

На правах рукописи

Бесхлебова Ольга Васильевна

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

14.01.09 – инфекционные болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, профессор **Гранитов Владимир Михайлович**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Аитов Курбандурды**
(Иркутский государственный медицинский университет, профессор кафедры инфекционных болезней)

доктор медицинских наук, профессор **Рудаков Николай Викторович**
(Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций, директор)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» (г. Санкт-Петербург)

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2018 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.01 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52, тел. (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52, <http://www.ngmu.ru/dissertation/429>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

Патурина Наталья Георгиевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. С начала XXI века в отдельных регионах Российской Федерации сохраняются высокие показатели заболеваемости клещевыми инфекциями с природной очаговостью (Аитов К. А., 2005; Лобзин Ю. В. и соавт., 2010; Рудаков Н. В. и соавт., 2012). Наличие регионарных особенностей распространенности и клинической картины этой группы заболеваний диктует необходимость их комплексного изучения в каждом из субъектов России (Алешковская Е. С., 2009; Андропова Е. В., 2011; Тетерин Ю. В. и соавт., 2013).

Алтайский край является эндемичным по ряду природно-очаговых заболеваний, переносчиками которых являются клещи: сибирский клещевой тиф (СКТ), иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), клещевой энцефалит (КЭ), гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ). В работах приведено описание отдельных нозологий: сибирский клещевой тиф, иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой энцефалит (Арсеньева И. В., 2011; Гранитов В. М., 1988; Никулина М. А., 2000; Рыжков И. В. и соавт., 2009). 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, недостаточная настороженность врачей в отношении безэритемных форм ИКБ ведет к его гиподиагностике. Отсутствуют четкие алгоритмы обследования больных с подозрением на клещевые инфекции, позволяющие осуществлять диагностику данной группы заболеваний.

Степень разработанности темы диссертации. По данным ресурса PubMed, за последние 5 лет опубликовано более 5 тысяч статей, посвященных клещевым инфекциям. По данным Elibrary, за этот же период опубликовано около 100 русскоязычных работ по данной проблеме. Классическая клиническая картина СКТ описана еще в работах советских ученых (Здродовский П. Ф., 1972; Ковальский А. Г., 1990; Томилка Г. С., 1990), ИКБ – в работах отечественных и зарубежных ученых конца 80-х–начала 90-х годов XX века (Коренберг Э. И., 1996; Brogan G. X., 1990).

Совершенствование лабораторной диагностики клещевых инфекций позволило пополнить клиническую характеристику этих болезней описанием атипичных форм СКТ, безэритемных форм ИКБ (Воробьева Н. Н., 1995; Багаутдинова Л. И., 2013), а также изучением поражения отдельных органов при ИКБ (Байгеленов К. Ж., 2009; Баранова Н. С., 2013), развития «постлаймского» синдрома у реконвалесцентов ИКБ (Verhaegh D., 2017).

Ввиду наличия регионарных особенностей клещевых инфекций, авторами уделено внимание особенностям клинического течения этих заболеваний в различных субъектах РФ (Гранитов В. М., 1988; Аитов К. А., 2005; Краснова Е. И. и др., 2017). Ряд работ посвящен современным методам лабораторной диагностики клещевых природно-очаговых инфекций: иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция с последующим секвенированием, биочипы, иммуночипы (Абрамова Н. В., 2010; Бондаренко Е.И., 2014). 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 т. ч. выявлен новый для края 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.

Основные 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 результатов. Степень достоверности результатов исследования 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 результатов работы. Основные положения диссертации доложены на 4-й итоговой конференции научного общества молодых ученых и студентов АГМУ (Барнаул, 2014), на International congress on Rickettsia and other intracellular bacteria (Lausanne, 2015), на 17-й и 18-й городских научно-практических конференциях молодых ученых «Молодежь – Барнаулу» (Барнаул, 2015, 2016), на научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных болезней (Казань, 2016), на 2-й итоговой научно-практической конференции научного общества молодых ученых инноваторов и студентов АГМУ (Барнаул, 2017), на 16-й и 17-й научно-практических конференциях АГМУ, посвященных дню Российской науки (Барнаул, 2016, 2017).

