

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

На правах рукописи

Савельева Мария Викторовна

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
КЛЕЩЕВЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ВЗРОСЛЫХ В  
НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ**

14.01.09 – инфекционные болезни

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Краснова Елена Игоревна

Новосибирск – 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	14
1.1 Общие сведения об иксодовых клещевых боррелиозах и боррелиозе, вызванном <i>Borrelia miyamotoi</i> .....	14
1.2 Клинические особенности течения иксодовых клещевых боррелиозов и боррелиоза, вызванного <i>Borrelia miyamotoi</i> .....	18
1.3 Методы диагностики иксодовых клещевых боррелиозов .....	24
1.4 Диагностика боррелиоза, вызванного <i>Borrelia miyamotoi</i> .....	28
1.5 Характеристика цитокинового статуса при различных клинических формах иксодовых клещевых боррелиозов и боррелиоза, вызванного <i>Borrelia miyamotoi</i> .....	32
1.6 Лечение боррелиоза, вызванного <i>Borrelia miyamotoi</i> .....	37
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	42
2.1 Общая характеристика обследованных групп больных .....	42
2.2 Методы исследования .....	46
2.2.1 Определение общеклинических и биохимических показателей .....	46
2.2.2 Молекулярно-генетические и серологические методы исследования на клещевые инфекции .....	46
2.2.3 Определение интегральных гематологических показателей .....	47
2.2.4 Исследование крови на наличие ДНК <i>B. miyamotoi</i> и <i>B. burgdorferi s. l.</i> методом ПЦР .....	49
2.2.5 Серологические методы диагностики клещевых инфекций .....	53
2.2.6 Определение спонтанной продукции цитокинов в сыворотке крови ..	53
2.2.7 Статистические методы исследования .....	54
ГЛАВА 3 ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ В РФ И НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ ..	55
ГЛАВА 4 ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ В НОВОСИБИРСКОЙ	

ОБЛАСТИ .....	60
ГЛАВА 5 КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ .....	65
ГЛАВА 6 ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВОЗВРАТНОЙ КЛЕЩЕВОЙ ЛИХОРАДКИ, ВЫЗВАННОЙ <i>BORRELIA MIYAMOTOI</i> , В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ .....	76
6.1 Клинико-эпидемиологическая характеристика возвратной клещевой лихорадки, вызванной <i>B. miyamotoi</i> , в Новосибирской области .....	76
6.2 Клинический случай возвратной клещевой лихорадки, вызванной <i>B. miyamotoi</i> , выявленной в ликворе .....	83
6.3 Серологическая диагностика боррелиоза, вызванного <i>Borrelia miyamotoi</i> .....	86
ГЛАВА 7 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ, КЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ И БОРРЕЛИОЗА <i>MIYAMOTOI</i> .....	93
7.1 Результаты сопоставления эпидемиологических и клинических проявлений иксодовых клещевых боррелиозов и заболевания, вызванного <i>B. miyomatoi</i> .....	93
7.2 Результаты лабораторных проявлений иксодовых клещевых боррелиозов и заболевания, вызванного <i>B. miyamotoi</i> .....	96
7.3 Результаты сопоставления значений провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при иксодовых клещевых боррелиозах и заболевании, вызванном <i>B. miyamotoi</i> .....	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	106
ВЫВОДЫ .....	116
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	119

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	122
СПИСОК ІЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРІАЛУ .....	141

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность избранной темы

Из числа клещевых инфекций в РФ иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) занимают одно из первых мест и регистрируются в 72 субъектах, при этом наибольшая заболеваемость отмечается на Урале, в Западной Сибири и Волго-Вятском регионе [30; 32; 47]. Ежегодно количество заболевших в России составляет 6–8 тыс. человек. Новосибирская область (НСО) является крупнейшей эндемичной территорией по клещевым инфекциям. Показатели заболеваемости ИКБ в НСО за последние 6 лет варьировали от максимальных – 17,5 случаев на 100 тыс. населения в 2011 г. до 8,4 на 100 тыс. населения в 2017 г., что более чем в 2 раза превышало заболеваемость по РФ (7,0 и 4,1 соответственно) [26]. Помимо ИКБ, среди клещевых инфекций, регистрируемых в НСО, чаще всего встречается клещевой энцефалит (КЭ), а также сибирский клещевой тиф (СКТ). Ежегодно в течение эпидемического сезона клещевых инфекций, который в НСО длится с апреля по октябрь, в инфекционный стационар поступает большое количество пациентов с присасыванием клеща в анамнезе и лихорадкой. При направлении больных в стационар им обычно выставляется диагноз: Клещевой энцефалит, лихорадочная форма. Возможности лабораторной диагностики ограничены только ИФА для выявления антител к антигенам вируса клещевого энцефалита и боррелий *burgdorferi s. l.* В случаях отрицательных результатов больным чаще всего выставляется диагноз острого респираторного заболевания. Лечащие врачи испытывают неудовлетворенность от обследования. В связи с появлением новых, ранее не изученных в Новосибирской области возбудителей клещевых инфекций, необходимо уточнение их этиологической структуры.

Установлено, что новый вид боррелий – *Borrelia miyamotoi*, обнаруженный в клещах *Ixodes persulcatus* генетически принадлежащий к группе боррелий – возбудителей возвратных лихорадок, способен вызывать заболевания у людей [67; 127; 166]. В некоторых регионах России у 58 % больных безэритемной формой боррелиоза методом ПЦР в крови выявлялась ДНК *B. miyamotoi* [9].

Изучение клинических проявлений заболевания, вызванного *B. miyamotoi*, показало, что оно протекало в безэритемной форме, с выраженной интоксикацией, что затрудняло дифференциальный диагноз с клещевым энцефалитом [67].

### **Степень разработанности темы диссертации**

Случаев БМЗ в России описано мало, преимущественно в Европейской части и на Урале [16; 56; 58; 63]. Неизвестен вклад *B. miyamotoi* в этиологию клещевых инфекций, не оценена генетическая вариабельность БМ на территории Новосибирской области. Особенности клинических проявлений БМЗ в Западно-Сибирском регионе не изучены, вопросы диагностики и лечения остаются нерешенными. Традиционные тест-системы для выявления иммуноглобулинов класса М (IgM) против возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов не могут быть использованы для диагностики заболевания БМЗ. Необходима разработка адекватных лабораторных методик для включения в комплекс обследования на клещевые инфекции. Не исследован уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при БМЗ, а также в сравнении с таковыми при эритемной и безэритемной формах иксодовых клещевых боррелиозов.

### **Цель исследования**

Установить частоту встречаемости клещевых бактериальных инфекций у взрослых в Новосибирской области, их клинико-эпидемиологические особенности с учетом результатов комплекса лабораторных методов обследования.

### **Задачи исследования**

1. Установить частоту встречаемости клещевых инфекций у госпитализированных больных с заболеванием, развившемся после присасывания клеща, в Новосибирской области в эпидемических сезонах 2015–2017 гг.

2. Оценить долю заболевания, вызванного *B. miyamotoi*, в структуре клещевых инфекций на эндемичной территории Новосибирской области и генетическую вариабельность данного возбудителя.

3. Изучить клинико-эпидемиологические особенности острых иксодовых клещевых боррелиозов у взрослых на территории Новосибирской области.

4. Определить клинико-эпидемиологическую характеристику заболевания, вызванного *B. miyamotoi*.

5. Определить информативность ПЦР-диагностики и метода иммуночипов при заболевании, вызванном *B. miyamotoi*.

6. Представить сравнительную характеристику клинико-эпидемиологических и лабораторных проявлений иксодовых клещевых боррелиозов и заболевания, вызванного *B. miyamotoi*.

7. Изучить роль провоспалительных (ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов при эритемной, безэритемной формах иксодовых клещевых боррелиозов и заболевании, вызванном *B. miyamotoi*.

### **Научная новизна**

Впервые на территории Новосибирской области исследована встречаемость ДНК *Borrelia miyamotoi* в крови взрослых больных, госпитализированных в связи с развитием заболевания после присасывания клеща в эпидсезонах 2015–2017 годов, и показано, что *Borrelia miyamotoi* вносят существенный вклад в этиологию клещевых инфекций. Установлено, что заболевание, вызываемое *Borrelia miyamotoi*, занимает 3 место в структуре клещевых инфекций после иксодового клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита. Оценка генетической вариабельности *Borrelia miyamotoi* показала соответствие азиатскому типу *Borrelia miyamotoi*, ранее обнаруженному в клещах *Ixodes persulcatus* на территории Новосибирской области, а также в других регионах России.

Помимо «новой» боррелии, впервые в Российской Федерации исследована

встречаемость новых риккетсий – *Rickettsia raoultii*, *Rickettsia slovaca*, *Rickettsia aeschilmanii*, в крови больных, госпитализированных после укуса клеща, и показан определенный вклад данных риккетсий в этиологию клещевых инфекций, протекающих с лихорадкой.

Впервые проведено сравнительное изучение клинико-эпидемиологических и лабораторных особенностей иксодовых клещевых боррелиозов и заболевания, вызванного *Borrelia miyamotoi*, у пациентов, проживающих на территории Новосибирской области. Установлено, что отсутствие мигрирующей эритемы, высокая лихорадка, длительностью от 1 до 10 суток, иногда рецидивирующая, выраженные проявления интоксикации в сочетании с нейтрофилезом и тромбоцитопенией более характерны для заболевания, вызванного *Borrelia miyamotoi*. Иксодовые клещевые боррелиозы клинически чаще манифестируют местными проявлениями, в то время как умеренная лихорадка наблюдается только у половины больных.

Впервые проведена комплексная оценка информативности двух современных лабораторных методов обследования больных заболеванием, вызванным *Borrelia miyamotoi*: ПЦР с детекцией ДНК в крови и методом иммуночипов с определением IgM и IgG к отдельным антигенам возбудителя GrpQ, а также Vsp1, Vlp5, 15, 18. Установлено, что указанные методы с высокой частотой подтверждают данный клинический диагноз. Отсутствие достоверных различий частоты положительных результатов при использовании ПЦР в сравнении с ИФА и наличие корреляционной связи между ними ( $r = 0,84$ ) подтверждают высокую диагностическую значимость обоих методов. При боррелиозе, вызванном *Borrelia miyamotoi*, впервые изучены интегральные гематологические показатели и уровни интерлейкинов-6, 8 и 10 сыворотке крови. Установлено, что для заболевания, вызванного *Borrelia miyamotoi*, характерна сбалансированность в системе про- и противовоспалительных цитокинов, а степень эндотоксикоза и иммунологической реактивности клеток крови выше по сравнению с таковыми при иксодовых клещевых боррелиозах.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Проведенные комплексные клинико-лабораторные исследования позволят усовершенствовать диагностику бактериальных инфекций, переносимых клещами. Наличие лихорадки у больных с подозрением на клещевые инфекции, отсутствие эритемы и выявление в дальнейшем в их крови антител, реагирующих с возбудителями иксодовых клещевых боррелиозов, приводит к неопределенности и возможным ошибкам при постановке диагноза в том случае, если в действительности заболевание вызвано *Borrelia miyamotoi*. Выявление нового возбудителя в крови у госпитализированных больных расширило спектр природно-очаговых трансмиссивных инфекций, регистрируемых в Новосибирской области. Представленная клинико-эпидемиологическая характеристика боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, возможности лабораторной диагностики помогут дифференцировать данное заболевание от других клещевых инфекций. Верификация диагноза боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, позволит впервые регистрировать данную малоизученную нозологическую форму у жителей Новосибирской области, изучить клиническую и эпидемиологическую характеристику заболевания, рекомендовать рациональные подходы к диагностике и лечению больных.

Результаты исследовательской работы могут быть использованы в учебно-методическом процессе на сертификационных циклах переподготовки и повышения квалификации врачей-инфекционистов.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

Проведено когортное клиническое исследование с использованием клинико-эпидемиологических, биохимических, иммунологических, молекулярно-генетических и статистических методов. Применены методы описательной, сравнительной и аналитической статистики.

### Основные положения, выносимые на защиту

1. На территории Новосибирской области в 2015–2017 гг. в структуре уточненных клещевых инфекций у госпитализированных взрослых первое место (40 %) занял иксодовый клещевой боррелиоз; второе (25 %) – клещевой энцефалит; третье (20 %) – заболевание, вызванное *B. miyamotoi*; четвертое (11 %) – сибирский клещевой тиф; 4 % приходилось на другие клещевые риккетсиозы. Оценка генетической вариабельности *B. miyamotoi* показала ее соответствие азиатскому типу возбудителя, ранее обнаруженному в клещах *I. persulcatus*, *I. Pavlovsky* на территории Новосибирской области, а также в других регионах России.

2. Установлены различия в частоте и выраженности симптомов у больных с заболеванием, вызванным *B. miyamotoi* и иксодовыми клещевыми боррелиозами: для боррелиоза *miyamotoi* не характерна мигрирующая эритема; лихорадка регистрировалась в 2 раза чаще; выше 39 °С у половины пациентов, более продолжительная, двухволновая – у 14 % лиц; чаще отмечались головная боль, артралгии, миалгии, нейтрофилез, тромбоцитопения, высокие значения лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), индекса соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ), а также цитокинов ИЛ-6, 8 и ИЛ-10.

3. При одновременном исследовании крови больных боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi*, методами ПЦР с выявлением ДНК *B. miyamotoi* в крови и иммуночипов с определением IgM и IgG к GpQ, а также Vsp1, Vlp 5,15,18 во время болезни и через 1–3 месяца, совпадение положительных результатов ПЦР и метода иммуночипов составило 89,4 %. Наличие корреляционной связи между результатами указанных методов ( $r = 0,84$ ) подтверждает значимость предложенных методик в алгоритме диагностики заболевания. Метод иммуночипов также высокоинформативен в выявлении паст-инфекции, вызванной *B. miyamotoi*, и микст-инфекции с другими клещевыми нозологиями.

