – №2. – С. 39–47.

77. Лобан, К. М. Важнейшие риккетсиозы человека : руководство для врачей / К. М. Лобан. – Л. : Медицина, 1980. – С. 239–270.

78. Лобан, К. М. Риккетсиозы человека : руководство для врачей / К. М. Лобан, Ю. В. Лобзин, Е. П. Лукин. – М.; СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2002. – 480 с.

79. Лобзин, Ю. В. Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы) / Ю. В. Лобзин, А. Н. Усков, С. С. Козлов. – СПб. : Фолиант, 2000. – 160 с.

80. Лобзин, Ю. В. Патогенез и клинико-патогенетическая классификация иксодовых клещевых боррелиозов / Ю. В. Лобзин, С. С. Козлов, А. Н. Усков // Клещевые боррелиозы : материалы науч.-практ. конф. – Ижевск, 2002. – С. 185–189.

81. Лысковцев, М. М. Клещевой риккетсиоз / М. М. Лысковцев. – М., 1963. – 276 с.

82. Любезнова, О. Н. Клинико-патогенетическое значение показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при Лайм-боррелиозе : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / Любезнова Ольга Николаевна. – М., 2004. – 23 с.

83. Малеев, В. В. Обзор Европейских рекомендаций по диагностике клещевых бактериальных инфекций / В. В. Малеев // Клинич. микробиология,

антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 130–153.

84. Малов, В. А. Иксодовые клещевые боррелиозы (лайм-боррелиоз) / В. А. Малов, А. Н. Горобченко // Лечащий врач. – № 6. – 2004. – С. 48–51.

85. Малый, В. П. Системный клещевой боррелиоз (болезнь Лайма) : учеб. пособие / В. П. Малый, И. С. Кратенко. – Харьков : Фолио, 2006. – 127 с.

86. Мандракова, Н. В. Клинико-иммунологические особенности течения острого иксодового клещевого боррелиоза в Приморском крае : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.36 / Мандракова Наталья Владимировна. – Владивосток, 2005. – 25 с.

87. Манзенюк, И. Н. Клещевые боррелиозы (болезнь Лайма) / И. Н. Манзенюк, О. Ю. Манзенюк. – Кольцово, 2005. – 85 с.

88. Медяников, О. Ю. Клинико-эпидемиологическая характеристика клещевого риккетсиоза, вызываемого *R. heilongjiangensis* на Дальнем Востоке : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Медяников Олег Юрьевич. – М., 2004. – 23 с.

89. Методологические подходы применения молекулярно-генетических методов в изучении риккетсий и других протеобактерий / С. Н. Шпынов [и др.] // Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных болезней : материалы 4-й межгосударственной науч.-практ. конф. государств-участников СПГ. – Саратов, 2003. – С. 202–204.

90. Мишаева, Н. П. Гранулоцитарный анаплазмоз человека в Республике Беларусь / Н. П. Мишаева, И. И. Протас, В. В. Щерба // Здоровоохранение. – 2010. – № 11. – С. 19–21.

91. Нафеев, А. А. Современные особенности эпидемических проявлений природно-очаговых инфекций (геморрагической лихорадки с почечным синдромом, лептоспирозов, иксодовых клещевых боррелиозов, туляремии) и оптимизация эпидемиологического надзора за ними (на модели Ульяновской области) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.30 / Нафеев Александр Анатольевич. – СПб., 2007. – 37 с.

92. Никулина, М. А. Особенности клинического течения, состояния

системы гемостаза и реологические свойства крови у больных клещевым сыпным тифом Северной Азии : дис. ... канд. мед. наук : / Никулина. – Барнаул, 2000. – 128 с.

93. Новые возможности в серологической диагностике иксодовых клещевых боррелиозов с использованием иммуночипа / Т. А. Чеканова [и др.] // Клинич. лабораторная диагностика. – 2013. – № 12. – С. 51–55.

94. Новый способ серологической диагностики иксодового клещевого боррелиоза с помощью иммуночипа / Т. А. Чеканова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 1-2. – С. 339.

95. Оберт, А. С. Иксодовые клещевые боррелиозы: нозогеографические и медико-экологические аспекты / А. С. Оберт, В. Н. Дроздов, С. А. Рудакова. – Новосибирск : Наука, 2001. – 110 с.

96. Оберт, А. С. Сравнительная характеристика клиники клещевого риккетсиоза и анаплазмоза в Алтайском крае / А. С. Оберт, Н. В. Рудаков, Н. Н. Седых // Национальные приоритеты России. – 2009. – № 2. – С. 210–211.

97. Опыт диагностики и лечения клещевого риккетсиоза в г. Тюмень : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. уч. «Природно-очаговые и другие актуальные инфекции Сибири и Дальнего Востока» (16–18 сент. 2015 г.) / О. А. Любимцева [и др.] // Журн. инфектологии. – 2015. – Т. 7, № 3. – С. 53.

98. Организация эпидемиологического надзора за клещевым риккетсиозом: методические указания МУ 3.1.1755–03. – М. ФЦ Госсанэпиднадзора России, 2004.

99. Особенности клинических проявлений и лабораторной диагностики возвратной клещевой лихорадки, вызванной *Borrelia miyamotoi*, в Новосибирской области / Е. И. Краснова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2017. – № 2. – С. 10–15.

100. Первые данные о клиническом течении моноцитарного эрлихиоза в России / Е. В. Григорян [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2000. – № 6. – С. 20–23.

101. Перспективы серодиагностики природноочаговых инфекций методом мультиплексного флуоресцентного микроанализа / В. Г. Помелова [и др.] //

Национальные приоритеты России. – 2009. – № 2. – С. 61–63.

102. Петрищева, Г. В. Особенности формирования природных очагов иксодовых клещевых боррелиозов в лесостепных и степных ландшафтных провинциях : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Петрищева Галина Викторовна. – М., 2008. – 27 с.

103. Пивовар, О. И. Сравнительная характеристика течения иксодового клещевого боррелиоза в Кузбассе / О. И. Пивовар, У. Б. Калицкая, И. С. Шековцев // «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания» : матер. IV всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. уч. – Сочи, 2017. – С. 178–180.