Внедрение полученных результатов в практику. Результаты исследования внедрены в практическую работу инфекционного и неврологического стационаров Городской больницы № 5 г. Барнаула, кабинета инфекционных заболеваний Краевой клинической больницы (г. Барнаул), а также в учебный процесс на пятом курсе лечебного, педиатрического и медико-профилактического факультетов на кафедре инфекционных болезней и фтизиатрии Алтайского государственного медицинского университета.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 16 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 диссертации. Диссертация изложена на 165 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. Автор лично определил цель и задачи исследования, выбрал объекты и методы исследования, участвовал в лабораторных исследованиях. Весь материал, представленный в диссертации, собран, обработан, проанализирован и интерпретирован лично автором.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение 2013–2016 гг. было обследовано 213 больных, госпитализированных в инфекционное отделение Городской больницы № 5 г. Барнаула с различными клещевыми инфекциями. Критериями включения пациентов в исследование являлись: возраст старше 15 лет; наличие в анамнезе указания на присасывание либо напозание клеща; подписанное больным «Добровольное информированное согласие на участие в исследовании». Критерии исключения: наличие хронических соматических заболеваний в фазе обострения; аутоиммунные заболевания; наличие других острых инфекционных заболеваний либо хронических инфекционных заболеваний, имеющих непрерывное прогрессирующее течение (ВИЧ-инфекция, хронические вирусные гепатиты); отсутствие документа «Добровольное информированное согласие на участие в исследовании».

Для документации полученных при обследовании данных и отражения их динамики автором была разработана «Карта клинического и лабораторного обследования больного клещевой инфекцией». В день поступления в стационар и в динамике всем пациентам выполнялись общелабораторные обследования.

Материалом для исследования являлись: венозная кровь, парные сыворотки крови, забранные с интервалом в 7–10 дней, и биоптаты (корочки) с места первичного аффекта. Лабораторную верификацию диагноза всем пациентам осуществляли с помощью молекулярно-генетических и серологических методов исследования, выполненных в лаборатории ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва).

Молекулярно-генетическое исследование материалов от больных (венозная кровь, парные сыворотки крови и биоптаты) осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с помощью набора «АмплиСенс TBEV, *B. burgdorferi* sl, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis* / *E. muris*-FL» (ФБУН ЦНИИЭ). Обнаружение вируса Кемерово выполняли методом ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени. Обнаружение риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ) проводилось методом ПЦР в режиме реального времени, предложенном J. Stenos et al. (2005) в модификации ФБУН ЦНИИЭ с типизирующим секвенированием ампликонов.

Обнаружение антител класса IgM и IgG в парных сыворотках к возбудителям МЭЧ и ГАЧ проводили в коммерческих тест-системах «МЭЧ-ИФА-IgM», «МЭЧ-ИФА-IgG» и «ГАЧ-ИФА-IgM», «ГАЧ-ИФА-IgG» (ООО «Омникс»). Выявление антител к вирусу КЭ осуществляли в тест-системах «TBEvirus (FSME) IgM ELISA» и «TBEvirus (FSME) IgG ELISA» (Humburg, Germany). Исследование сывороток на наличие антител класса IgM и IgG к боррелиям проводили с помощью набора «ИммуноЧипБоррелиоз» (ФБУН ЦНИИЭ). Ввиду наличия перекрестной серологической реакции между риккетсиями группы КПЛ, антитела к возбудителям КР определялись в тест-системе «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» (Vircell, Spain).

В период с мая по июль 2013–2015 гг. на территории Алтайского края в районах, расположенных в степной и лесостепной зонах, на флаг было собрано 228 клещей и получено 234 клеща, доставленных в лабораторию Роспотребнадзора г. Барнаула людьми, подвергшимися их нападению. У всех клещей определяли видовую принадлежность. Инфицированность клещей вирусом КЭ, возбудителями ИКБ, ГАЧ и МЭЧ определяли методом ПЦР в тест-системе «АмплиСенс TBEV, *B. burgdorferi* sl, *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis* / *E. muris*-FL». Зараженность клещей риккетсиями устанавливали методом ПЦР в реальном времени с последующим секвенированием. Вирус Кемерово выделяли при помощи метода ОТ-ПЦР в реальном времени с последующим секвенированием.