### **Степень достоверности**

Степень достоверности результатов, полученных при выполнении диссертационного исследования, определяется достаточным объемом групп участников исследования, использованием современных иммунологических, биохимических, молекулярно-генетических методов. Лабораторные исследования биологических материалов от больных выполнены в ФГБУ НИИ химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН г. Новосибирска и ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора г. Москвы. В работе использованы статистические методы, адекватные поставленной цели и задачам исследования. Сформулированные выводы логически вытекают из анализа полученных результатов.

### **Апробация работы**

Основные положения и результаты работы обсуждены и одобрены на итоговой конференции научного общества молодых ученых и студентов НГМУ (Новосибирск, 2016), на 9-м Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с Международным участием (Москва, 2017), на заседаниях общества инфекционистов (Новосибирск, 2016, 2017 гг.), на 10-м Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням с Международным участием (Москва, 2018), на 5-м Евро-Азиатском конгрессе по инфекционным болезням с Международным участием (Новосибирск, 2018), на Национальной школе по инфекционным болезням (Новосибирск, 2018).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Актуальные проблемы диагностики и терапии инфекционных заболеваний» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск).

Диссертация выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Клинико-морфологические и молекулярно-биологические основы диагностики и

лечения заболеваний внутренних органов и коморбидных состояний у детей и взрослых», номер государственной регистрации АААА-А15-115120910171-1 (2015–2020).

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре инфекционных болезней, факультете повышения квалификации и профессиональной подготовки врачей ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, а также в работе ГБУЗ «Городская инфекционная клиническая больница № 1» (ГИКБ № 1), ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 3» (ДГКБ № 3) (г. Новосибирска). С появлением тест систем, зарегистрированных на территории РФ для ПЦР –диагностики БМЗ сертифицированными наборами, в ГБУЗ ГИКБ № 1 верифицируется диагноз данной клещевой инфекции.

### **Публикация**

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 3 – в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, где должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук. Из них 2 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования(Scopus).

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, 7 глав (аналитического обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 187 источников, из которых 79 отечественных и 108 зарубежных авторов, списка иллюстративного материала. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 14 рисунками.

### **Личный вклад автора**

Основные результаты настоящего исследования, включающие отбор участников исследования, анализ эпидемиологических, клинических и лабораторных параметров, создание электронной базы данных, взятие материала от больных на исследования, а также анализ, обобщение и статистическая обработка собственных результатов проведены автором самостоятельно. Диссертант участвовал во всех этапах обсуждения полученных результатов и их опубликования.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Общие сведения об иксодовых клещевых боррелиозах и боррелиозе, вызванном *Borrelia miyamotoi*

Боррелиозы – полиэтиологическая группа острых или хронических рецидивирующих спирохетозных природно-очаговых инфекций, возбудители которых принадлежат роду *Borrelia* семейства *Spirochaetaceae*. У человека боррелии вызывают иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), также называемый Лайм-боррелиозом, и возвратный тиф (возвратную лихорадку). Боррелии – возбудители этих двух заболеваний – имеют существенные генетические различия; гомология геномной ДНК составляет от 30 до 44 % [95; 97; 142; 158].

Этиологическими агентами ИКБ являются бактерии комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato (s. l.)*, которые, попадая в организм человека при присасывании иксодового клеща, способны вызвать мультисистемное заболевание с широким спектром клинических проявлений (поражением кожи, нервной и сердечно-сосудистой систем, опорно-двигательного аппарата и других) [53; 56; 63; 159; 131].

Впервые заболевание, основным клиническим проявлением которого была мигрирующая к периферии кольцевидная эритема, описал А. Afzelius в 1910 г. В дальнейшем С. Carin и А. Vujandoux (1922), позднее А. Bannwarth (1944) в Германии обратили внимание на синдром, возникающий после присасывания клеща и проявляющийся кожной эритемой, серозным менингитом, невритом лицевого нерва, радикулоневритом. В США данное заболевание впервые охарактеризовано А. Streere в 1975 г. как вспышка ревматоидных артритов в штате Коннектикут, в небольшом городке Лайм. В СССР в 1940–1970-е гг. отечественные исследователи (А. Г. Панов, А. Н. Шаповал, М. Н. Сорокина, К. Г. Уманский и др.) изучали клещевой энцефалит и описывали случаи заболевания, возникающего после укуса клеща и сопровождающегося развитием эритемы и радикулярного синдрома. Основным переносчик возбудителя болезни –

иксодовый клещ – установлен в США в 1977 г. В 1981 г. В. Бургдорфер впервые выделил от клещей оригинальные спирохетоподобные микроорганизмы. В 1984 г. Дж. Рассел установил, что данная спирохета относится к роду *Borrelia*. В последующем она была названа *Borrelia burgdorferi*, а заболевание получило название Лайм-боррелиоза [60]. До сих пор спорными остаются многие аспекты ИКБ [161]. В 2011 г. Центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC) пересмотрел годовые оценки заболеваемости Лайм-боррелиоза в США от 30 до 300 тыс. случаев ежегодно [103].

В Российской Федерации (РФ) ИКБ официально регистрируются с начала 1992 г., и с того времени заболеваемость возросла почти в 3 раза, с 2 477 до 6 700 случаев в 2017 г. [5; 15].

В рамках единого вида *Borrelia burgdorferi sensu lato* выявлено 20 геновидов *Borrelia*. Патогенны для человека 6 геновидов: *B. burgdorferi sensu stricto* (на территории РФ не встречаются), *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*. На территории России преимущественно распространены *B. garinii* и *B. afzelii* [153]. Боррелии, вызывающие возвратный тиф, в основном переносятся вшами или аргасовыми клещами [87]. Некоторые патогенные штаммы *B. burgdorferi s. l.* имеют повсеместное распространение, но редко тестируются [90; 99; 106; 166].

В. Ю. Боргояков и соавт. [23] провели анализ клещей, отловленных в НСО и исследованных методом ПЦР с анализом продуктов реакции в реальном времени и установили, что наибольший процент ДНК боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* обнаружен в клещах, снятых с людей, подвергшихся нападению в районе Новосибирского научного центра (ННЦ, Академгородка) – 27,5 %; наименьший процент – 18,5 % – в клещах, снятых с людей в НСО. По мнению авторов, ННЦ является одним из очагов ИКБ, и по мере удаления от него число зараженных клещей постепенно снижается. При исследовании клещей ДНК *B. garinii* и *B. afzelii* выявлялась чаще, а ДНК нового недавно открытого вида *B. miyamotoi* – значительно реже (варьировало от 2,2 до 4,6 %). В Томске, Иркутске и Новосибирске число клещей, зараженных *B. garinii*, превалирует. При

исследовании клещей, отловленных на флаг, установлена значительно большая их зараженность боррелиями (до 45 %), чем клещей, снятых с людей. При присасывании клещом, зараженным боррелиями, заболевают ИКБ далеко не все, а только часть людей. Показано, при попадании крови человека клещу, боррелии элиминируются компонентами крови. Под воздействием белков системы комплемента в кишечнике клеща может происходить разрушение значительной части боррелий [174].

Генотипические особенности возбудителя находят четкое отражение в клинических проявлениях иксодового клещевого боррелиоза, что обуславливает вариабельность клинической картины в зависимости от этиологии заболевания. В РФ этиологию и эпидемиологию ИКБ определяют *B. Afzelii* и *B. garinii*. Мигрирующая эритема (МЭ) наблюдается наиболее часто (до 90 %) при инфицировании *B. afzelii*, тогда как *B. garinii* обуславливает преимущественно поражение нервной системы (до 40 %) [38]. В США штаммы патогенных бактерий, принадлежащих к одному геновиду *B. Burgdorferi sensu stricto*, более чем в 90 % случаев вызывают мигрирующую эритему и поражение опорно-двигательного аппарата, последнее отличается склонностью к длительному и хроническому течению (болезнь Лайма) [66; 121]. Однако данные ассоциации не обязательны, например, у пациентов с нейроборрелиозом установлена этиология, обусловленная *B. Burgdorferi sensu stricto* [177]. В то же время и генотипические особенности макроорганизма оказывают определенное воздействие на восприимчивость к ИКБ и его клинические проявления. Установлено, что предрасположенность к формированию клещевой эритемы ассоциировалась с HLA-антигеном В8, гаплотипом А25, В-17 и фенотипом антигенами А26, 29, 30, В14, Сw2, резистентность к инфекции – со специфичностями А3, В12 [8].

Новый вид боррелий *B. miyamotoi* открыт относительно недавно. *B. miyamotoi* впервые обнаружили в клещах *I. persulcatus* в Японии в 1995 г. [127]. Впоследствии их находили в иксодовых клещах в Швеции [162], России [52], Словакии [154], Эстонии [113], Ирландии [141], Франции [128], Германии [159],

Португалии [151] и в *I. scapularis* и *I. pacificus* в Северной Америке [163]. *Borrelia miyamotoi* распространены повсеместно. Помимо клещей *I. persulcatus*, БМ встречаются в клещах *I. ricinus*, *I. Pavlovskyi* и в позвоночных животных [71; 166; 181]. Выделяют три генотипа *B. miyamotoi*: азиатский или Сибирский (передается преимущественно *I. persulcatus*), Европейский (*I. ricinus*) и американский (*I. scapularis*, *I. pacificus*) [114; 163]. Кроме того, уместно указать, что все три эти генетические группы *B. miyamotoi* включают штаммы, которые являются патогенными для человека.

*B. miyamotoi* больше в крови, чем в коже животных, они передаются от самок клещей их потомству. Культивирование изолятов БМ проще, чем *B. burgdorferi* [95; 142]. *B. miyamotoi* имеет 3 традиционных генетических маркера – рРНК 16S, белок наружной мембраны р66 и гены *glpQ* [128].

Позднее заболевание, вызванное *B. miyamotoi* (БМЗ), описано и другими исследователями [82; 148]. При ретроспективном изучении донорской крови в США выяснено, что антитела к маркерам *B. miyamotoi* (GlpQ-антигену) встречаются приблизительно у 1 % людей, причем у больных с диагнозом «Лайм-боррелиоз» – у 3,2 %, а у лиц, имеющих ассоциированную с укусом клеща лихорадку, – в 21 % случаев [136].

Повсеместное распространение БМ в зонах умеренного климата Евразии и Северной Америки, где они выявляются в иксодовых клещах-переносчиках, мелких грызунах и других резервуарных хозяевах, убедительно показано в обзорах [95; 97; 142; 161; 172]. Уровень зараженности иксодовых клещей *B. miyamotoi* варьирует от 1,3 до 15,4 % [109; 134]. Генетически *B. miyamotoi* принадлежит к группе боррелий – возбудителей возвратных лихорадок. Случаев заболеваний человека, вызванных этой боррелией, описано мало, преимущественно в Европейской части России, ареал распространения *B. miyamotoi* окончательно не уточнен [38].

Первые публикации о БМЗ в России появились в 2004 году, когда в крови 25 больных ИКБ в г. Ижевске впервые выявлена ДНК БМ [13]. К 2017 году природные очаги боррелиоза *miyamotoi* обнаружены в 8 регионах России:

Республике Алтай [17], Удмуртской республике [29], Иркутской [1; 72], Новосибирской [12; 45; 48; 112], Рязанской [13], Свердловской [12], Ленинградской [12] областях и на Дальнем востоке России – в Хабаровском крае [51]. В 2011 г. за рубежом опубликованы результаты исследований российских ученых, доказавших способность *B. miyamotoi* вызывать возвратный тиф [139].

Частота обнаружения ДНК *B. miyamotoi* в таежных клещах в России варьирует от 1,8 % в Ленинградской области до 4,5 % в Новосибирской области [12] и 6,3 % в Удмуртии [13]. В некоторых регионах у 58 % больных безэритемной формой боррелиоза методом ПЦР в крови выявлялась ДНК *B. miyamotoi* [64].

По данным D. Sarksyun и соавт. [164], S. Jahfaris и соавт. [132], клинические случаи заболевания, вызываемого *B. miyamotoi* (БМЗ), составляют не менее 25 % всех случаев ИКБ, регистрируемых в России; не менее 50 тыс. человек ежегодно подвергаются присасыванию клещей, инфицированных *B. miyamotoi*. Последнее исследование американских специалистов указывает, что в эндемичных районах США заболеваемость БМЗ сопоставима с заболеваемостью иными клещевыми инфекциями [93]. Е. И. Бондаренко и соавт. [45] обнаружили ДНК БМ в 1,2–15 % клещей, отловленных в семи регионах Сибири и Дальнего Востока. Выявление данного генетического маркера в крови 47 из 487 обследованных лихорадящих пациентов с фактом присасывания клеща в анамнезе свидетельствует о том, что причиной развития лихорадки у этих больных явилась инфекция, вызванная БМ.

## **1.2 Патогенетические и клинические аспекты иксодовых клещевых боррелиозов и боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi***

Единой общепринятой клинической классификации ИКБ в мире не существует [20]. В США выделяют 3 стадии Лайм-боррелиоза: раннюю локализованную, раннюю диссеминированную и позднюю диссеминированную [81]. Согласно классификации ИКБ Ю. В. Лобзина и соавт. (1996), выделяют следующие формы болезни: по клиническим признакам – эритемную и

безэритемную; по течению – острую, подострую и хроническую; по степени тяжести – легкую, среднюю и тяжелую; по форме болезни – латентную и манифестную; по маркерам инфекции – серонегативную и серопозитивную [36].

Согласно классификации иксодовых клещевых боррелиозов В. И. Покровского (2012 г.) выделяют: по формам болезни – локализованную, генерализованную, хроническую и резидуальную; по вариантам течения – кожный (мигрирующая эритема), суставной, неврологический, кардиальный, офтальмологический, смешанный; по тяжести течения – легкую, средней степени, тяжелую.