104. Получение и экспериментальное изучение антигенов клещевых α -протеобактерий / Л. В. Кумпан [и др.] // Национальные приоритеты России. – 2014. – № 3 (13). – С. 49–52.

105. Помогаева, А. П. Клинические формы иксодового клещевого боррелиоза у детей Томской области и содержание железа, меди и магния в сыворотке крови / А. П. Помогаева, О. В. Обидина, М. О. Караваева // Инфекционные болезни. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 17–19.

106. Поражение нервной системы на отдаленных стадиях Лайм-боррелиоза / Н. С. Баранова [и др.] // Журн. неврологии и психиатрии. – 2010. – № 2. – С. 90–96.

107. Применение мультиплексного иммуночипового анализа (ФОСФАН) и полимеразной цепной реакции для лабораторной диагностики иксодовых клещевых боррелиозов / Т. И. Кузнецова [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2015. – № 2 (81). – С. 38–44.

108. Природно-очаговые клещевые нейроинфекции Западной Сибири / В. Н. Дроздов [и др.] – Кемерово, 1988. – С. 84–99.

109. Разработка тест-системы для определения РНК вируса Кемерово в формате ПЦР в реальном времени / В. Г. Дедков [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2012. – № 3. – С. 38–41.

110. Риккетсии и риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки в Сибири / Н. В. Рудаков [и др.] – Омск, 2012. – 288 с.

111. Рудаков, Н. В. Клещевой риккетсиоз / Н. В. Рудаков, А. С. Оберт. – Омск, 2001. – 120 с.
112. Рудаков, Н. В. Проблемы лабораторной диагностики риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки в России / Н. В. Рудаков, И. Е. Самойленко, Т. А. Решетникова // Клинич. лабораторная диагностика. – 2015. – № 1. – С. 50–52.
113. Рудаков, Н. В. Современные представления о риккетсиях и риккетсиозах / Н. В. Рудаков // Национальные приоритеты России. – 2009. – № 2. – С. 21–24.
114. Рудакова, С. А. Иксовые клещевые боррелиозы в Западной Сибири (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика) : пособие для врачей / сост. С. А. Рудакова, А. С. Оберт, В. Н. Дроздов. – Омск, 2005. – 36 с.
115. Руководство по инфекционным болезням : в 2-х кн. / под ред. проф. Ю. В. Лобзина, К. В. Жданова. – 4-е изд., доп. и перераб. – СПб. : Фолиант, 2011. – 744 с.
116. Рыжкова, И. В. Клиническая характеристика различных форм иксовых клещевых боррелиозов на территории Алтайского края : материалы Всерос. конф. с междунар. участием «Актуальные проблемы природной очаговости болезней» / И. В. Рыжкова, А. С. Оберт, С. А. Рудакова // Национальные приоритеты России. – 2009. – № 2 (Спец. вып.). – С. 195–197.
117. Сандугей, А. В. Оценка функционального состояния сердечно-сосудистой системы у больных лайм-боррелиозом в остром и хроническом периодах : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.05 / Сандугей Анна Владимировна. – Тверь, 2012. – 20 с.
118. Сахарук, О. В. Клинико-лабораторная характеристика и вопросы терапии клещевого риккетсиоза в Амурской области / О. В. Сахарук, В. В. Малеев // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2005. – № 2. – С. 48–51.
119. Сахарук, О. В. Особенности клиники и состояние гемостаза у больных клещевым риккетсиозом : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / Сахарук

Ольга Валерьевна. – Благовещенск, 2005. – 25 с.

120. Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях в Российской Федерации за январь-декабрь 2016 [электронный ресурс] // Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2017. – Режим доступа : rospotrebnadzor.ru/files/yanvar-decabr_2016.xlsx.

121. Сергеев, Н. Б. Клещевой сыпной тиф : дис. ... д-ра мед. наук / Сергеев Н. Б. – Киев, 1944. – 361 с.

122. Серологическая диагностика иксодового клещевого боррелиоза в новом формате иммуночипа / М. А. Смердова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – № 9. – С. 4.

123. Серонегативный вариант эритемной формы иксодовых клещевых боррелиозов / В. Ю. Тетерин [и др.] // Национальные приоритеты России. – 2011. – № 2 (Спец. вып.). – С. 177–179.

124. Симакова, А. И. Иксодовый клещевой боррелиоз в Приморском крае / А. И. Симакова // Тихоокеанский мед. журн. – 2005. – № 1. – С. 68–71.

125. Совершенствование методов серологической диагностики в системе эпидемиологического надзора за риккетсиозами группы клещевой пятнистой лихорадки / Н. В. Абрамова [и др.] // Национальные приоритеты России. – 2009. – № 2. – С. 87–90.

126. Современное состояние проблемы риккетсиозов в России и новые подходы к классификации болезней, вызываемых риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки / Н. В. Рудаков [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5 (87), Ч. 1. – С. 109–113.

127. Современные подходы к изучению Rickettsiales / Н. В. Рудаков [и др.] // Бюл. сибирской медицины. – 2006. – Т. 5, № 1. – С. 111–116.

128. Состояние показателей периферической крови при клещевом риккетсиозе / К. А. Аитов [и др.] // Современная ситуация и перспективы борьбы с клещевыми инфекциями в XXI веке : тез. докл. всерос. науч.-практ. конф. – Томск, 2006. – С. 13–15.