Для сравнения выборок использовали t-критерий Стьюдента и U-критерий Манна – Уитни. Для сравнения частот качественных признаков в независимых выборках использовали критерий χ^2 . Зависимость между признаками определяли при помощи метода ранговой корреляции Спирмена. Обработку и графическое представление данных проводили с помощью компьютерных программ Statistica 10.0 и Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При постановке диагноза клещевой инфекции учитывалась совокупность клинико-эпидемиологических и лабораторных критериев. Диагноз КР формировали согласно классификации, предложенной К. М. Лобан (1980). Диагноз ИКБ – на основании классификации Ю. В. Лобзина (1996).

Из 213 больных 139 (65,3 %) пациентам установлен диагноз КР, 46 (21,6 %) – ИКБ, 4 (1,8 %) – КЭ, у 1 больного диагностирован ГАЧ. У 23 (10,8 %) пациентов – микст-инфекция.

Лабораторная диагностика клещевого риккетсиоза. Изучение диагностической значимости ПЦР и ИФА проводилось у больных, имевших верифицированный диагноз КР (110 человек). У этих пациентов методом ПЦР было исследовано 27 биоптатов с места первичного аффекта, 110 образцов цельной крови и 110 парных сывороток крови. При исследовании кожных биоптатов 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 результата соответственно. Эффективность метода при выявлении ДНК риккетсий в сыворотке крови – 11,8 %, в цельной крови – 5,5 %. Одновременное исследование цельной крови и сывороток повысило выявляемость ДНК риккетсий лишь до 17,3 %.

Различие частоты положительных результатов при исследовании методом ПЦР биоптата с места первичного аффекта и первой сыворотки крови ($p < 0,05$) свидетельствует о высокой диагностической значимости ПЦР при исследовании биоптатов.

Антитела класса IgM к риккетсиям группы КПЛ выявлены методом ИФА в 99 пробах, 11 образцов дали отрицательные результаты. Эффективность ИФА у больных КР составила 90,0 %. Исследование парных сывороток позволило повысить выявляемость антител класса IgM на 55,6 %.

Достоверные отличия частоты положительных результатов ИФА в сравнении с ПЦР сывороток крови и отсутствие корреляционной связи между ними ($r = 0,1$) свидетельствуют об эффективности ИФА в диагностике КР при условии исследования парных сывороток.

Клинико-лабораторная характеристика сибирского клещевого тифа. В зависимости от результатов лабораторных методов исследования больные КР

были условно разделены на 3 группы: первая группа – 75 (54,0 %) больных – диагноз подтвержден серологически («серопозитивные»), вторая группа – 35 человек (25,2 %) («ПЦР-позитивные») – в различных биологических материалах генотипирована ДНК *R. sibirica sensu stricto*, третья группа – 28 (20,1 %) больных («серонегативные и ПЦР-негативные») диагноз КР был установлен на основании клинико-эпидемиологических данных. Наличие случаев КР, в которых этиологическая роль *R. sibirica sensu stricto* подтверждена ПЦР 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. В результате достоверных отличий в частоте встречаемости и длительности основных клинических и лабораторных симптомов в трех сравниваемых группах выявлено не было, что позволило нам трактовать все случаи КР как СКТ.

Наибольшее число заболевших СКТ приходилось на май (50,6 %) со снижением к августу и вторым меньшим пиком заболеваемости в сентябре – 16,0 %. Среди пациентов доминировали мужчины – 95 человек (68,8 %). Возраст больных составлял $(49,3 \pm 1,3)$ лет.

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 %) был найден первичный аффект. Инкубационный период составил $(7,2 \pm 0,3)$ дней. Острое начало болезни отмечено в 76,8 % случаев. У всех больных имелась лихорадочная реакция длительностью $(6,7 \pm 0,2)$ дней. Лихорадка сопровождалась общей слабостью (97,1 %), головной болью (81,9 %), нарушением аппетита (71,0 %) и сна (63,0 %), болями в мышцах и суставах (52,9 %), головокружением (29,7 %), тошнотой (26,8 %) и рвотой (9,4 %).