Входными воротами при ИКБ является кожа, где после присасывания клеща, инфицированного боррелиями, со слюной происходит передача возбудителя и размножение в коже. Тропизм боррелий к мукополисахаридам соединительной ткани и коллагену за счет белков DbpA, DbpB, связывающих боррелии с декорином (коллаген-ассоциированным экстрацеллюлярным протеогликановым матриксом организма человека, имеющимся как в коже, так и в различных тканях), позволяет им задерживаться в месте внедрения [107]. Спирохеты не имеют собственных протеаз и используют плазминоген-активаторную систему организма человека для разрушения богатого фибриногеном внеклеточного матрикса, что приводит к распространению боррелий в коже, проникновению в сосуды и воспалению в окружающих тканях. Согласно данным российских и зарубежных авторов, в клинической картине преобладает эритемная форма ИКБ [3; 41; 30; 125]. Эритема (часто кольцевидная) более 5 см в диаметре возникает через 7–14 дней от момента укуса клеща (от 3 до 30 дней), локализуется вокруг места укуса, имеет округлую или овальную форму и тенденцию к распространению. В месте эритемы возможно повышение местной температуры, парестезии, кожный зуд. Н. Н. Воробьевой проведены морфологические исследования биоптатов кожи в области мигрирующей эритемы, установлен экссудативно-продуктивный характер воспаления, а на 3–5 неделе болезни – продуктивный с явлениями атрофии без нарушения коллагенеза с обнаружением боррелий в эпидермисе и дерме на периферии эритемы [10]. В

отсутствие антибактериальной терапии эритема спонтанно угасает в сроки от нескольких дней до нескольких недель (в среднем, около 4 недель). Другие симптомы включают лихорадку, лимфаденопатию, миалгии, артралгии [3; 8; 34; 109].

Мигрирующая эритема – классический специфический симптом ИКБ. Далее редко, преимущественно у больных, не получавших антибактериальную терапию, возможно распространение боррелий гематогенно, лимфогенно, или периневрально с попаданием соответственно либо во внутренние органы (печень, почки, сердце, селезенку), суставы, либо в центральную и периферическую нервную системы. Поражение нервной системы наблюдается редко и протекает в виде менингоорадикулоневрита (синдрома Баннварта), представляющего собой серозный менингит в сочетании с радикулитом и поражением черепномозговых нервов (чаще всего, в виде периферического паралича лицевого нерва). Описанная клиническая картина является проявлением ранней стадии диссеминации.

Поздними и персистирующими клиническими проявлениями ИКБ (стадия органных поражений, или поздней диссеминации) являются хронический артрит с поражением крупных суставов, хронический атрофический акродерматит, периферическая нейропатия, энцефалопатия, хронический прогрессирующий менингоэнцефалит, энцефаломиелит, последние развиваются редко, не более 5 % от случаев нейроборрелиоза. Также редко описаны случаи экстрапирамидных нарушений на фоне хронической боррелиозной инфекции. Поражение суставов при отсутствии антибактериальной терапии может возникать отсрочено, через несколько месяцев и даже лет после присасывания клеща, обычно в виде хронического олигоартрита, с асимметричным поражением одного из суставов (чаще коленных и локтевых). На поздних сроках болезни боррелии, играя роль пускового механизма, провоцируют развитие иммунопатологических процессов, определяющих патогенез хронического нейроборрелиоза и артритов.

Постановка диагноза ИКБ часто бывает сложной даже для высококвалифицированных врачей. Основным препятствием является то, что

только 30–40 % пациентов сообщают об укусе клеща и только у 70–80 % имеется характерная эритема. Она может остаться нераспознанной или ошибочно принятой за укус насекомого, или аллергическую сыпь. При наличии мини-эритемы ИКБ хуже диагностируется [161].

Большие сложности возникают при постановке диагноза «Хронический боррелиоз». Нередко пациенты обращаются с жалобами на сердцебиение, утомляемость, лимфаденопатию, артралгии, миалгии, ночные поты, нарушение сна, депрессию, когнитивные нарушения и др., хотя, как правило, никаких доказательств, что данные клинические проявления обусловлены боррелиями, нет. В некоторых случаях при этом обнаруживаются антитела к боррелиям, но не типичные клинические признаки [83; 124]. У других больных, которые получали ранее терапию по поводу клинически и лабораторно подтвержденного ИКБ, развивается так называемый пост-Лайм-боррелиозный синдром, когда продолжают вышеописанные неспецифические симптомы. В настоящее время не существует доказательств, что данный синдром вызван персистирующей боррелиозной инфекцией, но он часто диагностируется как хронический ИКБ [54]. При этом так называемые «Лайм-грамотные» врачи назначают долгосрочную антибактериальную терапию, но их диагноз не базируется на четко обозначенных клинических критериях или доказанных лабораторных тестах [84]. На фоне длительной терапии доксициклином или цефтриаксоном могут развиваться тяжелые осложнения (аллергические реакции, катетер-ассоциированные тромбозы и др.). По мнению P. Auwaerter [81], P. Lantos [144], нет убедительных данных существования хронического ИКБ, подтвержденного лабораторно, проявления варьируемы от синдрома постинфекционной усталости до аутоиммунных или интеркуррентных заболеваний. Дифференциальную диагностику необходимо проводить с болезнями соединительной ткани (ревматоидный артрит, остеоартрит, дегенеративные заболевания позвоночника, спондиллоартропатия и др.), нервными болезнями (рассеянный склероз, демиелинизирующие заболевания, боковой амиотрофический склероз, невропатии), синдромами (фибромиалгии, хронической усталости и др.).

До 2011 г. патогенность БМ была неизвестна. Клинические проявления острой стадии БМ в последние годы активно описываются в России и США [4; 9; 11; 14; 23; 24; 28; 41; 52; 64; 72; 89; 93] и в целом напоминают таковые КВЛ [86; 91; 97]. Изучение патофизиологии БМЗ опирается на экспериментальные модели. У мышей SCID развивается спирохетемия длительностью до 20 дней после внутрибрюшинного введения культуры БМ [95; 186] с последующим рецидивом спирохетемии низкой интенсивности. Изучение взаимодействия БМ с иммунной системой хозяина позволило установить, что активированные компоненты комплемента C3, C5, C7-9 слабо или не связывают БМ *invitro*. A. Teegler et al. [179], F. Rottgerding et al. [140] предполагают, что ингибирование каскада комплемента происходит на уровне C3-активации. Другие патогенетические механизмы развития БМЗ еще не изучены и, в частности, роль цитокинов в развитии воспаления и иммунного ответа.

Д. С. Сарксян и соавт. в 2010–2011 гг. у 50 больных с укусом клеща в анамнезе и лихорадкой, проживающих в Удмуртии, с помощью метода ПЦР в крови обнаружили ДНК *B. miyamotoi*. При детальном исследовании особенностей клинической картины установлено, что ведущими клиническими симптомами у данных пациентов были высокая лихорадка, слабость, головная боль, озноб и потливость. Результаты клинических, биохимических и инструментальных исследований указывали также на функциональные изменения печени (почти у 50 % больных), почек (у 10 % больных), сердца (у 6) и др. Напротив, ИКБ в эритемной форме (группа сравнения из 38 пациентов) протекал, как правило, в виде локализованной инфекции, без выраженного интоксикационного синдрома и признаков поражения органов [57].

M. S. Dworkin et al. [183] при клещевой возвратной лихорадке описали случай заболевания с развитием 6 эпизодов лихорадки. При БМЗ до настоящего времени описано не более 3 эпизодов лихорадки. K. Sato et al. [137] в 11 % случаев БМЗ выявили двух- и трехволновую лихорадку с интервалом между эпизодами от 2 дней до 2 недель. Частота повторных случаев лихорадки была высокой у пациентов, не получавших эмпирической антибиотикотерапии в

течение первого эпизода лихорадки. Д. С. Сарксян и соавт., проведя ретроспективное наблюдение за 79 пациентами, находившимися на лечении в Удмуртской Республиканской инфекционной больнице с диагнозом: заболевание, вызванное *B. miyamotoi*, подтвержденное методом ПЦР, установили рецидивирующее течение у 8 (10 %) больных, не получавших антибактериальную терапию [56]. При этом у 4 больных отмечено два эпизода лихорадки, у 2 – три, еще в 2 случаях непрерывный тип лихорадки не позволил выявить конкретное число эпизодов.

У 3 иммуносупрессированных пациентов 80, 74 и 70 лет из США Нидерландов, Германии, получавших химиотерапию по поводу онкологических заболеваний, описано поражение ЦНС, обусловленное *B. miyamotoi* и диагностированное как менингоэнцефалит с прогрессированием когнитивных нарушений в течение нескольких месяцев без лихорадки [82; 148], либо протекающее как острая нейроинфекция [88]. Все 3 случая сопровождались плеоцитозом с повышением уровня белка в ликворе. *B. miyamotoi* обнаружены в ликворе методом ПЦР – амплификацией с последующим секвенированием. Лечение одного больного проведено пенициллином внутривенно, второго и третьего – цефалоспорином в течение 2 недель. Данные сообщения указывают на то, что БМ имеют нейротропизм.

Описаны поражения сердца в остром периоде Лайм-боррелиоза, характеризующиеся изменениями ЭКГ в виде синусовой брадикардии, нарушений проводимости, диффузных мышечных изменений (85 % случаев); ЭХО-кардиоскопически выявлены нарушения диастолической функции миокарда, гидроперикард (59 %); умеренное повышение кардиоселективных ферментов сыворотки крови (53 %) – ЛДГ, ЛДГ1, КФК, КФК-МВ, АСТ [8].

Частое вовлечение в инфекционный процесс печени в остром периоде Лайм-боррелиоза характеризуется развитием более чем в 40 % случаев безжелтушного гепатита, признаками которого является умеренное повышение активности печеночных аминотрансфераз и размеров печени, незначительное снижение белоксинтезирующей функции печени, доброкачественное течение [8].

### 1.3 Методы диагностики иксодовых клещевых боррелиозов

Данные характерного эпидемиологического анамнеза (пребывание на эндемичной по боррелиозу территории, соответствующая сезонность, факт присасывания или наползания клеща), а также клинические проявления с наличием важного диагностического признака в виде мигрирующей эритемы позволяют поставить диагноз эритемной формы ИКБ без лабораторного подтверждения [121]. Однако у многих пациентов с аналогичным эпидемиологическим анамнезом, у которых в ближайшее после укуса клеща время развивается клиника инфекционного заболевания с лихорадкой, интоксикацией, но без мигрирующей эритемы, вполне возможно развитие клещевой инфекции, в том числе и боррелиозной этиологии в виде безэритемной формы ИКБ, либо боррелиоза, вызванного *B. miyamotoi*. Данный факт делает важным своевременное использование лабораторных методов диагностики клещевых инфекций для верификации диагноза и выбора рациональной терапии.

Лабораторные методы диагностики ИКБ могут быть разделены на две группы:

- методы выявления боррелий, либо их антигенов или нуклеиновых кислот [112; 117; 139; 170; 187].

- серологические методы, основанные на обнаружении антител к боррелиям различных геновидов [96; 147; 149; 185].

Культуральный метод чаще используется в научно-исследовательских целях и на практике диагностически значим лишь в отдельных ситуациях: при атипичной МЭ, у пациентов с иммунодефицитными состояниями. Из цельной крови, сыворотки или плазмы боррелии выделяются в единичных случаях из-за низкого уровня спирохетемии. При попадании боррелий в кровеносное русло, они захватываются эндотелиальными клетками сосудов, либо быстро выводятся с мочой, поэтому культуральный метод с исследованием крови малоинформативен [16]. Кожный биоптат из области мигрирующей эритемы чаще всего применяется в качестве материала для культивирования боррелий, при этом боррелии удаётся

выявить в 40 % случаев [31]. Культуральный метод не используется в практической медицине так же и в связи с особенностью боррелий к медленному размножению и высокой стоимостью [37; 38; 101]. Однако в настоящее время микробиологами изучается взаимодействие боррелий *burgdorferi* с Vero-клетками, последние являются моделью для изучения токсического потенциала многих бактериальных патогенов и культуральной средой для выращивания вирусов. Цитотоксический эффект боррелий *burgdorferi* при контакте с Vero-клетками установлен после 2 часов инкубации при 37 °С. В культуральной среде при выращивании боррелий обнаружены спирохетозные круглые цисты и небольшие гранулы, пока неизвестно, участвуют ли эти морфологические формы в адгезии и инвазии [169]. Изучение *B. miyamotoi* затрудняется тем, что до сих пор все попытки вырастить штаммы данной бактерии из крови человека были безуспешными [146]. А. Е. Платоновым и соавт. разработан протокол, позволяющий избежать ингибирующего действия антикоагулянтов на рост *B. miyamotoi* и добиться выделения культуры *B. miyamotoi* из крови пациентов [40].

Редкое обнаружение боррелий в клинических образцах затрудняет их микроскопию, а также делает малоприменимой методику определения антигена возбудителя в биологических жидкостях человека [118; 145].

С 1989 г. для выявления ДНК *B. burgdorferi sensu lato* используется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) [71; 167; 184]. ДНК боррелий можно обнаружить в крови, кожном биоптате, моче, цереброспинальной и синовиальной жидкости в зависимости от особенностей общей и локальной симптоматики [78; 61]. Иксодовый клещевой боррелиоз является, преимущественно, местной инфекцией с низкой чувствительностью ПЦР крови по выявлению ДНК боррелий – от 18 %, по данным J. L. Goodman et al. [41], J. L. Venach et al. [173]; до 38,5 %, по данным А. Б. Коньковой-Рейдман [78], и высокой (от 40 до 80 %) при исследовании методом ПЦР кожного биоптата из места эритемы, взятого в первые две недели от начала болезни [117; 120; 119; 143; 165]. При наличии признаков генерализованной инфекции с длительной лихорадкой, системными проявлениями, множественной эритемой ДНК боррелий в крови выявляется в 30–

40 % случаев [105; 135]. За счет того, что эндотелиальные клетки сосудов являются мишенью для *B. burgdorferi s. l.*, обнаружение ДНК данных бактерий в крови затруднительно даже в стадии диссеминации.