129. Состояние системы гемостаза у больных клещевым риккетсиозом / И. Г. Ямпилова [и др.] // Сибирский мед. журн. – 2008. – № 7. – С. 18–21.
130. Сравнительный анализ эффективности выявления ДНК риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок в разных видах клинического материала и возможность видовой идентификации возбудителя методом ПЦР / Л. С. Карань [и др.] // Инфекционные болезни. – 2015. – Т. 13, № 2. – С. 25–29.
131. Сумливая, О. Н. Постинфекционный синдром у реконвалесцентов иксодовых клещевых боррелиозов / О. Н. Сумливая, Н. Н. Воробьева, Ю. В. Каракулова // Журн. инфектологии. – 2014. – Т. 6, № 4. – С. 27–32.
132. Супрун, Д. А. Иксодовые клещевые боррелиозы: клиничко–лабораторная диагностика и лечение в раннем периоде инфекционного процесса : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 / Супрун Дмитрий Александрович. – СПб., 2006. – 22 с.
133. Тарасевич, И. В. Современные представления о риккетсиозах / И. В. Тарасевич // Клинич. микробиология, антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 119–129.
134. Тарбеев, А. К. Клиничко-эпидемиологические особенности лайм-боррелиоза в Иркутской области и оценка эффективности его лабораторной диагностики : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.30 / Тарбеев Анатолий Кириллович. – Иркутск, 2004. – 18 с.
135. Тетерин, В. Ю. Оптимизация лабораторной диагностики и клинические особенности иксодовых клещевых боррелиозов, гранулоцитарного анаплазмоза человека : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.09 / Тетерин Владимир Юрьевич. – М., 2013. – 23 с.
136. Томилка, Г. С. Клиничко-эпидемиологические особенности течения и диагностики клещевого риккетсиоза Северной Азии / Г. С. Томилка, Г. С. Ковальский, И. С. Старостина // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1990. – № 8. – С. 47–49.
137. Усков, А. Н. Смешанные инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в Северо-Западном регионе России (клиника, диагностика, лечение) :

автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.10 / Усков Александр Николаевич. – СПб., 2003. – 40 с.

138. Феоктистов, Г. И. Клещевой сыпной тиф в Иркутской области / Г. И. Феоктистов // Мед. бюллетень. – Иркутск, 1958. – С. 196–202.

139. Филиппова, Н. А. Фауна СССР / Н. А. Филиппова. – Т. IV, вып. 4: Паукообразные. – Л. : Наука, 1977. – С. 396.

140. Фильберт, В. Е. Характеристика Лайм-боррелиоза в Самарской области / В. Е. Фильберт, Р. Р. Галимова, Е. А. Стребкова // Инфекционные болезни: проблемы здравоохранения и военной медицины : материалы рос. науч.-практ. конф., посвящ. 110-летию кафедры инфекционных болезней ВМА им. С. М. Кирова. – СПб., 2006. – С. 301.

141. Фундаментальные и прикладные аспекты изучения риккетсиозов и сочетанных инфекций в России : материалы междунар. науч. конф. «Клещевой энцефалит и другие инфекции, переносимые клещами», посвящ. 75-летию открытия вируса клещевого энцефалита / Н. В. Рудаков [и др.] // Сибирский мед. журнал (Иркутск). – 2012. – Т. 111, № 4. – С. 5–8.

142. Цыганков, Г. М. Клиника дальневосточного клещевого сыпного тифа / Г. М. Цыганков // Клинич. медицина. – 1948. – № 6. – С. 69–76.

143. Экология и молекулярная эпидемиология новых и возвращающихся природно-очаговых инфекций / Н. В. Рудаков [и др.] // Развитие международного сотрудничества в области изучения инфекционных заболеваний : материалы междунар. конф. – Новосибирск, 2004.

144. Эпидемиологический надзор за клещевым риккетсиозом. Иммунодиагностика заболевания и методы выявления возбудителя: методические рекомендации / МЗ СССР ; сост. В. К. Ястребов [и др.] – Омск, 1992. – 38 с.

145. Якушева, С. С. Иммунодиагностические особенности клещевых инфекций в Приморском крае : Клещевой энцефалит, иксодовые клещевые боррелиозы, клещевой риккетсиоз : автореф. дис. ... канд. мед. наук 14.00.36 / Якушева Светлана Сергеевна. – Владивосток, 2002. – 23 с.

146. A case of meningoencephalitis by the relapsing fever spirochaete *Borrelia*

miyamotoi in Europe / J. W. Hovius [et al.] // *Lancet*. – 2013. – Vol. 382. – P. 658.

147. A two year prospective study to compare culture and polymerase chain reaction amplification for the detection and diagnosis of Lyme borreliosis / M. M. Picken [et al.] // *Mol. Pathol.* – 1997. – Vol. 50. – P. 186–193.

148. Abu Al-Soud, W. Purification and characterization of PCR-inhibitory components in blood cells / W. Abu Al-Soud, P. Radstrom // *J. Clin. Microbiol.* – 2001. – Vol. 39. – P. 485–493.

149. Acute Tick-borne Rickettsiosis caused by *Rickettsia heilongjiangensis* in Russian Far East / O. Y. Mediannikov [et al.] // *Emerg Infect Dis.* – 2004. – Vol. 10, № 5. – P. 810–817.

150. Assessment of real-time PCR assay for detection of *Rickettsia* spp. and *Rickettsia rickettsii* in banked clinical samples / C. Y. Kato [et al.] // *J Clin Microbiol.* – 2013. – Vol. 51, № 1. – P. 314–317.

151. Bakken, J. S. Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis / J. S. Bakken, J. S. Dumler // *Ann NY Acad Sci.* – 2006. – № 1078. – P. 236–247.

152. Barenfanger, J. Identifying human ehrlichiosis / J. Barenfanger, J. S. Dumler, D. H. Walker // *Lab. Med.* – 1996. – Vol. 27. – P. 372–374.

153. Bloodstream invasion in early Lyme disease: results from a prospective, controlled, blinded study using the polymerase chain reaction / J. L. Goodman [et al.] // *Am. J. Med.* – 1995. – Vol. 99. – P. 6–12.

154. *Borrelia miyamotoi* infection presenting as human granulocytic anaplasmosis: a case report / H. R. Chowdri [et al.] // *Ann Intern Med.* – 2013. – Vol. 159. – P. 21–27.

155. *Borrelia miyamotoi* sensu lato seroreactivity and seroprevalence in the northeastern United States / P. J. Krause [et al.] // *Emerg Infect Dis.* – 2014. – Vol. 20. – P. 1183–1190.

156. Brogan, G. X. The enlarging clinical spectrum of Lyme disease: Lyme cerebral vasculitis, a new disease entity / G. X. Brogan, C. S. Homan, P. Viccellio // *Ann Emerg Med.* – 1990. – Vol. 19, № 5. – P. 572–576.