При объективном осмотре у 110 (79,7 %) больных на месте присасывания клеща был найден единичный первичный аффект, у 9 (6,5 %) – два и у 2 (1,5 %) – три первичных аффекта. В большинстве случаев (63,6 %) первичный аффект представлял собой участок некроза, окруженный инфильтратом и/или гиперемией и покрытый плотной багрово-коричневой корочкой. Регионарный лимфаденит длительностью от 7 до 18 дней выявлен у 37,0 % всех наблюдаемых больных и у 42,2 % от числа заболевших, имевших первичный аффект.

Характерный признак СКТ – экзантема, появлявшаяся на $(3,7 \pm 0,1)$ день болезни, встречался в 99,3 % случаев. У одного пациента (0,7 %) СКТ протекал в атипичной форме с наличием первичного аффекта, регионарного лимфаденита, но без сыпи.

В периоде разгара заболевания у 40,9 % человек сыпь имела полиморфный характер, у 12,4 % – макуло-папулезный и в 46,7 % – розеолезно-папулезный. Экзантема бесследно исчезала на $(6,5 \pm 0,2)$ день болезни.

У 32,6 % заболевших отмечалась гиперемия и инъекция слизистой ротоглотки, у 78,3 % – тахикардия, у 18,8 % – относительная брадикардия. В 5,1 % случаев выявлена гепатомегалия, сопровождающаяся в 2,9 % умеренной болезненностью при пальпации в правом подреберье.

Изменения в показателях общего анализа крови на момент поступления больных в стационар ($4,7 \pm 0,2$ день болезни) в 18,1 % характеризовались лейкопенией и в 5,1 % – лейкоцитозом, тромбоцитопенией (65,9 %), повышением скорости оседания эритроцитов (СОЭ) – 73,1 %, снижением гемоглобина (9,4 %). 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 и лейкоцитурии – в 41,3 %.

В биохимическом анализе крови выявлено повышение 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 встречалась у 3,6 % больных. Гепатит у пациентов был лабораторно обнаружен на $(4,7 \pm 0,2)$ день болезни. Клинико-биохимические показатели гепатита сохранялись в течение $(9,0 \pm 0,2)$ суток пребывания в стационаре.

По тяжести заболевания доминировали пациенты со среднетяжелыми формами – 87,0 %, в легкой форме заболевание протекало в 12,3 % случаев, и в одном случае – в тяжелой (повышение температуры до 40°C , геморрагические элементы сыпи, менингеальные симптомы).

В периоде реконвалесценции отмечалось улучшение общего состояния пациентов с регрессом клинических симптомов и последующим их исчезновением. Все пациенты выписаны с выздоровлением.

Впервые на территории края в сыворотке крови больного генотипирована ДНК *R. heilongjiangensis* – 0,7 %.

Лабораторная диагностика иксодового клещевого боррелиоза. Под наблюдением находилось 46 пациентов с ИКБ, в т. ч. 10 человек с безэритемной формой (21,7 %).

У 10 человек (21,7 %) диагноз ИКБ установлен на основании данных клинико-эпидемиологического обследования. В этих случаях парные сыворотки крови были забраны в первый день поступления пациентов в стационар, что

соответствовало ($2,0 \pm 0,3$) дню болезни и в динамике на ($9,6 \pm 0,5$) 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.

В первой сыворотке, которая была забрана на ($8,1 \pm 1,1$) день болезни, обнаруживались IgM. При отсутствии антител класса IgM в первой сыворотке, но при наличии их во второй, первая сыворотка была забрана на ($2,6 \pm 0,3$) день болезни ($p < 0,05$). Вторая сыворотка крови у больных с серологическим подтверждением диагноза была забрана на ($21,4 \pm 1,4$) день болезни, что достоверно позже, чем у пациентов без серологического подтверждения диагноза ($p < 0,05$).

Метод парных сывороток позволяет повысить выявляемость IgM на 30,6 %. Наибольшая частота положительных результатов наблюдается в конце третьей недели болезни, на ($21,4 \pm 1,4$) день. Серологическая диагностика ИКБ с определением антител IgM методом иммуночипов эффективна со второй недели болезни.