При использовании средств этиотропной терапии и в случаях запоздалой диагностики информативность ПЦР-диагностики уменьшается [68; 149]. Однако ДНК боррелий выявляется как на ранних сроках этиотропной терапии (4-5 день), так и после ее окончания [149]. Метод ПЦР до сих пор мало используется в практической медицине для верификации диагноза ИКБ вследствие того, что отсутствует стандартизация этапов его проведения, а также в связи с кратковременным пребыванием боррелий в крови, плазме, сыворотке [101]. Таким образом, молекулярно-генетические методы являются достаточно перспективными, однако в настоящее время служат лишь в качестве вспомогательных диагностических исследований на клещевой боррелиоз [140]. 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. Боррелии, обладая сложной генетической структурой, способны уклоняться от иммунного ответа. Благодаря этому, боррелии как высокоадаптированные микроорганизмы могут выживать вне- и внутриклеточно [149; 155].

Антитела класса IgM определяются спустя 1–3 недели после инфицирования, класса IgG выявляются через 1–3 недели после появления IgM-антител, максимальное количество IgG-антител образуется спустя 1,5–3 месяца после инфицирования боррелиями [171]. Серодиагностика не всегда является информативной. Антитела класса IgG могут не выявляться на ранней локализованной стадии заболевания или в тех ситуациях, когда антимикробная терапия используется с первых дней от начала ИКБ. С другой стороны, антитела в

крови могут сохраняться годами, что создает определенные трудности в оценке эффективности лечения. Известно, что антитела класса IgG циркулируют в крови длительный срок (от нескольких месяцев до нескольких лет), даже после успешной антимикробной терапии и излечения инфекции [110; 160]. ИФА может быть и ложноположительной, например, за счет присутствия в крови специфических антител при заболеваниях, вызываемых спирохетами (сифилис, возвратный тиф). Возможен перекрест в иммунологических реакциях из-за наличия совпадения 59 % ДНК у *B. burgdorferi* и других видов боррелий (*B. recurrentis* – возбудитель эпидемического вшивого тифа; *B. sogdianum* – возбудитель среднеазиатского эндемического клещевого возвратного тифа). Ложноположительные серологические реакции на боррелиоз иногда наблюдаются у больных лептоспирозом, а также при ревматических заболеваниях, при системных заболеваниях соединительной ткани, инфекционном мононуклеозе и зостер-вирусной инфекции [19].

Возможны серонегативные варианты течения ИКБ, как и любых других инфекционных заболеваний. Низкий уровень антител IgG к боррелиям иногда выявляется при сочетании ИКБ с инфекционным мононуклеозом, гепатитом В, ревматическими болезнями (системная красная волчанка), с заболеваниями периодонта, у 5–15 % здоровых лиц из эпидемической зоны [11; 22].

Серологическая диагностика Лайм-боррелиоза, согласно международным рекомендациям, предложенным Второй национальной конференцией (октябрь, 1994 г., США) для выявления активной боррелиозной инфекции, а также Европейских согласованных действий при Лайм-боррелиозе (EUCAB), основывается на двухшаговом принципе. Первый этап предполагает использование скрининговых методов: РНИФ или ИФА. Второй – подтверждение полученных результатов с помощью метода иммунного блоттинга [35; 104; 122]. Согласно этому руководству, иммуноблот не должен проводиться при отрицательном ИФА. В 2011 г. СДС (США) изменил свое определение случая ИКБ и включил одноуровневую IgG-серопозитивность в иммуноблоте в качестве диагностического критерия [102]. При использовании иммуноблотинга (ИБ), если

в последнем выявляются две из трех «полос окрашивания» антигенов: 24kDa (OspC– молекулярный вес варьирует), 39kDa (BmpA) и флагеллин– 41kDa (Fla), результат считается положительным ИБ для IgM. Для IgG требуется выявления как минимум пяти из десяти «полос окрашивания» антигенов: 18kDa, 21kDa (OspC– молекулярный вес варьирует), 28kDa, 30kDa, 39kDa (BmpA), 41kDa (Fla), 45kDa, 58kDa (heGroEL), 66kDa и 93kDa. В России стоимость этого метода высока, ввиду гетерогенности возбудителей ИКБ иммунный блоттинг не всегда до конца решает вопросы серологической диагностики из-за отсутствия возможности определения на одном стрипе спектра антител по классам [73].

В последнее время разрабатывается диагностика ИКБ с оценкой микрочипов для обнаружения специфических антител боррелий в образцах сывороток больных. В тестах используются рекомбинантные антигены VlsE, p39, p58, p100, OspC, DbpA для определения IgG и/или IgM [123]. По данным О. В. Бесхлебовой и соавт., серологическая диагностика ИКБ с определением IgM методом иммуночипов эффективна со второй недели болезни [7].

#### **1.4 Диагностика боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi***

В последние годы показано, что заболевание, диагностируемое как ИКБ в безэритемной форме, в большинстве случаев вызывается другой спирохетой – боррелиями вида *Borrelia miyamotoi*, при этом ДНК данного вида боррелий часто обнаруживается в крови больных, что указывает на наличие спирохетемии в патогенезе БМЗ [55; 91]. Диагностика данного спирохетоза проблематична в связи с рядом обстоятельств:

- при обследовании пациентов с БМ коммерческими тестами выявляются антитела к антигенам боррелий комплекса *B. burgdorferi s. l.*, возбудителей ИКБ. Доступные наборы для серологической диагностики не позволяют дифференцировать антитела к боррелиям разных видов [116];

- для БМ не характерны патогномоничные для ИКБ признаки заболевания, такие как первичный аффект, эритема, но присутствуют неспецифические

клинические симптомы (лихорадка, интоксикация, артралгии, миалгии и др.), которые также являются проявлениями КЭ и безэритемной формы ИКБ;

- в лечебных учреждениях РФ до настоящего времени отсутствует опыт диагностики данного заболевания.

В настоящее время для выявления БМЗ у человека успешно используются два диагностических варианта: серодиагностика и ПЦР. Твердофазный иммуносорбентный анализ (Elisa) и подтверждающий Вестерн-Блот анализ образцов сыворотки крови человека были использованы для выявления антител к GlpQ – группоспецифическому антигену *B. Miyamotoi* [96; 132; 157], P. Molloy et al. [93]; K. Sato et al. [137] для обнаружения и оценки *spp. Borrelia* использовали специфические ПЦР в реальном времени (ПЦР Real-time) и применили технологии секвенирования нового поколения.

Е. И. Бондаренко и соавт. [16; 45] разработали набор реагентов «РеалБест ДНК *B. miyamotoi*» и провели исследования, основанные на принципе ПЦР в реальном времени, направленные на дифференцированное определение БМ и возбудителей ИКБ в образцах крови 250 больных, поступивших после присасывания клеща в ГИКБ №1 Новосибирска. Из них у 13 % доказана клещевая инфекция, вызванная БМ при отрицательных анализах на РНК вируса КЭ и ДНК *B. burgdorferi s. l.* Концентрация ДНК БМ в крови оказалась высокой, варьируя от 200 до 250 000 копий/мл. Специфичность выявления боррелий подтверждена секвенированием.

Для выявления различных видов боррелий, в том числе в поздние сроки болезни, сотрудниками ЦНИИ Эпидемиологии в 2012 г. разработана методика серологического исследования с использованием реакции иммунного чипа, в основе которой раздельное определение группоспецифических антител – анти-GlpQ (специфичный маркер группы возвратных лихорадок) и анти-OspC (и др.) – маркер *B. burgdorferi sensu lato*. Результаты показали высокую чувствительность реакции – вероятность обнаружения анти-GlpQ IgM в разгаре боррелиоза *miyamotoi* превышала 80 %, анти-GlpQ IgG – 50 %. Методика иммунного чипа убедительно продемонстрировала высокую специфичность –

течение боррелиоза *miyamotoi* сопровождалось накоплением специфических антител, не обнаруживаемых при эритемной форме ИКБ, сифилисе и лептоспирозе (другие представители семейства спирохет). Безусловна роль иммунного чипа в обследовании больных с нозологически неподтвержденными диагнозами в сезон клещевых инфекций – ОРЗ, ОКИ, внебольничная пневмония, лакунарная ангина; изучении коллективного иммунитета и обследовании реконвалесцентов [58].

Установлено, что антитела к GIpQ появляются у лиц, подвергшихся нападению клещей в Нидерландах, в США ИФА с определением анти-GIpQ используют для ретроспективной идентификации случаев боррелиоза, вызванного *B. miyamotoi* [93; 95; 142; 168].

*B. miyamotoi*, подобно другим боррелиям группы возвратных лихорадок, имеют множественные гены на плаزمиде, кодирующие вариабельные главные белки (Vmps), которые состоят из различных больших Vlps и малых Vsps белков [84]. Отдельные спирохеты экспрессируют определенный Vmp, определяющий серотип. Может возникать спонтанное переключение генов, что приводит к увеличению малой популяции, экспрессирующей другие Vmps. Образование антител продолжается к данным малым белкам. У 70 % больных с ПЦР-доказанным БМЗ обнаружены антитела против Vmps. Это подтверждает, что данные антигены могут использоваться как диагностические маркеры боррелиоза *miyamotoi* [92; 186].

В настоящее время серологический ответ при БМ в деталях не изучен, диагностический его потенциал, основанный на обнаружении антител к антигенам, отличным от GrQ, остается требующим пояснения. J. Koetsveld et al. [170] описали динамику наработки IgM и IgG против GrQ и Vmps при боррелиозе *miyamotoi* и показали диагностическую значимость этих антигенов, тестируя сыворотки, взятые в динамике заболевания у пациентов с подтвержденным методом ПЦР крови диагнозом. Исследованы 182 сыворотки от 50 пациентов с боррелиозом *miyamotoi*, взятые из двух городов – Ижевска (Европейская часть РФ) и Екатеринбурга (Азиатская часть РФ) при поступлении больных, во время

лечения и в течение 2–12 месяцев после начала болезни. Также в исследование были включены сыворотки от пациентов с подтвержденным серологически ИКБ (30), клещевым энцефалитом (20) из тех же географических регионов, сыворотки от 96 здоровых доноров из северной части Норвегии, не эндемичной по клещевым инфекциям. В острой и реконвалесцентной фазах боррелиоза *miyamotoi* уровень IgM против GrQ и VlpS оказался значительно повышенным. Концентрация IgG против GrQ и Vlp15, 16 и в несколько меньшей степени против Vlp5 и Vlp18 также увеличивалась в сыворотках больных с боррелиозом *miyamotoi*, взятых в ранней и поздней фазах инфекционного процесса. Пик чувствительности IgM против GrQ (90 %) и Vlp15, 16 (84 %) отмечался с 11 по 20 день от начала болезни. Максимальная чувствительность реакции по выявлению IgG против GrQ (87 %) определялась на 21–50 дни от начала болезни (как при ИКБ). Пик чувствительности к IgG против Vlp15, 16 наблюдался раньше – на 11–20 дни, но он был ниже по сравнению с таковым при определении IgG против GrQ (63 %). Под чувствительностью теста понимается его способность “уловить” данную инфекцию. Если проводится одновременное определение IgM против GrQ и VlpS на 11–20 дни болезни, чувствительность теста повышается до 95 %, специфичность (отсутствие ложноположительных реакций) – до 97 %. Комбинированное определение IgG против GrQ и VlpS не повышает чувствительность теста (86,7 %), но специфичность увеличивается до 98,3 %. Через год от начала боррелиоза *miyamotoi* IgM не определяются, уровни IgG против GrQ и VlpS снижаются, но сохраняются. Преимущества настоящего исследования заключались в том, что серологический профиль боррелиоза *miyamotoi* изучался в ПЦР-доказанной когорте, в динамике заболевания с продолжительными наблюдениями (до года), использовались разные контрольные группы (при КЭ и ИКБ ложноположительные реакции были единичными и не подтверждались иммуноблотом). Негативный серологический ответ при ПЦР-доказанном боррелиозе *miyamotoi* можно объяснить ранним применением антибиотиков (антитела не успевают образоваться). Использование в диагностических алгоритмах определения комбинаций антител позволит

своевременно выявлять данную нозологическую форму, может быть основой для эпидемиологических исследований, правильно определять терапевтическую тактику (выбор антибактериального препарата).

Неспецифическими признаками, позволяющими отличить БМЗ от ИКБ и клещевого энцефалита, можно считать тромбоцитопению, лейкопению и лимфоцитопению, повышение активности аланинаминотрансферазы [29], однако эти признаки не позволяют дифференцировать боррелиоз *miyamotoi* от других клещевых инфекций, например, «новых» риккетсиозов, эрлихиоза, анаплазмоза. Более специфичным является сочетание при БМЗ указанных лабораторных признаков с нарушением фильтрационной и концентрационной функций почек, и структурными (эхоскопическими) изменениями почек, встречающимися у 15,8 %–20–40 % больных [26; 62], а также клинико-лабораторными признаками поражения сердца (38 %) [26].

### **1.5 Характеристика цитокинового статуса при различных клинических формах иксодовых клещевых боррелиозов**

В патогенезе ИКБ активно изучается роль иммунной системы. Установлено, что формирование специфического иммунного ответа обусловлено, в большей мере, активацией клеточного звена иммунитета. Для ИКБ характерно медленное антителообразование, прежде всего, за счет низкой иммуногенности боррелий, а также за счет несостоятельности гуморального и клеточного звеньев иммунитета на ранних этапах болезни [50]. Измеряемые уровни противоборрелиозных антител на антигены боррелий появляются позже, чем специфические Т-клетки с пролиферативной активностью. Установлено, что при ИКБ при благоприятном иммунном ответе Th1-звено преобладает над Th2. Благодаря Th1-звену иммунитета, который является эффекторным, происходит усиление фагоцитоза и цитотоксичности Т-лимфоцитов. Указанные механизмы осуществляют освобождение организма от боррелий [32; 33; 41; 59; 61]. По данным Н. В. Скрипченко, стойкий выраженный первичный Th1-ответ у больных ИКБ

должен инициировать антагонистический Th2-иммунный ответ [61]. Первичный клеточный Th1-ответ ассоциирован с высокими или нормальными значениями Th1-цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-18, ИЛ-23, ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$  и ФНО $\beta$ ). Гуморальный иммунный ответ связан с продукцией ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ10, ИЛ-13, ИЛ-33 [79].