157. Bunikis, J. Laboratory testing for suspected Lyme disease / J. Bunikis, A. G. Barbour // *Med Clin N Am.* – 2002. – Vol. 86. – P. 311–339.
158. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for test performance and interpretation from the Second national Conference on Serologic Diagnosis of Lyme Disease / Centers for Disease Control and Prevention (CDC) // *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep.* – 1995. – Vol. 44. – P. 590–591.
159. Circulating *Borrelia burgdorferi* in patients with acute Lyme disease: results of blood cultures and serum DNA analysis / F. R. Wallach [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1993. – Vol. 168. – P. 1541–1543.
160. Clinical findings and diagnosis in human granulocytic anaplasmosis: a case series from Massachusetts / A. A. Weil [et al.] // *Mayo Clin Proc.* – 2012. – Vol. 87, № 3. – P. 233–239.
161. Comparison of clinical and laboratory characteristics of patients fulfilling criteria for proven and probable human granulocytic anaplasmosis / S. Lotrič-Furlan [et al.] // *Microbes Infect.* – 2015. – Vol. 17, № 11–12. – P. 829–833.
162. Comparison of detection of *Borrelia burgdorferi* DNA and anti-*Borrelia burgdorferi* antibodies in patients with erythema migrans in north-eastern Poland / A. Moniuszko [et al.] // *Postepy Dermatol Alergol.* – 2015. – Vol. 32, № 1. – P. 11–14.
163. Comparison of five diagnostic modalities for direct detection of *Borrelia burgdorferi* in patients with early Lyme disease / D. Liveris [et al.] // *Diagn Microbiol Infect Dis.* – 2012. – Vol. 73. – P. 243–245.
164. Comparison PCR method with serology and blood smear analysis for diagnosis of human anaplasmosis: importance of infection time course for optimal test utilization / A. M. Schotthoefer [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2013. – Vol. 51. – P. 2147–2153.
165. Correlation of tests for detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in patients with diagnosed borreliosis / J. Chmielewska-Badora [et al.] // *Ann. Agric. Environ. Med.* – 2006. – Vol. 13. – P. 307–311.
166. Cross-reaction of immune sera from patients with rickettsial diseases / K. E. Hechemy [et al.] // *J. Med. Microbiol.* – 1989. – Vol. 29, № 3. – P. 199–202.

167. Current and Future trends in the clinical diagnosis of Rickettsioses Sensu Lato / S. Missailidis, D.T. Godoy, M.A. Mares-Guia [et al.] // *Int J trop dis health.* – 2014. – Vol. 4, № 2. – P. 147–181.

168. D'Alessandro, M. Management of Lyme Disease in European Children: a Review for Practical Purpose / M. D'Alessandro, A. Loy, E. Castagnola // *Curr Infect Dis Rep.* – 2017. – Vol. 19, № 8. – P. 27.

169. Detection and genetic characterization of a wide range of infectious agents in *Ixodes pavlovskyi* ticks in Western Siberia, Russia / V. Rar [et al.] // *Parasit Vectors.* – 2017. – № 10 (1). – P. 258.

170. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis – United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals / A. S. Chapman [et al.] // *MMWR Recomm Rep.* – 2006. – Vol. 55 (RR-4). – P. 1–27.

171. Diagnosis of early Lyme disease by polymerase chain reaction amplification and culture of skin biopsies from erythema migrans lesions / I. Schwartz [et al.] // *J Clin Microbiol.* – 1992. – Vol. 30. – P. 3082–3088.

172. Diagnosis of human ehrlichiosis by PCR assay of acute-phase serum / J. A. Comer [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology.* – 1999. – Vol. 37, № 1. – P. 31–34.

173. Diagnosis of Lyme Borreliosis / M. E. Aguero-Rosenfeld [et al.] // *Clin Microbiol Rev.* – 2005. – Vol. 18, № 3. – P. 484–509.

174. Diagnostic value of PCR for detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in clinical specimens from patients with erythema migrans and Lyme neuroborreliosis / A. M. Lebech [et al.] // *Mol. Diagn.* – 2000. – Vol. 5. – P. 139–150.

175. Diagnostic value of PCR for detection of *Borrelia burgdorferi* in skin biopsy and urine samples from patients with skin borreliosis / S. Brettschneider [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 1998. – Vol. 36. – P. 2658–2665.

176. Differences and similarities between culture-confirmed human granulocytic anaplasmosis and early lyme disease / G. P. Wormser [et al.] // *J Clin Microbiol.* – 2013. – Vol. 51, № 3. – P. 954–958.

177. Differentiation of medically important Euro-Asian tick species *Ixodes ricinus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes hexagonus*, and *Dermacentor reticulatus* by polymerase chain reaction / L. Rumer [et al.] // *Vector Borne Zoonotic Dis.* – 2011. – Vol. 11, № 7. – P. 899–905.
178. Dumler, J. S. Persistent infection with *Ehrlichia chaffeensis* / J. S. Dumler, W. L. Sutker, D. H. Walker // *Clin. Infect. Dis.* – 1993. – Vol. 17. – P. 903–905.
179. Ecology and epidemiology of spotted fever group *Rickettsiae* and new data from their study in Russia and Kazakhstan / N. V. Rudakov [et al.] // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2003. – Vol. 990 (*Rickettsiology: present and future directions*). – P. 12–24.
180. *Ehrlichia* spp. in cervids from California / J. E. Foley [et al.] // *J. Wildlife Dis.* – 1998. – Vol. 34, № 4. – P. 731–737.
181. Ehrlichioses in human: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment / J. S. Dumler [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2007. – Vol. 45, Suppl 1. – P. S45–51.
182. Ehrlichiosis and anaplasmosis: Zoonotic Species. Advancing the art and science of medicine in the Midwest. – Wisconsin Medical Society, 2014. – P. 1–14.
183. Epidemiological, clinical and laboratory characteristics of patients with human granulocytic anaplasmosis in Slovenia / S. Lotric-Furlan [et al.] // *Wien Klin Wochenschr.* – 2006. – Vol. 118, № 21-22. – P. 708–713.
184. Everett, E. D. Human ehrlichiosis in adults after tick exposure-diagnosis using polymerase chain reaction / E. D. Everett, K. A. Evans, R. B. Henry // *Ann. Intern. Med.* – 1994. – Vol. 120. – P. 730–735.
185. Fallon, B. A. Lyme disease: a neuropsychiatric illness / B. A. Fallon and J. A. Nields // *Am J Psychiatry.* – 1994. – Vol. 151, № 11. – P. 1571–1583.
186. Finkel, M. F. The progressive paralytic disorders associated with Lyme disease / M. F. Finkel // *Semin Neurol.* – 1994. – Vol. 13, № 3. – P. 299–304.
187. Fishbein, D. B. Human ehrlichiosis in the United States, 1985 to 1990 / D. B. Fishbein, J. E. Dawson, L. E. Robinson // *Ann. Intern. Med.* – 1994. – Vol. 120. – P. 736–743.
188. Garakani, A. New-Onset Panic, Depression with Suicidal Thoughts, and

Somatic Symptoms in a Patient with a History of Lyme Disease / A. Garakani, A. G. Mitton // *Case Rep Psychiatry*. – 2015. – Vol. 2015. – P. 457947.