Клинико-лабораторная характеристика иксодового клещевого боррелиоза. Частота ошибочных диагнозов на этапе оказания первичной медико-санитарной медицинской помощи в амбулаторных условиях составила 32,6 % от общего числа больных и 100,0 % пациентов с безэритемной формой болезни. Среди заболевших преобладали мужчины – 58,7 %. Возраст больных составлял ($47,2 \pm 2,4$) лет.

Указывали на присасывание клеща 38 (82,6 %) больных, а 8 (17,4 %) пациентов не отмечали его. При этом у 6 (75,0 %) из них обнаруживалась эритема. Инкубационный период составлял ($11,0 \pm 0,9$) дней.

Острое начало заболевания с повышения температуры отмечено у 78,3 % человек. У 15,2 % пациентов нарушение самочувствия и лихорадка отсутствовали в течение всего заболевания. В периоде разгара доминировали симптомы лихорадочно-интоксикационного синдрома: озноб (58,7 %), головная боль (50,0 %), нарушение аппетита (32,6 %), миалгия (28,3 %), артралгия (26,1 %), нарушение сна (15,2 %), головокружение (13,0 %), тошнота (10,9 %), однократная рвота (6,5 %). Объективно выявлена тахикардия (58,7 %), относительная брадикардия (21,7 %), гиперемия зева (8,7 %).

Наиболее постоянными признаками заболевания являлись эритема (78,3 %) и регионарный лимфаденит (23,9 %). По одному случаю приходилось на одновременное наличие 2 и 3 эритем. Размер эритемы составлял ($97,2 \pm 7,8$) мм.

Чаще всего эритема располагалась в области туловища (38,9 %) и сохранялась в течение $(14,8 \pm 0,9)$ дней.

Лабораторно определялись: лейкоцитоз (6,5 %), тромбоцитопения (17,4 %), снижение уровня гемоглобина (17,4 %), относительная лимфопения (21,7 %), лимфоцитоз (10,9 %), моноцитоз (43,5 %), повышение СОЭ (58,7 %). В общем анализе мочи отмечена лейкоцитурия (21,7 %), умеренная протеинурия (28,3 %). Увеличение активности АлАТ (от 49 до 126 Ед/л) выявлены в 20,7 %, как и АсАТ (от 44 до 120 Ед/л).

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. Во всех случаях заболевание закончилось выздоровлением. Койко-день составил $(13,0 \pm 0,7)$ дней.

Клинико-лабораторная характеристика клещевых микст-инфекций.

Под наблюдением находилось 23 пациента (10,8 %) с клещевыми микст-инфекциями. В 91,3 % диагностировалась микст-инфекция с наличием двух возбудителей (КР + ИКБ, КР + ГАЧ, КР + КЭ) и в 8,7 % – с наличием трех (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 %), также в одном случае выявлено сочетание КР + КЭ.

Ни у одного из пациентов до проведения лабораторных методов обследования не была заподозрена микст-инфекция

Чаще всего микст-инфекция, как и другие клещевые инфекции, диагностировалась у мужчин (82,6 %). Возраст заболевших составлял $(46,9 \pm 3,7)$ лет.

Факт присасывания клеща отмечали 17 (73,9 %) больных, 35,3 % из них указывали на многократное присасывание клеща.

Инкубационный период составлял от 3 до 21 дня $(9,9 \pm 1,2)$ дней). В 87,0 % случаев заболевание начиналось остро. Лихорадочная реакция была отмечена у всех больных.

С целью определения особенностей клинической картины микст-инфекций с учетом частоты встречаемости все симптомы были разделены на три группы: первая – «наиболее часто встречающиеся симптомы» (частота встречаемости от

100 % до 60 %), вторая – «часто встречающиеся симптомы» (от 59 % до 30 %), «редко встречающиеся симптомы» (29 % и менее).

К первой группе отнесены такие симптомы как: общая слабость (82,6 %), озноб (78,3 %), головная боль (69,6 %), нарушение сна (65,2 %) и аппетита (60,9 %), тахикардия (65,2 %), экзантема (60,9 %). Характерная для КР сыпь длительностью ($7,6 \pm 0,7$) дней встречалась при КР + ИКБ, КР + КЭ, КР + ГАЧ, КР + ИКБ + КЭ. Сыпь появлялась на ($3,1 \pm 0,4$) день болезни, носила розеолезно-папулезный, либо полиморфный характер с наличием пятен, розеол и папул.