По данным Н. В. Андроновой и соавт. [4], Н. С. Миноранской [42], отличительными чертами иммунных изменений у пациентов с эритемной и безэритемной формами ИКБ следует считать дефекты клеточного (сниженное количество CD3 $^{+}$  и цитотоксических CD8 $^{+}$  лимфоцитов), фагоцитарного (сниженные уровни ФИ и ЧФН в разгаре болезни) и гуморального (сниженный уровень общих IgM) звеньев иммунитета при безэритемной форме заболевания. При эритемной форме ИКБ отмечены высокие значения CD3 $^{+}$ , ИЛ-4 и средний уровень продукции ИЛ-8. При безэритемной форме оказался усиленным синтез ИЛ-8, он оставался повышенным и в периоде реконвалесценции. В последние десятилетия активно изучается роль цитокинов в координации механизмов врожденного и приобретенного иммунитета, направленных на уничтожение возбудителя, в том числе и при ИКБ [30; 41; 42; 61; 75; 76]. В очаге размножения боррелий макрофаги, кератиноциты, эпителиоциты секретируют провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1, 6, 8, фактор некроза опухолей. Они активируют местные механизмы защиты от боррелий, но с другой стороны, повышая проницаемость сосудов, способствуют распространению возбудителя. Провоспалительные цитокины доминируют в начальной фазе ИКБ, затем высвобождаются противовоспалительные цитокины, что способствует купированию воспалительных процессов. До настоящего времени остаются противоречивыми сведения об иммуноопосредованных механизмах регуляции и продукции цитокинов при разных вариантах ИКБ. По данным Ю. П. Васильевой и соавт., цитокиновый ответ при боррелиозной инфекции достигает пика уже в первые 2-4 дня от начала болезни – в разгаре мигрирующей эритемы. При этом основными продуцентами цитокинов являются иммунокомпетентные клетки кожи в очаге размножения боррелий, а также мигрирующие в очаг воспаления

лимфоциты, нейтрофилы. Избыток цитокинов из очага воспаления попадает в кровь, обеспечивая общеинфекционный синдром. В разгаре воспаления преобладают клеточные механизмы элиминации боррелий с образованием ИФН- $\gamma$  (Th1, ЕК, CD8+), ФНО (макрофаги, дендритные клетки), ИЛ-8 (нейтрофилы, макрофаги). Одновременно активируются Th2-ответ с усилением продукции ИЛ-4, способствующего антителообразованию. Непосредственное уничтожение боррелий осуществляется фагоцитами, которые активируются ИФН- $\gamma$  и опсонинами-антителами [24].

Г. Ф. Железниковой сформулирована концепция 4 вариантов иммунного ответа при острых инфекциях с различным соотношением Th1 и Th2-ответов в связи с его индивидуальным характером, который зависит от исходного состояния альтернативных ростков иммунитета, а также предложена гипотеза о саморегуляции иммунного ответа, направленная на селективную активацию недостающего механизма защиты [18].

Известно, что ИЛ-8 служит хемокином для нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов, приводит к миграции этих клеток к участку тканевого повреждения. В организме ИЛ-8 является активным нейромедиатором воспаления, передающим информацию через рецепторы. Другая его функция – создание в эндотелиальных клетках специфических рецепторов, которые взаимодействуют с моноцитами и нейтрофилами, обеспечивая их скопления в местах воспалений. В клинко-лабораторной практике уровень ИЛ-8 в крови рассматривается как показатель активности воспалительных процессов, определяется методом ИФА с применением реагентов моноклональных антител.

По данным Г. Ф. Железниковой и соавт., безэритемная форма ИКБ характеризовалась наименьшим уровнем продукции ИЛ-8 и промежуточными уровнями CD3+ и CD4+ [18]. Очевидно, что отсутствие эритемы обусловлено низкой интенсивностью местного воспалительного процесса. Эти особенности связаны с низким хемотаксисом нейтрофилов и макрофагов в очаг воспаления и, вследствие этого, последующей сниженной активацией иммунных механизмов на системном уровне. Авторы предположили, что именно уровень продукции ИЛ-1В

(и возможно, других хематтрактантов) обуславливает развитие клинических форм (эритемной или безэритемной) боррелиозной инфекции.

Интерлейкин-6 (ИЛ-6) также является одним из основных медиаторов острой фазы воспаления. Он стимулирует мобилизацию энергии в мышечной и жировой ткани, что приводит к повышению температуры тела. Интерлейкин-6 стимулирует синтез печенью белков острой фазы, лейкоцитопоз, активирует пролиферацию и дифференцировку В- и Т-клеток. Секретируется макрофагами, фибробластами, клетками сосудистого эндотелия, Т-клетками, глиальными клетками, эпителиальными и кератиноцитами кожи. Продукция ИЛ-6 повышается после их активации патоген-связанными молекулами (части вирусов, бактерий и грибов, липополисахариды), опосредованной Toll-подобными рецепторами, также выработка стимулируется другими медиаторами ответа острой фазы интерлейкин-1 (ИЛ-1) и фактором некроза опухоли. Референсные значения ИЛ-6 находятся в пределах от 0 до 5,9 пг/мл.

При боррелиозе ИЛ-6, ИЛ-1 и ФНО как медиаторы воспаления могут принимать участие в развитии лайм-артрита и других аутоиммунных поражений. По данным Ю. В. Васильевой и соавт. [24], у детей в остром периоде ИКБ уровень ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО повышался, в динамике болезни происходила нормализация уровня ИЛ-6 у всех обследованных.

По данным Д. Ю. Мошковой, М. Г. Авдеевой [43], для острого течения эритемной формы клещевого боррелиоза характерно достоверное повышение уровня ИЛ-1 $\beta$ , ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4 при сохранении у большинства больных нормальных значений ИЛ-2 и низких значений ИЛ-10.

Интерлейкин-10 является ключевым противовоспалительным цитокином. Источники ИЛ-10 – макрофаги, моноциты, кераноциты, Th2, В-лимфоциты и др. Продукция ИЛ-10 происходит под влиянием экзогенных и эндогенных факторов, таких как эндотоксины, катехоламины и др. Свои эффекты ИЛ-10 осуществляет через рецепторный комплекс, экспрессирующийся на поверхности многих клеток, вырабатывающих провоспалительные цитокины, но главные мишени для него – антигенпрезентирующие клетки и лимфоциты. Помимо противовоспалительного

и антицитокинового действия, ИЛ-10 является «защитой» для эндотелия сосудов, ослабляя эффекты ангиотензина II, активированного продуктами оксидативного стресса [21]. Под влиянием ИЛ-10 усиливается гуморальный иммунный ответ, реализуемый Th2, стимулируется синтез IgE. Другими словами, ИЛ-10 формирует гуморальную составляющую иммунного ответа, обуславливает аллергическую реактивность. Определяется в сыворотке методом ИФА, коридор референсных значений составляет от 0 до 9,1 пг/мл.

По данным А. В. Гордеец и А. А. Черниковой [14], при ИКБ у детей формируется Th1-ответ, выражающийся в высоких значениях провоспалительных цитокинов (ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1) в остром периоде и их снижении по мере выздоровления. Уровень ИЛ-10 в остром периоде как при эритемной, так и безэритемной формах мало отличался от контрольных значений, в динамике достоверно повышался. Такая тенденция указывает на формирование смешанного Th1/Th2 адекватного иммунного ответа, приводящего к благоприятному исходу.

В исследованиях цитокинового статуса при ИКБ, проведенной на территории Республики Башкортостан Л. Д. Шарифуллиной и соавт. [75; 76], установлено значительное повышение провоспалительных цитокинов (ФНО, ИЛ-6, 8, 18) в периоде разгара заболевания. В динамике только через 3 месяца произошла нормализация содержания ИЛ-6, 8, а уровень ИЛ-10 в эти сроки оставался повышенным по отношению к контрольной группе и только через 6 месяцев нормализовался. Заболевание закончилось выздоровлением у всех больных.

Таким образом, в отечественной и зарубежной литературе существует немного работ, посвященных изучению цитокинового профиля у больных ИКБ. По данным большинства исследователей, при эритемной форме превалирует Th1 тип иммунного ответа, обеспечивающий освобождение организма от боррелий. При безэритемной форме чаще встречается смешанный Th1/Th2 иммунный ответ с последующим переключением на Th2 тип иммунного ответа. Дисбаланс в системе цитокинов, в частности, длительное сохранение высокой продукции ИЛ-8 в динамике ИКБ, может свидетельствовать о прологировании

воспалительного процесса и формировании хронического течения. Однако данные о синтезе провоспалительных ИЛ-8, ИЛ-6 и противовоспалительного ИЛ-10 единичны и разноречивы, не изучена цитокиновая регуляция при БМЗ.

## 1.6 Лечение боррелиоза *miyamotoi*

Европейский Союз согласованных действий при Лайм-Боррелиозе (EUCALB), объединив рекомендации экспертов из ведущих европейских стран, являющихся эндемичными по ИКБ, предложил рекомендации по лечению мигрирующей эритемы, нейроборрелиоза и Лайм-артрита [122]. Препараты для лечения ИКБ на различных этапах у детей и взрослых в Европе представлены в таблице 1. Рекомендации по лечению инфекции *B. miyamotoi* основаны на нескольких отчетах о случаях и сериях, которые опубликованы до сих пор и дополнены рекомендациями по лечению других рецидивирующих лихорадок [95; 137; 142].

Таблица 1 – Выбор препарата, режим дозирования и длительность курса АБТ при различных формах ИКБ (по рекомендации EUCALB, 2014)

Препарат	Способ введения	Дозировка		Длительность курса
		взрослым	детям	
Мигрирующая эритема и лимфоцитомы <sup>1</sup>				
Доксициклин <sup>2</sup>	Per os	2 × 100 мг	возраст-ограниченное использование**	14 дней (10–21 день)
Амоксициллин	Per os	3 × 500–1 000 мг	25–50 мг/кг	14 дней (10–21 день)
Цефуроксим аксетил	Per os	2 × 500 мг	30–40 мг/кг	14 дней (10–21 день)
Феноксиметилпенициллин	Per os	3 × 1,0–1,5 млн ЕД	0,1–0,15 млн ЕД/кг	14 дней (10–21 день)
Азитромицин <sup>3</sup>	Per os	2 × 500 мг	20 мг/кг	Первый день Следующие 4 дня
		1 × 500 мг	10 мг/кг	

## Продолжение таблицы 1

Препарат	Способ введения	Дозировка		Длительность курса
		взрослым	детям	
Нейроборрелиоз <sup>4</sup>				
Цефтриаксон <sup>5</sup>	В/венно	2 г	50–100 мг/кг	14 дней (10–30 дней)
Бензилпенициллин	В/венно	20 млн ЕД	0,25–0,5 млн Ед/кг	14 дней (10–30 дней)
Доксициклин <sup>2</sup>	Per os	2 × 100 мг или 200 мг	возраст-ограниченное использование <sup>2</sup>	21 день (14–30 дней)
Артрит (интермиттирующий или хронический) и кардиоборрелиоз <sup>5</sup>				
Доксициклин <sup>2</sup>	Per os	2 × 100 мг	возраст-ограниченное использование <sup>2</sup>	21 день (14–30 дней)
Амоксициллин	Per os	3 × 500–1 000 мг	25–50 мг/кг	21 день (14–30 дней)
Цефтриаксон <sup>5</sup>	В/венно	2 г	50–100 мг/кг	Цефтриаксон <sup>5</sup>
Хронический атрофический акродерматит				
Цефтриаксон <sup>5</sup>	В/венно	2 г	50–100 мг/кг	Цефтриаксон <sup>5</sup>
Доксициклин <sup>2</sup>	Per os	2 × 100 мг	возраст-ограниченное использование <sup>2</sup>	Доксициклин <sup>2</sup>
Амоксициллин	Per os	3 × 500–1 000 мг	25–50 мг/кг	Амоксициллин
Примечания:				
<sup>1</sup> Лечение множественной мигрирующей эритемы (вторичные, рецидивирующие эритемы) – как нейроборрелиоз.				
<sup>2</sup> Доксициклин не должен использоваться у детей младше 8 лет (12 лет в некоторых странах) или у беременных и кормящих женщин.				
<sup>3</sup> Азитромицин рассматривается преимущественно в качестве альтернативного лечения для детей и беременных или кормящих грудью женщин, страдающих аллергией на пенициллин.				
<sup>4</sup> Использование доксициклина, как правило, ограничивается ранним нейроборрелиозом. При позднем нейроборрелиозе рекомендуется парентеральное лечение в течение 2–4 недель.				
<sup>5</sup> Другие цефалоспорины третьего поколения, такие как цефотаксим, также эффективны.				

Не было никаких исследований или экспериментальных данных, опубликованных в отношении чувствительности *B. miyamotoi* к антибиотикам как

*in vitro*, так и *in vivo*. Поэтому оптимальные антибиотики выбора, их дозы и продолжительность лечения еще не определены.

Доксициклин (100 мг перорально каждые 12 часов в первые сутки, затем по 100 мг), назначаемый в течение 7–14 дней, используется наиболее часто для пациентов, с боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi* [82; 139; 148]. На фоне лечения доксициклином происходит снижение температуры и купирование интоксикационного синдрома. Внутривенный цефтриаксон (2 г один раз в день), назначенный курсом в 14 дней, или пенициллин G (24 млн ед. в день), назначенный на четыре недели, успешно использовался у двух пациентов с менингоэнцефалитом.