189. Genetic and Environmental Contributions to Carotid Intima-Media thickness and obesity phenotypes in the Northern Manhattan Family Study / S. H. Juo [et al.] // *Stroke*. – 2004. – Vol. 35, № 10. – P. 2243–2247.

190. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe / P. Brouqui [et al.] // *Clin Microbiol Infect*. – 2004. – Vol. 10, № 12. – P. 1108–1132.

191. Heller, J. Immunological differentiation between neuroborreliosis and multiple sclerosis / J. Heller, G. Holzer, K. Schimrigk // *J Neurol*. – 1990. – Vol. 237, № 8. – P. 465–470.

192. Hernández-Montfort, J. A. Looking back at Lyme carditis / J. A. Hernández-Montfort, M. Awkal, J. A. Martagón-Villamil // *The American journal of medicine*. – 2010. – Vol. 123, № 6. – P. 9–10.

193. Host DNA can interfere with detection of *Borrelia burgdorferi* in skin biopsy specimens by PCR / F. B. Cogswell [et al.] // *J. Clin. Microbiol*. – 1996. – Vol. 34. – P. 980–982.

194. Human *Borrelia miyamotoi* infection in the United States / P. J. Krause [et al.] // *N Engl J Med*. – 2013. – Vol. 368. – P. 291–293.

195. Human disease in Europe caused by granulocytic *Ehrlichia* species / M. Petrovec [et al.] // *J Clin Microbiol*. – 1997. – Vol. 35. – P. 1556–1559.

196. Human granulocytic anaplasmosis in eastern France: clinical presentation and laboratory diagnosis / C. Koebel [et al.] // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. – 2012. – Vol. 72. – P. 214–218.

197. Human infection with *Candidatus Rickettsia tarasevichiae* / N. Jia [et al.] // *N Engl J Med*. – 2013. – Vol. 369, № 12. – P. 1178–1180.

198. Human infections with *Borrelia miyamotoi* / K. Sato [et al.] // *Jpn Emerg Infect Dis*. – 2014. – Vol. 20. – P. 1391–1393.

199. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia / A. E. Platonov [et al.] // *Emerg Infect Dis*. – 2011. – Vol. 17. – P. 1816–1823.

200. Ismail, N. Human ehrlichiosis and anaplasmosis / N. Ismail, K. C. Bloch,

J. W. McBride // *Clin Lab Med.* – 2010. – Vol. 30, № 1. – P. 261–292.

201. Kaphle, U. A Rare Case of ARDS From Human Anaplasmosis / U. Kaphle, F. Kheir, S. Thammasitboon // *Respir. Care.* – 2015. – Vol. 60, № 7. – P. 125–127.

202. Karki, P. Anaplasma phagocytophilum infection induces apoptosis in HL-60 cells / P. Karki, J. W. Ijdo // *World J Microbiol Biotechnol.* – 2011. – Vol. 27, № 11. – P. 2741–2746.

203. Laboratory techniques for patients with early Lyme disease associated with erythema migrans: a comparison of different techniques / J. Nowakowski [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2001. – Vol. 15. – P. 2023–2027.

204. Late-stage neuropsychiatric Lyme borreliosis: differential diagnosis and treatment / B. A. Fallon [et al.] // *Psychosomatics.* – 1995. – Vol. 36, № 3. – P. 295–300.

205. Lebech, A. M. Polymerase chain reaction in diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infections and studies on taxonomic classification / A. M. Lebech // *APMIS Suppl.* – 2002. – Vol. 105. – P. 1–40.

206. Lyme Borreliosis and Tick-Borne Encephalitis / eds. P. Oschmann [et al.]. – Bremen, 1999. – 144 p.

207. Lyme borreliosis in Europe / A. Rizzoli [et al.] // *Euro Surveill.* – 2011. – Vol. 16, № 27. – P. 1–8.

208. Lyme disease in Haryana, India / V. Jairath [et al.] // *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* – 2014. – Vol. 80, № 4. – P. 320–323.

209. Meningoencephalitis from *Borrelia miyamotoi* in an immunocompromised patient / J. L. Gugliotta, H. K. Goethert, V. P. Berardi, S. R. Telford 3rd // *N Engl J Med.* – 2013. – Vol. 368. – P. 240–245.

210. Molecular and serological diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infection among patients with diagnosed Erythema migrans / M. Kondrusik [et al.] // *Ann. Agric. Environ. Med.* – 2007. – Vol. 14. – P. 209–213.

211. Molecular identification of a collection of spotted Fever group rickettsiae obtained from patients and ticks from Russia / S. N. Shpynov [et al.] // *Am J Trop Med Hyg.* – 2006. – Vol. 74, № 3. – P. 440–443.

212. Parola, P. Tick-Borne Rickettsioses around the World: Emerging Diseases

Challenging Old Concepts / P. Parola, C. D. Paddock, D. Raoult // *Clin Microbiol Rev.* – 2005. – Vol. 18, № 4. – P. 719–756.

213. Polymerase chain reaction for detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in skin lesions of early and late Lyme borreliosis / L. V. von Stedingk [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 1995. – Vol. 14. – P. 1–5.

214. Prevalence of Kemerovo virus in ixodid ticks from the Russian Federation / V. G. Dedkov [et al.] // *Ticks Tick Borne Dis.* – 2014. – Vol. 5, № 6. – P. 651–655.

215. Prevalence of Kemerovo virus in ixodid ticks from the Russian Federation / V. G. Dedkov [et al.] // *Ticks Tick Borne Dis.* – 2014. – № 5 (6). – P. 651–5.