Ко второй группе отнесены: миалгии (56,5 %), потливость (47,8 %), артралгии (39,1 %), первичный аффе́кт (39,1 %), регионарный лимфаденит (34,8 %), гиперемия ротоглотки (30,4 %), гомогенная эритема от 50 до 400 мм в диаметре (34,8 %), встречавшаяся при КР + ИКБ, КР + ИКБ + ГАЧ. «Редко встречающиеся симптомы»: относительная брадикардия (26,1 %), тошнота (21,7 %), головокружение (17,4 %), рвота (8,7 %) и гепатомегалия (8,7 %).

В общем анализе крови чаще всего регистрировались повышение СОЭ (73,9 %), тромбоцитопения (65,2 %), палочкоядерный нейтрофилез (43,5 %), относительная лимфопения (21,7 %). В общем анализе мочи выявлена протеинурия (52,2 %) и умеренная лейкоцитурия (30,4 %). В биохимическом анализе крови в периоде разгара более чем в 50,0 % случаев отмечено повышение трансаминаз печени до ($89,3 \pm 33,2$) Ед/л для АлАТ и до ($84,0 \pm 30,1$) Ед/л для АсАТ длительностью ($11,0 \pm 1,0$) дней.

В 65,2 % случаев клещевых микст-инфекций были отнесены к среднетяжелым формам (при КР + ИКБ, КР + ГАЧ, КР + КЭ, КР + ИКБ + КЭ). У 34,8 % пациентов регистрировалась легкая форма болезни (при КР + ИКБ и ИКБ + КР + ГАЧ). Тяжелых форм микст-инфекций в крае не было.

Клещевой энцефалит диагностирован у 4 больных (1,9 %): у 2 пациентов – лихорадочная форма и у 2 – полиомиелитическая с вялыми парезами верхних конечностей. Гранулоцитарный анаплазмоз выявлен у 1 пациента.

Спонтанная инфицированность переносчиков. На основании энтомологического исследования клещи, собранные с территории края, были отнесены к видам: *I. persulcatus* (64,9 %), *D. marginatus* (16,7 %), *I. pavlovskyi* (10,9 %), *D. reticulatus* (7,5 %). Чаще в переносчиках обнаруживался один возбудитель – 54,8 %, два патогена – в 16,2 %, три – в 2,6 %.

В клещах рода *Ixodes* доминировала зараженность *R. tarasevichae* (61,9 %), этиологическая роль которой ни в одном наблюдаемом нами случае клещевой инфекции не была доказана. Также определена инфицированность клещей

B. burgdorferi sensu lato (28,3 %), *B. miyamotoi* (5,2 %), *A. phagocytophilum* (7,5 %), вирус КЭ (1 клещ).

Впервые на территории Алтайского края в двух клещах рода *Ixodes* обнаружен новый для края патоген – вирус лихорадки Кемерово.

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 %).

Клещи рода *Dermacentor* в большинстве случаев содержали в себе возбудителя СКТ – *R. sibirica sensu stricto* (65,5 %)

В клещах, забранных от людей, доминировала *R. raoulti* (53,8 %), реже обнаруживались *B. burgdorferi sensu lato* (31,8 %), вирус КЭ (2,4 %). В двух клещах обнаружена *R. tarasevichae* (2,4 %) и в одном – *R. sibirica sensu stricto* (1,2 %). Микст инфекция 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 %).

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 (рисунок 1). Данная схема позволит усовершенствовать диагностику наиболее часто встречающихся на данной территории клещевых инфекций путем дифференцированного подхода к забору материалов от больных, в зависимости от предварительного диагноза и длительности болезни.