Амоксициллин или цефуроксим, назначаемые перорально, являются альтернативой доксициклину или другому тетрациклину, которые обычно противопоказаны для детей до 8\12 лет и для беременных и кормящих женщин. Данные антибиотики обычно используются для лечения болезни Лайма и, как ожидается, будут эффективны против инфекции *B. miyamotoi*. Пенициллин G или цефотаксим являются альтернативой цефтриаксону для парентеральной терапии зарегистрированного или подозреваемого поражения ЦНС или другой тяжелой инфекции. Азитромицин также, вероятно, будет купировать инфекцию, но макролиды, как правило, менее эффективны для боррелиозов, чем тетрациклины и большинство бета-лактамовых антибиотиков. *B. miyamotoi*, вероятно, будут относительно устойчивы к фторхинолонам и аминогликозидам. Если предположить, что у больного подозревается риккетсиоз как микст-инфекция с БМЗ, то доксициклин, но не бета-лактамовые антибиотики или макролиды, вероятно, будет эффективным для обеих инфекций [82].

Реакция Яриша-Герксгеймера представляет собой часто встречающееся, умеренное и серьезное неблагоприятное воздействие первой или двух доз антибиотиков на рецидивирующую лихорадку [130]. Последняя возвращается или увеличивается до  $\geq 40$  °C. Сопутствующие ознобы сопровождаются потоотделением. Внезапно могут развиваться гипотония и шок, что опасно для жизни. У больного из США с менингоэнцефалитом БМ-этиологии развились

проявления реакции Яриша-Герксгеймера, включая гипотензию, через несколько часов после первоначальной дозы цефтриаксона [148]. Предупреждение данного осложнения включает в себя наблюдение за пациентом в динамике после введения антибиотиков и обеспечение мониторинга и вспомогательных мер, таких как инфузионная терапия и жаропонижающие средства.

Суммируя данные обзора литературы, можно сделать заключение, что диагностика боррелиозов остается нерешенной проблемой во всем мире. Для расшифровки многих синдромов неясного происхождения необходимо надежное тестирование на ИКБ. Важно проводить надлежащие фундаментальные и клинические исследования, поскольку это будет наиболее экономически эффективным способом обеспечения точного диагноза больным и принятия решений о рациональном лечении [175]. Новые методы ПЦР с секвенированием могут оказаться высокоинформативными в выявлении моно- и микст-боррелиозной инфекции с учетом большого разнообразия боррелий и до конца не изученной их патогенности.

Современные данные об использовании ПЦР для диагностики БМ единичны и противоречивы. Недостаточное количество исследований по детекции ДНК при БМЗ связано с тем, что в стране отсутствовала методика постановки ПЦР, не производились стандартные ингредиенты для постановки теста. То же касается и ИФА-диагностики. В большинстве опубликованных работ ДНК БМ определяется только в крови. Мало исследований по определению БМ в ликворе больных с поражением ЦНС и укусом клеща в анамнезе. Сравнительный анализ результатов современных методов обследования больных БМ – ПЦР крови и ИФА сыворотки крови – в доступной литературе нам не встретился. Серологический профиль при БМЗ изучался только в двух регионах РФ – Ижевске и Екатеринбурге. За последнее время ряд отечественных и зарубежных производителей, и в частности, ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), НИИ эпидемиологии (Москва) осуществили выпуск праймеров и тест-систем для ПЦР- и иммуночиповой диагностики БМЗ. Это позволит расширить возможности верификации диагноза БМЗ и сделать данную новую нозологическую форму

регистрируемой.

БМЗ является недавно признанным Ixodes-передаваемым заболеванием в Европе, Азии и Америке и должен быть частью дифференциальной диагностики пациентов с лихорадкой из эндемичных регионов по ИКБ. Присутствие БМ в естественной среде обитания с частыми посещениями человеком может иметь неизвестные последствия для здоровья населения.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Общая характеристика обследованных групп людей

В исследование было включено 728 пациентов в возрасте от 18 до 87 лет, поступивших в Государственное бюджетное учреждение здравоохранения городскую инфекционную клиническую больницу №1 (ГБУЗ ГИКБ №1) Новосибирска в период с апреля по сентябрь в 2015 г. (164 человека), 2016 г. (255 человек) и 2017 г. (309 больных). Исследование одобрено локальным этическим комитетом при ГБУЗ Новосибирской области «Городская инфекционная клиническая больница №1».

Критериями включения пациентов в исследования являлись:

- возраст старше 18 лет;
- наличие в анамнезе указания на присасывание клеща;
- подписанное больным «Добровольное информированное согласие на участие в исследовании».

Критериями исключения пациентов из исследования были:

- наличие хронических соматических заболеваний в фазе обострения;
- наличие аутоиммунных заболеваний;
- наличие других острых инфекционных заболеваний, либо хронических инфекционных заболеваний, имеющих непрерывное прогрессирующее течение (ВИЧ-инфекция, хронические вирусные гепатиты).

Обследование больных включало:

- сбор жалоб при опросе;
- сбор анамнеза болезни с уточнением срока от момента присасывания клеща до начала клинических проявлений и госпитализации в стационар;
- сбор анамнеза жизни с уточнением характера сопутствующих соматических заболеваний;
- уточнение эпидемиологического анамнеза с учетом возможности в прошлом заболеваний клещевыми инфекциями, информации об активной либо

пассивной иммунизации или вакцинации против КЭ и превентивном приеме антибиотиков после присасывания клеща. При опросе выяснялись район Новосибирской области, где произошло присасывание 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;

- определение степени тяжести осуществлялось с учетом классификации в зависимости от продолжительности лихорадочного периода, степени изменения общего состояния и выраженности основных симптомов болезни. Оценивали клинические симптомы на догоспитальном этапе и в стационаре на фоне проводимой антибактериальной терапии (доксциклин перорально 100 мг в сутки или цефтриаксон 2 г в сутки внутримышечно в течение от 5 до 10 дней, или пенициллин 8 млн МЕ в сутки от 7 до 10 дней);

- всем пациентам выполнялось исследование общего анализа крови и мочи, биохимическое исследование крови с определением активности печеночных трансаминаз (АлАТ и АсАТ). При изменении данных показателей и/или появлении клинических признаков, указывающих на патологию печени, кровь больных исследовалась на маркеры вирусных гепатитов В и С;

- молекулярно-генетические и серологические методы исследования, выполнялись с помощью коммерческих диагностических наборов, обеспечивающие ПЦР в реальном времени для выявления возбудителей вирусного клещевого энцефалита (вируса КЭ), иксодового клещевого боррелиоза (*Borrelia burgdorferi sensu lato*), клещевого риккетсиоза (*R. sibirica*), а также лабораторные наборы для верификации боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, клещевых риккетсиозов (*R. raoultii*, *R. slovaca*, *R. aeschilmanii*), вируса Кемерово.

Лабораторные исследования выполнялись при личном участии автора на базе Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,

Новосибирск (ИХБФМ СО РАН, лаборатория молекулярной микробиологии, заведующий лабораторией д-р мед. наук Н. В. Тикунова). На базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва (ФБУН ЦНИИЭ) в лаборатории природно-очаговых инфекций (заведующий лабораторией д-р мед. наук, профессор А. Е. Платонов) проводилась серологическая диагностика боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, методом иммуночипов.

При постановке диагноза клещевой инфекции учитывалась совокупность клинико-эпидемиологических и лабораторных данных. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

В качестве контрольной группы для определения уровня цитокинов в крови участвовали 14 здоровых человек (6 мужчин и 8 женщин в возрасте  $44,8 \pm 3,3$  лет), не болевших ранее клещевыми инфекциями, не подвергавшихся укусам клещей и имевших отрицательные результаты иммуноферментного анализа (ИФА) на маркеры ИКБ и отрицательные результаты ПЦР на наличие ДНК *B. burgdorferi sensu lato* и *B. miyamotoi*.

Диагноз ИКБ верифицирован у 149 (20,5%) больных на основании данных эпидемиологического анамнеза (присасывание клеща), клинических проявлений (при эритемной форме наличие на теле эритемы 3-5 и более сантиметров в диаметре). У 33 (100 %) больных с безэритемной формой и у 60 (51,7%) с эритемной диагноз подтвержден серологически – определением антител класса IgM к антигенам боррелий в парных сыворотках. Из этой группы были исключены единичные больные с маркерами других клещевых инфекций.

Диагноз боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, установлен у 74 (10,3 %) пациентов на основании типирования у 100 % данных больных ДНК возбудителя в различных биологических материалах от больных (в крови, ликворе).

Диагноз клещевого энцефалита (КЭ) установлен у 93 (12,7 %) больных на основании обнаружения антител класса IgM методом ИФА в сыворотке крови. У 31 больного с помощью метода ПЦР в крови выявлена РНК вируса КЭ и у 3 больных – в ликворе.

## ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

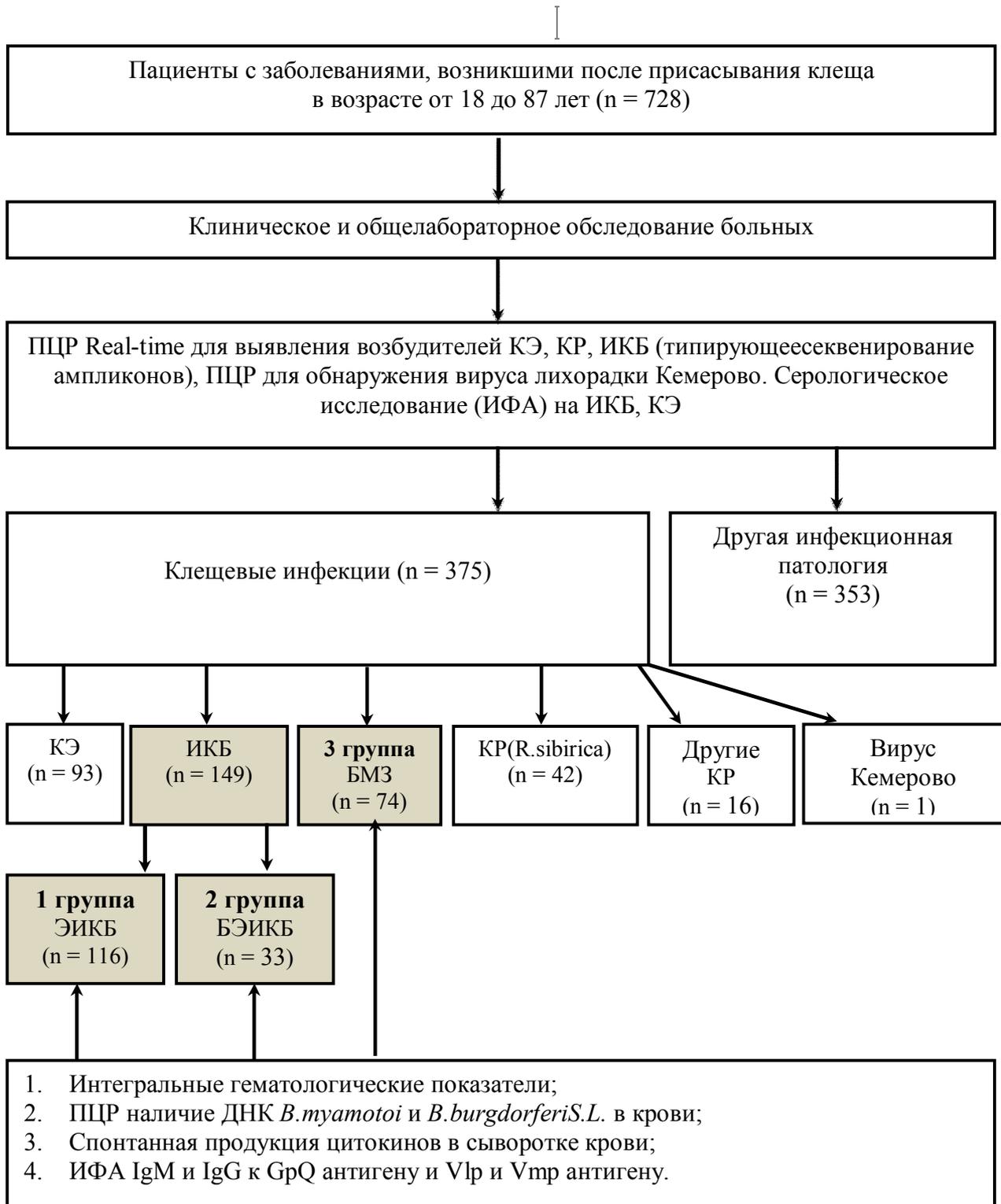


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Клещевой риккетсиоз установлен в 42 (5,7 %) случаях на основании клинико-эпидемиологических данных (присасывание и/или нахождение клеща,

наличие лихорадки и интоксикационного синдрома, характерной экзантемы, первичного аффекта и регионарного лимфаденита). В остальных 16 (2,2 %) случаях диагноз риккетсиоза, вызванного *R. Sibirica*, был установлен на основании типирования ДНК риккетсий в цельной крови.

Помимо «классических» клещевых инфекций, у больных с лихорадкой и присасыванием клеща в анамнезе методом двухраундовой ПЦР ДНК *R. raoultii* выделена в образцах крови от 14 пациентов, у 1 выявлены *R. aeschlimannii*, у 1 – риккетсии из группы КПЛ (клещевая пятнистая лихорадка), генетически схожие с *R. slovaca*. Также в 1 случае у больной с лихорадкой в течение 3 суток и «клещевым» анамнезом в образце крови выделен вирус Кемерово.

## **2.2 Методы исследования**

### **2.2.1 Определение общеклинических и биохимических показателей**

Исследование общего анализа крови и мочи, биохимическое исследование крови с определением активности печеночных трансаминаз (АлАТ и АсАТ) выполнялось на аппарате 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.

### **2.2.2 Молекулярно-генетические и серологические методы исследования на клещевые инфекции**

Лабораторное обследование пациентов проведено с помощью коммерческих диагностических систем, обеспечивающих ПЦР в реальном времени для выявления возбудителей вирусного клещевого энцефалита (вируса КЭ), иксодового клещевого боррелиоза (*Borrelia burgdorferi sensu lato*),

клещевого риккетсиоза (*R. sibirica*), а также лабораторные наборы для верификации боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, клещевых риккетсиозов (*R. raoultii*, *R. slovaca*, *R. aeschilmanii*), вируса Кемерово.