216. Psychiatric comorbidity and other psychological factors in patients with «chronic Lyme disease» / L. Hassett [et al.] // *Am J Med.* – 2009. – Vol. 122, № 9. – P. 843–850.

217. Quantitative detection of *Borrelia burgdorferi* in 2–millimeter skin samples of erythema migrans lesions: correlation of results with clinical and laboratory findings / D. Liveris [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2002. – Vol. 40. – P. 1249–1253.

218. Regelin, N. Images in clinical medicine. Disseminated Lyme Disease / N. Regelin, E. Montaruli // *N Engl J Med.* – 2015. – Vol. 372, № 22. – P. 2136.

219. Report on Isolation from *Ixodes persulcatus* ticks and from patients in Western Siberia of a virus differing from agent of tick–borne encephalitis / M. P. Chumakov [et al.] // *Acta Virol.* – 1963. – Vol. 7, № 1. – P. 82–83.

220. *Rickettsia slovaca* infection: DEBONEL/TIBOLA / V. Ibarra [et al.] // *Ann N Y Acad Sci.* – 2006. – Vol. 1078. – P. 206–214.

221. Rolain, J. M. Spotted-fever-group rickettsioses in north Asia / J. M. Rolain, S. Shpynov, D. Raoult // *Lancet.* – 2003. – Vol. 362. – P. 1939.

222. Rosa, P. A. A specific and sensitive assay for the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* using the polymerase chain reaction / P. A. Rosa, T. G. Schwan // *J. Infect. Dis.* – 1989. – Vol. 160, № 6. – P. 1018–1029.

223. Rudakov, N. V. Tick-borne rickettsiosis in Russia (epidemiology and current conditions of natural foci) / N. V. Rudakov // *Rickettsiae and Rickettsial Diseases : Proceedings of the Vth International Symposium.* – Bratislava: VEDA, 1996.

– P. 216–219.

224. Ružić-Sabljić, E. Progress in the molecular diagnosis of Lyme disease / E. Ružić-Sabljić, T. Cerar // *Expert Rev Mol Diagn.* – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 19–30.

225. Rymaszewska, A. PCR for detection of tick-borne *Anaplasma phagocytophilum* pathogens: a review / A. Rymaszewska // *Veterinarni Medicina.* – 2011. – Vol. 56, № 11. – P. 529–536.

226. Satz, N. Klinik der Lyme-Borreliose/ N. Satz – Verlag Hans Huber, Bern, 2002.

227. Schotthoefer, A. M. A clinical, diagnostic, and ecologic perspective on human anaplasmosis in the Upper Midwest / A. M. Schotthoefer, J. K. Meece, T. R. Fritsche // *WMJ.* – 2014. – Vol. 113, № 3. – P. 107–114.

228. Shapiro, E. D. Clinical practice. Lyme disease / E. D. Shapiro // *N Engl J Med.* – 2014. – Vol. 370, № 18. – P. 1724–1731.

229. Sherr, V. T. Panic attacks may reveal previously unsuspected chronic disseminated lyme disease / V. T. Sherr // *J Psychiatr Pract.* – 2000. – Vol. 6, № 6. – P. 352–356.

230. Sibilja, J. Rheumatologic manifestations of lyme borreliosis / J. Sibilja, B. Jaulhac, F. X. Limbach // *Rev. Med. Interne.* – 2002. – Vol. 23, № 4. – P. 378–385.

231. Spirochetes isolated from the blood of two patients with Lyme disease / J. L. Benach [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1983. – Vol. 308. – P. 740–742.

232. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe / P. Brouqui [et al.] // *FEMS Immunol Med Microbiol.* – 2007. – Vol. 49, № 1. – P. 2–12.

233. Stenos, J. A highly sensitive and specific real-time PCR assay for the detection of spotted fever and typhus group rickettsiae / J. Stenos, S. R. Graves, N. B. Unsworth // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2005. – Vol. 73, № 6. – P. 1083–1085.

234. Stuenkel, S. Human anaplasmosis – a hidden disease in Norway? / S. Stuenkel, K. Bergstrom // *Tidsskr Nor Laegeforen.* – 2008. – Vol 128, № 22. – P. 2579–2581.

235. Szekeres, S. *Borrelia miyamotoi*: a recently identified human pathogenic tick-borne relapsing fever spirochete / S. Szekeres, A. Lakos, G. Földvári // *Orv Hetil.* – 2017. – Vol. 158, № 29. – P. 1124–1130.

236. Tarasevich, I. Rickettsial diseases in Russia / I. Tarasevich, O. Mediannikov // *Century of rickettsiology: Emerging, reemerging rickettsioses, molecular diagnostics and emerging veterinary rickettsioses* / eds. K. E. Hechemy, C. Tsigos, J. A. Oteo. – NY : Wiley, 2006. – P. 48–59.

237. The clinical assessment treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America / G. P. Wormser [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2006. – Vol. 43, № 9. – P. 1089–1134.

238. The re-emerging of Siberian tick typhus: field and experimental observations / N. V. Rudakov [et al.] // *Rickettsiae and Rickettsial Diseases at the Turn of the Third Millenium.* – Paris : Elsevier, 1999. – P. 269–273.

239. Thomas, R. J. Current management of human granuloctytic anaplasmosis, human monocytic erlichiosis and Ehrlichia ewingii ehrlichiosis / R. J. Thomas, J. S. Dumler, J. A. Carlyon // *Expert Rev Anti Infect Ther.* – 2009. – Vol. 7, № 6. – P. 709–722.

240. Tiger, J. B. Bullous Lyme disease / J. B. Tiger, M. A. Guill III, M. S. Chapman // *J Am Acad Dermatol.* – 2014. – Vol. 71, № 4. – P. e133–134.

241. To test or not to test? Laboratory support for the diagnosis of Lyme borreliosis / R. B. Dessau [et al.] // *Clin Microbiol Infect.* – 2017. – pii: S1198-743X (17). – P. 30488–3.

242. Vaccination against Lyme disease with recombinant Borrelia burgdorferi outer-surface lipoprotein A with adjuvant / A. C. Steere [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1998. – Vol. 339. – P. 209–215.