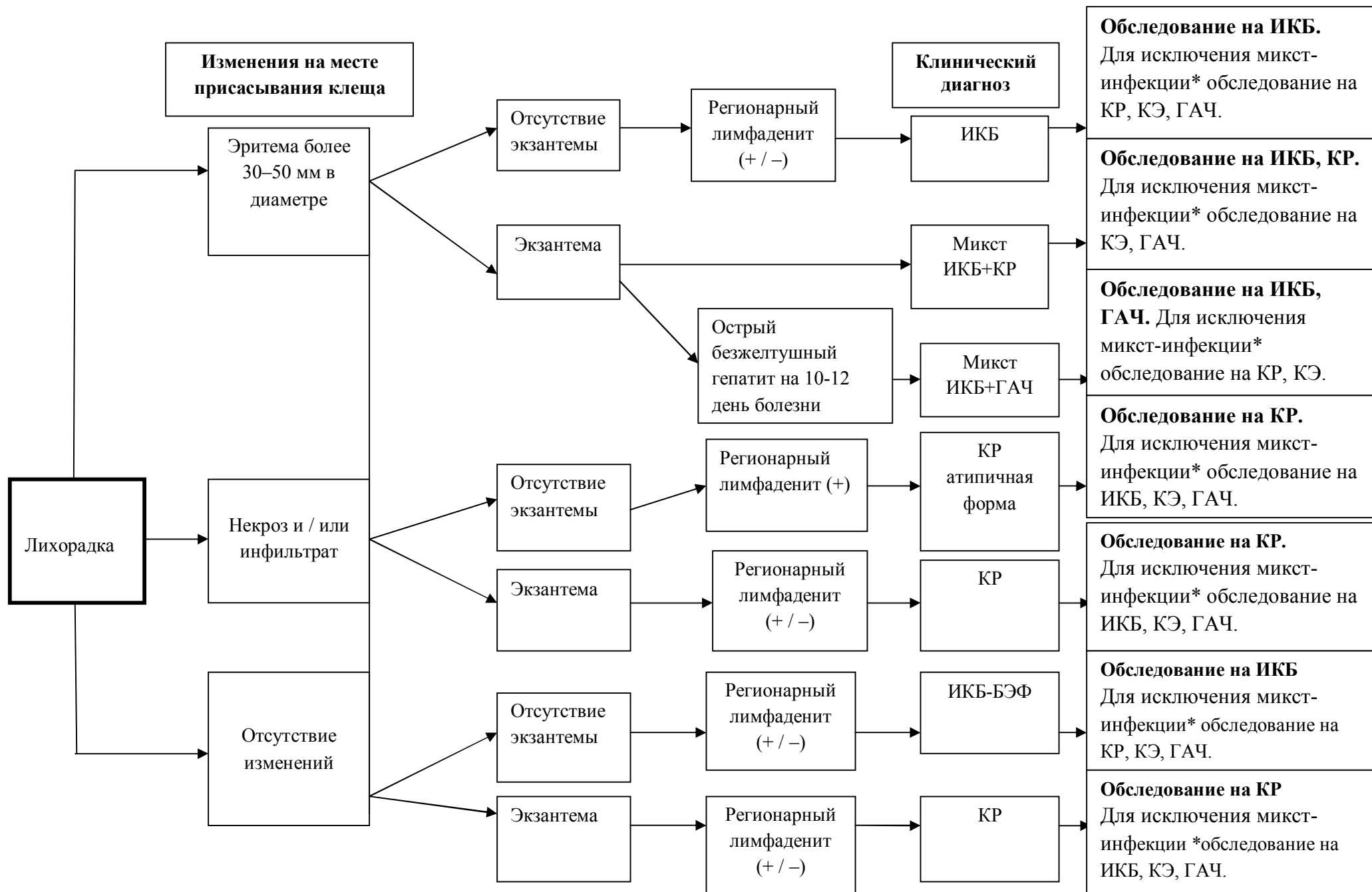


Рисунок 1 – Схема-алгоритм лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции

Таблица к Схеме-алгоритму лабораторного обследования больных с подозрением на клещевые инфекции

№	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.				

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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клещевые инфекции с природной очаговостью: **монография** / В. М. Гранитов [и др., в том числе **О. В. Бесхлебова**]; под ред. проф. В. М. Гранитова. – Барнаул : Изд-во ФГБОУ ВО АГМУ МЗ РФ, 2016. – 156 с.