Выявление ДНК риккетсий осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени, предложенным J. Stenosetal, 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.

### 2.2.3 Определение интегральных гематологических показателей

Исследование гемограммы проводили с помощью анализатора Hemalite («Dixion», Россия), биохимическое исследование крови (АЛТ, АСТ) – с использованием анализатора LABIO 300 («Mindray», КНР).

При анализе полученных данных использовали рекомендации справочного издания по лабораторным методам исследования под редакцией Л. А. Даниловой [68].

За абсолютную лимфопению принимали значение лимфоцитов в литре ниже 1 000 клеток, за относительную – ниже 15 %. Умеренной лейкопенией считали абсолютное число лейкоцитов меньше  $4 \cdot 10^9/\text{л}$ , умеренным лейкоцитозом – абсолютное число лейкоцитов от  $9,1$  до  $11,9 \cdot 10^9/\text{л}$ , выраженным выше  $12 \cdot 10^9/\text{л}$ .

Оценка лейкоцитарной формулы дополнялась изучением изменений иммунологической реактивности организма и выраженности эндогенной интоксикации с помощью интегральных гематологических показателей:

- лейкоцитарный индекс интоксикации:

1. По формуле Я. Я. Кальф-Калифа [25; 44]:

ЛИИ  $[(4М \% + 3Ю \% + 2П \% + 1СЯ\%) \times (ПК \% + 1)] / [(Мо \% + ЛФ \%)(Эо\% + 1)]$  ЛИИ < 1,6 усл. ед. – отсутствие острого эндотоксикоза; ЛИИ в диапазоне 1,6–2,2 усл. ед. сомнительный результат; ЛИИ > 2,2 острый эндотоксикоз.

2. В модификации С. Ф. Химича [65]:

$ЛИИ_x = \text{количество лейкоцитов } (10^9/\text{л}) \times 0,1 \times (\text{ПЯ \%} + \text{СЯ \%}) / (100 - \text{ПЯ \%} - \text{СЯ \%})$  Отсутствие острого эндотоксикоза: менее 2,2 усл. ед.

3. В модификации В. К. Островского и соавт. [49]:

$ЛИИО = (\text{М \%} + \text{ПК \%} + \text{Ю \%} + \text{ПЯ \%} + \text{СЯ \%}) / (\text{ЛФ \%} + \text{Мо \%} + \text{Эо \%} + \text{Б \%})$  Отсутствие острого эндотоксикоза: менее 1,6 усл. ед.

- ядерный индекс степени эндотоксикоза по формуле Г. А. Даштоянца [2]:

$ЯИСЭ = (\text{ММ \%} + \text{М \%} + \text{ПЯ \%}) / \text{СЯ \%}$  Отсутствие острого эндотоксикоза: 0,05–0,08 усл. ед; Снижение менее 0,05 усл. ед. соответствует увеличению количества зрелых (сегментоядерных) нейтрофилов и косвенно указывает на активацию некроза тканей. Повышение выше 0,08 усл. ед. выявляет увеличение числа палочкоядерных нейтрофилов и косвенно указывает на повышение активности костного мозга (при сочетании с лейкоцитозом или нормоцитозом нормальным или повышенным удельным весом сегментоядерных нейтрофилов) или на его депрессию – при сочетании с лейкопенией и снижением относительного количества сегментоядерных нейтрофилов («дегенеративный сдвиг»).

- реактивный ответ нейтрофилов (РОН) [70]:

$\text{РОН} = (\text{М \%} + \text{Ю \%} + 1) \times \text{ПЯ \%} \times \text{СЯ \%} / (\text{ЛФ \%} + \text{Б \%} + \text{Мо \%}) \times \text{Эо \%}$

Если Эо % или ПЯ % менее 1 % заменяем соответственно на (Эо % + 1) или (ПЯ % + 1). Норма (отсутствие острого эндотоксикоза): менее 15 усл. ед.

РОН = 15–25 – компенсированная эндогенная интоксикация.

РОН = 26–40 – субкомпенсированная эндогенная интоксикация.

РОН = 40 и более – декомпенсированная эндогенная интоксикация.

- индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) – отражает активность воспалительного процесса [44; 49]:

$\text{ИСЛК} = (\text{Эо \%} + \text{Б \%} + \text{СЯ \%} + \text{ПЯ \%} + \text{Ю \%} + \text{М \%}) / (\text{ЛФ \%} + \text{Мо \%})$  Норма: 1,4–2,52 усл. ед.

- лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ):

$\text{ИЛГ} = \text{ЛФ \%} \times 10 / (\text{Эо \%} + \text{Б \%} + \text{СЯ \%} + \text{ПЯ \%} + \text{Ю \%} + \text{М \%})$  Норма: 4,19–4,93 усл. ед.

- индекс соотношение нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ) отражает

соотношение факторов неспецифической и специфической защиты:  
 $ИСНЛ = (СЯ \% + ПЯ \% ) / ЛФ \%$  Норма: 1,85–3,12 усл. ед.

- индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ) – позволяет судить о соотношении компонентов микро-макрофагальной системы:  
 $ИСНМ = (СЯ \% + ПЯ \% ) / Мо \%$  Норма: 10,52–13,14 усл. ед;

- индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ) – отражает характер взаимодействия аффекторного и эффекторного звеньев иммунологического процесса:  $ИСЛМ = ЛФ \% / Мо \%$  Норма: 10,52–13,14 усл. ед.,

где ПЯ % – доля палочкоядерных в %,

СЯ % – доля сегментоядерных в %,

Ю % – юных форм в %,

ПК % доля плазмочитарных клеток в %,

Мо % – доля моноцитов в %,

ЛФ % – удельный вес лимфоцитов в %,

Эо % – доля эозинофилов в %,

М % – доля миелоцитов в %,

Б % – доля базофилов в %.

#### **2.2.4 Исследование крови на наличие ДНК *B. miyamotoi* и *B. burgdorferi s. l.* методом ПЦР**

Всем пациентам проводили исследование крови на наличие ДНК *B. Miyamotoi* и *B. burgdorferi s. l.* методом ПЦР. Для этого у каждого больного до начала этиотропного лечения было взято по 5 мл крови с использованием пробирок VACUETTE с ЭДТА. Образцы крови центрифугировали при 500 g в течение 10 мин для получения четкой границы между плазмой и эритроцитарной фракцией крови. Затем плазму крови переносили в отдельную пробирку и центрифугировали при 12 000 g в течение 10 мин для осаждения боррелий. Полученные осадки лизировали в 200 мкл буфера, содержащего 4 Мг гуанидинтиоционат; 0,1 М Tris-HCl pH 6,4; 0,045 М ЭДТА pH 8,0; 1,3 % Тритон

X-100 при 65 °С в течение 10 мин.

У пациентов, у которых при поступлении в стационар фиксировалась менингеальная симптоматика и проводилась диагностическая люмбальная пункция, были также собраны образцы цереброспинальной жидкости в количестве 100 мкл (всего 94 пациента). Проводилось общее клиническое исследование ликвора на клеточный и биохимический состав и методом ПЦР на наличие ДНК *B. miyamotoi* и *B. burgdorferi s. l.*

Из 100 мкл полученного лизата крови, а также из 100 мкл ликвора выделяли суммарную ДНК с использованием набора «Проба НК» (ДНК-технология, Россия) согласно инструкции производителя. ДНК *B. miyamotoi* и *B. burgdorferi s. l.* выявляли методом двухраундовой ПЦР в присутствии видоспецифичных праймеров, приведенных в таблице 2.

ДНК *B. miyamotoi* выявляли с использованием праймеров из области гена *glpQ*, а ДНК *B. burgdorferi s. l.* – с использованием праймеров из области генов 5S и 23S рРНК, фланкирующих область межгенного спейсера, как описано ранее (15, 25). Ожидаемая длина ПЦР-фрагментов составляла 425 п. н. и 246-253 п. н. соответственно. Для всех выявленных образцов *B. miyamotoi* были дополнительно амплифицированы фрагменты гена *r66* (длиной 570 п. н.), а для всех выявленных образцов *B. burgdorferi s. l.* – фрагменты гена *r83/100*, как описано ранее (11, 20). Ожидаемая длина ПЦР-фрагментов гена *r83/100* для разных видов боррелий варьировала от 336 до 462 п. н.

Все амплифицированные фрагменты генов *glpQ* и *r66 B. miyamotoi*, а также гена *r83/100 B. burgdorferi s. l.* были очищены с использованием GFX Columns (Amersham Biosciences, США), нуклеотидные последовательности определяли с использованием ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) и анализировали с помощью программы BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Таблица 2 – Праймеры, используемые для выявления ДНК боррелий

Ген	Раунд ПЦР	Праймеры(5'-3')	Температура отжига
<i>glpQ</i> ген <i>B. miyamotoi</i>	1	Q1 (caccattgatcatagctcacag) Q4 (ctgttggtgcttcattccagtc)	50 °C
	2	Q3 (gctagtggtatcttcagaac) Q2 (ctgttggttatgccagaagggt)	54 °C
<i>p66</i> ген <i>B. miyamotoi</i>	1	M3 (5'-ttctatattggaca-catccg-3) M4 (5'-cagattgttagttctaatccg-3)	50 °C
	2	M1 (5'-ctaaattattaaatccaaaatcg-3') M2 (5'ggaaatgagtacctacatatg-3')	50 °C
5S-23S межгенный спейсер <i>B. burgdorferis. l.</i>	1	NC1 (cctgttatcattccgaacacag) NC2 (tactccattcgtaactctggg)	50 °C
	2	NC3 (tactgcgagtcgcgggag) NC4 (cctaggcattcaccatagac)	54 °C
p83/100 ген <i>B. burgdorferis. l.</i>	1	F7 (ttcaaagggatactgtagagag) F10 (aagaaggcttatctaattggtgatg)	50 °C
	2	F5 (acctggtgatgtaagttctcc) F12 (ctaacctcattgtttagactt)	54 °C

Нуклеотидные последовательности генов *glpQ* и *p66 B. miyamotoi* зарегистрированы в базе данных GenBank под номерами KX024716 и KU955521, соответственно.

На рисунке 2 представлены дендрограммы, построенные на основании последовательностей фрагмента гена *p66* длиной 514 п. н. (А) и *glpQ* длиной 359 п. н. (Б) с использованием метода ML. Жирным шрифтом выделены последовательности *B. miyamotoi* из крови пациента, полученные в данной работе.

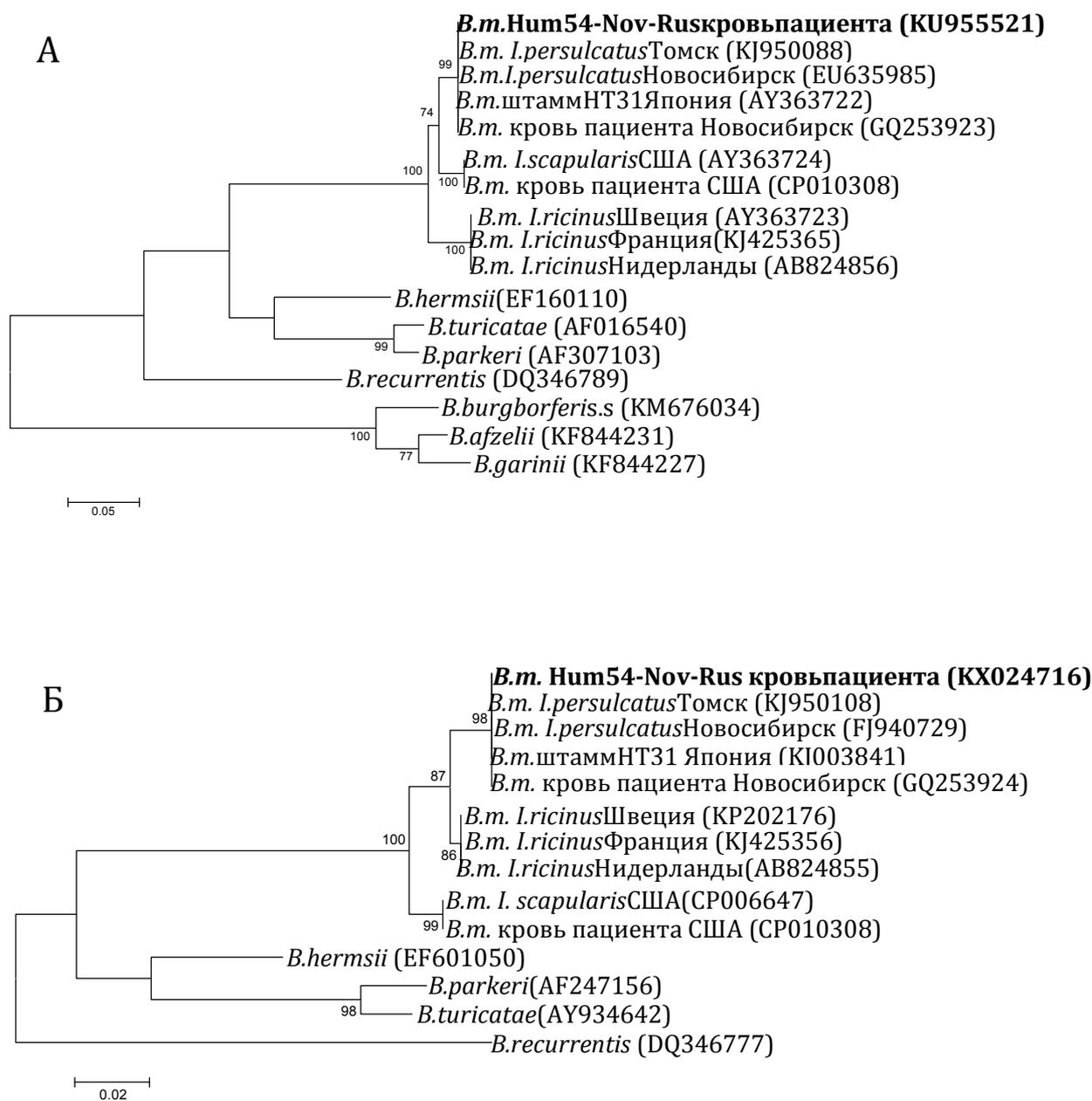


Рисунок 2 – Дендрограммы, построенные на основании последовательностей фрагмента гена *p66* длиной 514 п. н. (А) и *glpQ* длиной 359 п. н. (Б) с использованием метода ML

У пациентов с безэритемной формой ИКБ при постановке и обосновании клинического диагноза учитывались данные ПЦР-диагностики, проведенной методом ПЦР крови в режиме реального времени на амбулаторном этапе на базе ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1» (тест-система РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi* s.l., «Вектор-Бест», Россия).