243. Van Dam, A. P. Recent advances in the diagnosis of Lyme disease / A. P. Van Dam // *Exp. Rev. Mol. Diagn.* – 2001. – Vol. 1. – P. 413–427.

244. Verhaegh, D. The role of host immune cells and Borrelia burgdorferi antigens in the etiology of Lyme disease / D. Verhaegh, L. A. B. Joosten, M. Oosting // *Eur Cytokine Netw.* – 2017. – Vol. 28, № 2. – P. 70–84.

245. Vig, D. K. Spatiotemporal Evolution of Erythema Migrans, the Hallmark Rash of Lyme Disease / D. K. Vig, C. W. Wolgemuth // *Biophys. J.* – 2014. – Vol. 106,

Is. 3. – P. 763–768.

246. Widespread use of real–time PCR for rickettsial diagnosis / A. Renvoisé [et al.] // FEMS Immunol Med Microbiol. – 2012. – Vol. 64, № 1. – P. 126–129.

247. Wilske, B. Diagnosis of Lyme borreliosis in Europe / B. Wilske // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2003. – Vol. 3, № 4. – P. 215–227.

248. Wilske, B. Microbiological diagnosis in Lyme borreliosis / B. Wilske // Int J Med Microbiol. – 2002. – Vol. 291, Suppl 33. – P. 114–119.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Дизайн исследования (пациенты). С. 48
2. Рисунок 2 – Дизайн исследования (клещи). С. 57
3. Рисунок 3 – Распределение больных клещевыми инфекциями, %, (2013–2016 гг.). С. 59
4. Рисунок 4 – Сезонность госпитализации больных сибирским клещевым тифом в стационар, р % (2013–2016 гг.). С. 69
5. Рисунок 5 – Распределение больных сибирским клещевым тифом по полу и возрасту, р % (2013–2016 гг.). С. 70
6. Рисунок 6 – Распределение больных сибирским клещевым тифом по длительности лихорадочного периода, р % (2013–2016 гг.). С. 72
7. Рисунок 7 – Распределение больных сибирским клещевым тифом по длительности экзантемы, р % (2013–2016 гг.). С. 75
8. Рисунок 8 – Сыпь на коже туловища у больного К. С. 81
9. Рисунок 9 – Сезонность госпитализации больных иксодовым клещевым боррелиозом в стационар, р % (2013–2016 гг.). С. 86
10. Рисунок 10 – Распределение больных иксодовым клещевым боррелиозом по полу и возрасту (2013–2016 гг.). С. 87
11. Рисунок 11 – Структура больных клещевыми микст-инфекциями, % (2013–2016 гг.). С. 98
12. Рисунок 12 – Сезонность госпитализации больных клещевыми микст-инфекциями в стационар, р % (2013–2016 гг.). С. 99
13. Рисунок 13 – Распределение больных клещевыми микст-инфекциями по полу и возрасту (2013–2016 гг.). С. 100
14. Рисунок 14 – Частота встречаемости клинических симптомов при клещевых микст-инфекциях («наиболее часто встречающиеся симптомы», р %). С. 102
15. Рисунок 15 – Частота встречаемости клинических симптомов при

	клещевых микст-инфекциях («часто встречающиеся симптомы», р %).	C. 103
16.	Рисунок 16 – Частота встречаемости клинических симптомов при клещевых микст-инфекциях («редко встречающиеся симптомы», р %).	C. 105
17.	Рисунок 17 – Спонтанная инфицированность клещей рода <i>Ixodes</i> , с территории Алтайского края, 2013–2015 гг., р % (n = 173).	C. 114
18.	Рисунок 18 – Спонтанная инфицированность клещей с территории Алтайского края 2013–2015 гг. (микст-инфекции, n = 43).	C. 115
19.	Рисунок 19 – Инфицированность клещей от людей, подвергшихся их нападению, 2013–2015 гг. (n = 82).	C. 117
20.	Таблица 1 – Олигонуклеотидные праймеры для обнаружения риккетсий группы КПЛ.	C. 51
21.	Таблица 2 – Структура олигонуклеотидных праймеров для типирования риккетсий.	C. 52
22.	Таблица 3 – Сравнительный анализ частоты встречаемости основных клинических проявлений клещевого риккетсиоза у «серопозитивных», «ПЦР-позитивных» и «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов.	C. 63
23.	Таблица 4 – Сравнительный анализ длительности основных клинических проявлений клещевого риккетсиоза у «серопозитивных», «ПЦР-позитивных» и «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов.	C. 64
24.	Таблица 5 – Сравнительный анализ основных лабораторных показателей у «серопозитивных», «ПЦР-позитивных» и «серонегативных и ПЦР-негативных» пациентов с клещевым риккетсиозом.	C. 65
25.	Таблица 6 – Сроки поступления больных сибирским клещевым тифом в стационар от момента начала заболевания (2013–2016гг.).	C. 69

26. Таблица 7 – Критерии степени тяжести у больных сибирским клещевым тифом. С. 77
27. Таблица 8 – Сроки поступления больных иксодовым клещевым боррелиозом в стационар от момента начала заболевания (2013–2016 гг.). С. 85
28. Таблица 9 – Распределение больных иксодовым клещевым боррелиозом по социальному признаку (2013–2016 гг.). С. 87
29. Таблица 10 – Сроки инкубационного периода у больных иксодовым клещевым боррелиозом (2013–2016 гг.). С. 89
30. Таблица 11 – Частота встречаемости и длительность клинических симптомов у больных иксодовым клещевым боррелиозом (2013–2016 гг.). С. 92
31. Таблица 12 – Лабораторные показатели у больных иксодовым клещевым боррелиозом (2013–2016 гг.). С. 93
32. Таблица 13 – Критерии степени тяжести у больных иксодовым клещевым боррелиозом. С. 94
33. Таблица 14 – Сроки поступления больных микст-инфекциями в стационар от момента начала заболевания (2013–2016 гг.). С. 99
34. Таблица 15 – Лабораторные показатели у больных клещевыми микст-инфекциями (2013–2016 гг.). С. 106
35. Таблица 16 – Критерии степени тяжести у больных клещевыми микст-инфекциями. С. 107
36. Таблица 17 – Видовое соотношение клещей, собранных с территории Алтайского края. С. 112
37. Таблица 18 – Видовая принадлежность клещей от людей, подвергшихся их нападению. С. 116