2. Обнаружение вируса Кемерово в клещах *Ixodes persulcatus*, собранных в Алтайском крае / В. Г. Дедков [и др., в том числе **О. В. Бесхлебова**] //

Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2014. – № 6 (79). – С. 46–49.

3. Первый клинический случай клещевого риккетсиоза, вызванного *Rickettsia heilongliangensis*, на территории Сибири / В. М. Гранитов [и др., в том числе **О. В. Бесхлебова**] // **Инфекционные болезни.** – 2014. – Т. 12, №3, – С. 91–94.

4. Риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки в Алтайском крае / **О.В. Бесхлебова** [и др.] // **Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.** – 2017. – № 2. – С. 73–78.

5. New evidence on tick-born rickettsioses in the Altai region of Russia using primary lesion, serum and blood clots of molecular and serological study / V. Granitov [et all...among then **O. Beshlebova**] // **Microbes and Infection.** – 2015. – № 17. – P. 862–865.

6. The burden of tick-borne diseases in the Altai region of Russia / V.G. Dedkov [et all...among then **O. Beshlebova**] // **Ticks and Tick-borne diseases.** – 2017. – № 8. – P. 787–794.

7. **Бесхлебова, О. В.** Лабораторная диагностика клещевых инфекций с природной очаговостью (клещевой риккетсиоз, иксодовый клещевой боррелиоз) / **О. В. Бесхлебова**, В. М. Гранитов, В. Г. Дедков // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – Т. 8, № 4. – С. 50–55.

8. Арсеньева, И. В. Клещевые инфекции в Алтайском крае / И. В. Арсеньева, **О. В. Бесхлебова**, В. М. Гранитов // Медицинская наука и здравоохранение : сборник научных трудов, посвященных 60-летию АГМУ. – Барнаул : Концепт, 2014. – С. 28–30.

9. Арсеньева И.В. Совершенствование информационной подсистемы эпидемиологического надзора за сибирским клещевым тифом / И. В. Арсеньева [и др., в том числе **О. В. Дериглазова**] // Актуальные проблемы современной инфектологии : материалы научно-практической конференции с международным участием // Журнал инфекционной патологии. – 2013. – Т. 20, № 1–4. – С. 131–132.

10. Предварительные данные изучения клещевых инфекций в Алтайском крае / В. М. Гранитов [и др., в том числе **О. В. Бесхлебова**]// Матер. 6-го Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2014. – С. 75.

11. Разработка набора реагентов для дифференциальной детекции патогенных риккетсий методом РРВ-ПЦР / Я. Е. Григорьева [и др., в том числе **О. В. Бесхлебова**]// Молекулярная диагностика-2014: сборник труд. 8-й Всерос.

научно-практич. конф. с международным участием. – Москва, 2014. – С. 518–519.

12. Значимость метода ПЦР в диагностике Сибирского клещевого тифа / **О. В. Бесхлебова** [и др.] // Актуальные проблемы инфектологии, эпидемиологии и медицинской паразитологии: современные технологии системы эпиднадзора, диагностики, лечения и профилактики : материалы Международной научно-практической конференции // Журнал инфектологии. – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 30.

13. **Бесхлебова, О. В.** Микст-формы клещевых инфекций в Алтайском крае / **О. В. Бесхлебова**, В. М. Гранитов, В. Г. Дедков // Природно-очаговые и другие актуальные инфекции Сибири и Дальнего Востока : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием // Журнал инфектологии. – 2015. – Т. 7, № 3. – С. 19–20.

14. Течение клещевого боррелиоза у жителей г. Барнаула / И. В. Арсеньева [и др., в том числе **О. В. Бесхлебова**] // Материалы 4-го Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням // Журнал инфектологии. – 2016. – Приложение Т. 8, № 2. – С. 17.

15. Клинические проявления клещевых микст-инфекций в Алтайском крае / В. М. Гранитов [и др., в том числе **О. В. Бесхлебова**] // Матер. 9-го Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием // Инфекционные болезни. – 2017. – Т. 15. – Приложение 1. – С. 73.

16. Tick-born Rickettsioses in Altai region of Russia / V. Granitov [et all...among then **O. Deriglazova**] // Abstract book of ESCCAR International congress on Rickettsia and other intracellular bacteria. – Lausanne, 2015. – P. 82.