Результаты лабораторных исследований:**Общий анализ крови:**

Дата	L	Эр	Тб	НВ	ретикул	СОЭ	формула				
							Э	П	С	Л	М
	<i>MCV</i>	<i>HCT</i>	<i>MCH</i>	<i>MCHC</i>	<i>RDW</i>	<i>MPV</i>	<i>PDW</i>	<i>PCT</i>			

Общий анализ мочи:

Дата	цвет	плотность	прозрачность	белок	Лейкоциты	эритроциты	эпителий	цилиндры	соли

Биохимическое исследование крови:

показатель	Дата	Результаты анализа				показатель	Дата	Результаты анализа			
		1	2	3	4			1	2	3	4
Общий бил.						ПТИ %					
Непрямой бил.						Фибриноген					
Прямой бил.						В-ЛП ед.					
Тимол Проба ед.						ЩФ					
АлАТ						Холестерин					
АсАТ						Общ.белок					
γ-ГТП											

Серологическое исследование:

Метод	Дата забора/возбудитель	День забора от начала болезни	Результат	Дата забора/возбудитель	День забора	Результат

Молекулярно-биологическое исследование:

Материал	Дата забора/возбудитель	День забора от начала болезни	Результат	Дата забора	День забора	Результат

ЭКГ

УЗИ внутренних органов: Печень не выступает/выступает из-под края реберной дуги на _____ см
 КВР правой доли _____ мм, КВР левой доли _____ мм, Контуры ровные/бугристые/волнистые, край острый/закруглен.
 Эхоструктура: однородная/неоднородная/мелкозернистая/средней зернистости/крупнозернистая
 Эхоплотность: не изменена/понижена/умеренно повышена/повышена/гиперэхогенная
 Общий желчный проток: не лоцируется/нормального калибра/расширен
 Внутривенные протоки: _____ правый долевым, _____ левой долевым
 Общий печеночный _____
 Воротная вена: нормального размера/расширена _____
 Нижняя полая вена: _____ мм
 Доп. образования: _____
 Др. органы _____
 Заключение: _____

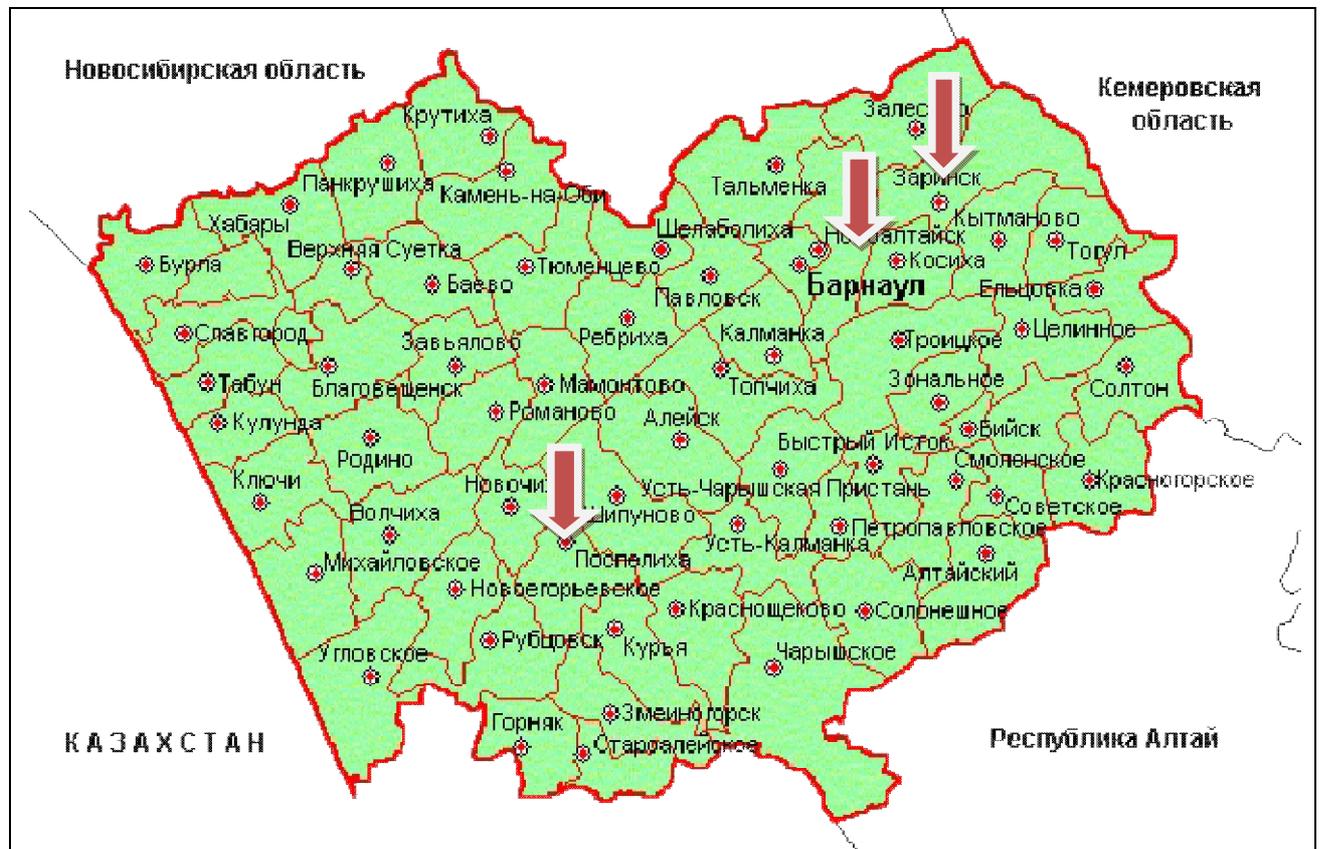
Рецидив: на какой день реконвалесценции _____, симптомы _____

Осложнения:

Исход: выписан с выздоровлением, с остаточными явлениями _____
 Пигментация сыпи – да/нет, ПА – некроз/пигментация/инфильтрация, РЛ – да/нет _____
 Дополнительно: _____

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(справочное)

Карта Алтайского края



Примечание:  указаны территории, где проводился сбор клещей.