### **2.2.5 Серологические методы диагностики клещевых инфекций**

Всем больным проводился ИФА для выявления IgM к вирусу клещевого энцефалита с помощью тест-системы ВектоВКЭ-IgM («Вектор-Бест», Россия). В более поздние сроки госпитализации (после 21-го дня болезни) выполняли исследование крови на наличие IgM и IgG к боррелиям комплекса *B. burgdorferi s. l.* с помощью ИФА тест-системы «ЛаймБест- IgM» («Вектор-Бест», Россия).

Серологические исследования на наличие специфических антител к *B. miyamotoi* методом иммуночипов выполнялись на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва (ФБУН ЦНИИЭ), куда образцы биологического материала от больных (сыворотка больного), доставлялись в специальной сумке-холодильнике с соблюдением температурного режима хранения.

Методом иммуночипов определяли формирование IgM и IgG к GpQ (антигену, который присутствует во всех боррелиях группы возвратных лихорадок), Vlp и Vmp (большим и малым поверхностным белкам, которые вызывают продукцию антител и используются как диагностические маркеры боррелиоза *miyamotoi*). Забор сыворотки крови проводился в первые дни болезни при поступлении больных в стационар, далее в динамике во время лечения и в последующие 2-3 месяца от начала болезни.

### **2.2.6 Определение спонтанной продукции цитокинов в сыворотке крови**

Концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8 и противовоспалительного ИЛ-10 в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА с применением моноклональных антител в соответствии с инструкциями, предлагаемыми производителем тест-систем ЗАО «Вектор-Бест», РФ. Оптическую плотность регистрировали с помощью иммунологического

анализатора «Униплан» (ЗАО «Пикон», РФ) при длине волны 450 нм. Уровень цитокинов определяли при поступлении больных в стационар в остром периоде болезни.

### 2.2.7 Статистические методы

Статистическую обработку данных проводили, используя программы Statistica 6.0 и Microsoft Office Excel в операционной среде Windows 10. Определяли доли, средние величины исследуемых морфометрических показателей ( $M$ ) и среднюю ошибку ( $m$ ). Значимость различий ( $p$ ) для качественных показателей определяли с помощью  $\chi^2$  Пирсона. Если в таблице  $2 \times 2$ , хотя бы одна из сравниваемых частот была менее 10, использовали двухсторонний точный тест Фишера (ТТФ). Для определения шансов возникновения лихорадки при боррелиозах вычисляли отношение шансов (ОШ), их 95 % доверительные интервалы (95 % ДИ). Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционная связь между параметрами вычислялась с помощью ранговой корреляции Спирмена.

### **ГЛАВА 3 ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ**

По данным государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году» клещи распространены в 81 из 85 регионов РФ, за исключением регионов, где нет климатических условий для их обитания (Ненецкий, Чукотский автономные округа, Камчатский край и Магаданская область). С 2003 года в России значительно возросло число случаев обращений по поводу присасывания клещей – с 233 901–257 150 случаев в 2003–2008 гг. до 441 111–552 945 случаев в 2009–2016 годах [15].

Из числа инфекций, передаваемых клещами, в России регистрируются: иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ), клещевой вирусный энцефалит (КЭ), сибирский клещевой тиф (СКТ), крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ), моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ) и гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ), астраханская пятнистая лихорадка (АПЛ), бабезиоз, марсельская лихорадка (МЛ), дальневосточный клещевой риккетсиоз (ДКР) и др.

Первое место по распространенности и частоте регистрации среди всех клещевых инфекций занимают иксодовые клещевые боррелиозы (болезнь Лайма) [6]. На протяжении последних 10 лет заболеваемость ими в России колебалась от 3,99 до 6,96 случаев на 100 тыс. населения и в 2-3 раза превышала заболеваемость КЭ (рисунок 3). Россия – самый большой в мире ареал ИКБ: природные очаги протянулись от Калининграда на западе до Сахалина на востоке (рисунок 4). В 2016 году ИКБ диагностированы на территории 74 из 85 регионов России, всего выявлен 6 101 случай ИКБ (4,17 на 100 тыс. населения). Заболеваемость ИКБ в регионах в 2016 году существенно варьировала – от 0,03 на 100 тыс. населения в республике Дагестан до 23,5 на 100 тыс. населения в республика Тыва.

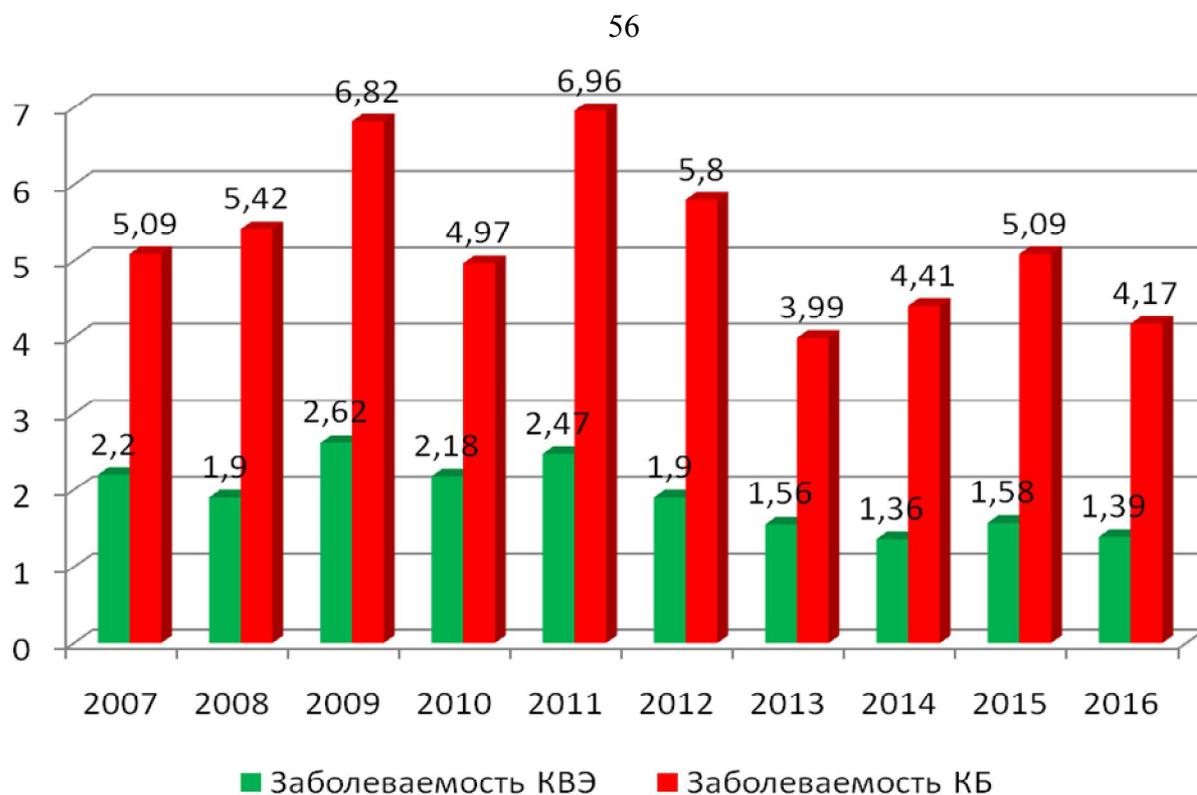


Рисунок 3 – Динамика заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами и клещевым энцефалитом (случаев на 100 тыс. населения) в 2007–2016 гг. в России по данным Роспотребнадзора



Рисунок 4 – Показатели заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами (случаев на 100 тыс. населения) в регионах России в 2016 году по данным Роспотребнадзора

В 2017 году в 76 из 85 территорий страны ИКБ были зарегистрированы среди населения, всего выявлено 6,7 тыс. случаев (4,58 на 100 тыс. населения), при этом в 2012–2017 гг. продолжилась тенденция к снижению заболеваемости, установившаяся в последнее десятилетие.

По данным государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2017 году» в 2015–2017 гг. показатель заболеваемости ИКБ в Новосибирской области варьировал от 10,74 до 8,74 и значительно превышал показатель заболеваемости по РФ [77] (рисунок 5).



Рисунок 5 – Показатели заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом в НСО в сравнении с показателями по РФ (с 2010 по 2017 гг.)

В 2017 году показатель заболеваемости клещевым боррелиозом увеличился на 4,5 % в сравнении с прошлым годом (с 8,36 до 8,74) и был ниже среднесноголетнего уровня заболеваемости клещевым боррелиозом (10,35) на 15,6 % и выше показателя по РФ (4,59) в 1,9 раза (рисунок 6).

Среди детей до 17 лет показатель заболеваемости уменьшился в сравнении с прошлым годом на 3,2 % (с 3,17 до 3,07) и был ниже на 7,3 % в сравнении со

среднегодовым уровнем заболеваемости (3,31). Среди детей до 14 лет показатель заболеваемости увеличился на 10,4 % в сравнении с прошлым годом (с 2,99 до 3,30) и был на уровне среднегодовых значений (3,34). Удельный вес городских жителей составил 75,4 % (СМУ – 82 %), сельских – 24,6 % (СМУ – 18 %). Всего было зарегистрировано 244 случая заболевания (СМУ – 282 случая).

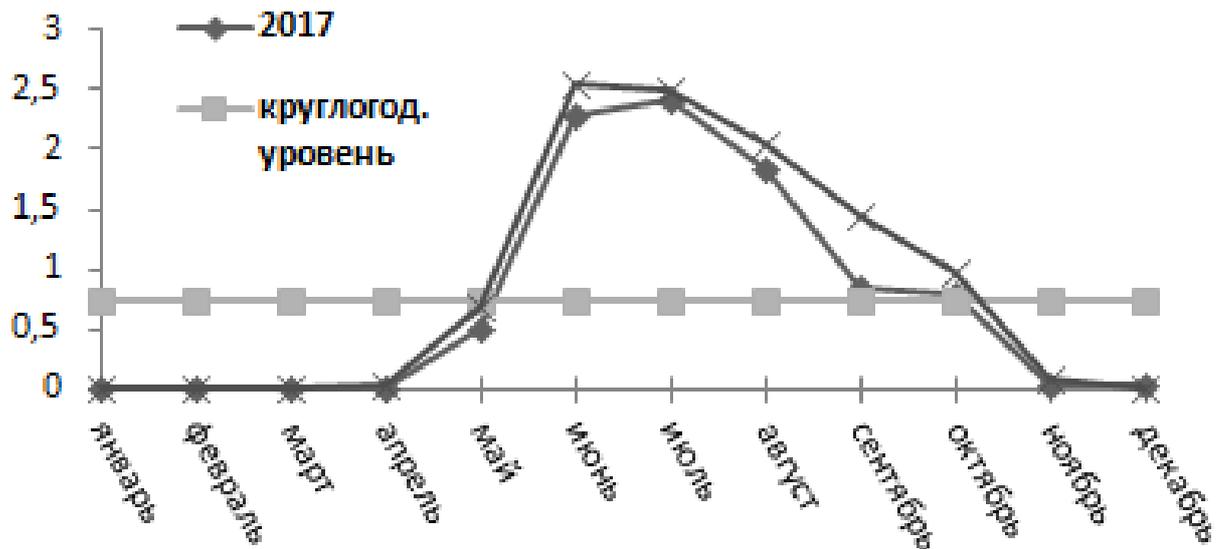


Рисунок 6 – Годовая динамика заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом в НСО в 2017 г.

Наибольшее количество заболевших КБ зарегистрировано в июне (67 больных), что на уровне среднегодовых значений (68 больных).

Лабораторное подтверждение диагнозов клещевого боррелиоза осуществлялось в 44 % (107) случаев, остальные выставлены на основании клинических проявлений.

В клинической картине ИКБ преобладала эритемная форма – 77 % (СМУ – 86,8 %). Удельный вес больных с безэритемной формой составил – 23 % (СМУ – 13,2 %) (таблица 3).

Таблица 3 – Формы заболевания у больных иксодовым клещевым боррелиозом в 2015–2017 гг.

Год	Всего	Форма заболевания			
		эритемная		безэритемная	
		абс. число	%	абс. число	%
2015	295	254	86,1	41	13,8
2016	231	185	80,0	46	20,0
2017	244	188	77,0	56	23,0

Больные клещевым боррелиозом, как и в предыдущие 5 лет, регистрировались в возрастных группах: 50 и старше – 60,7 % (СМУ 2012–2016 гг. – 65,4 %), 40–49 лет – 14,3 % (СМУ – 11,1 %), 30–39 лет – 11,5 % (СМУ – 9,5 %); 18–29 лет – 6,6 % (СМУ – 8,1 %), 7–14 лет – 2,9 % (СМУ – 2,7 %), 0–6 лет – 3,7 % (СМУ – 2,5 %). Из общего числа жителей области, заболевших клещевым боррелиозом, наибольший удельный вес, как и в предыдущие годы, составили следующие категории: пенсионеры – 44,3 % (СМУ – 44,8 %); неработающие – 21 % (СМУ – 17,6 %); служащие – 16 % (СМУ – 12,9 %); рабочие – 9,4 % (СМУ – 16,8 %); школьники – 3,3 % (СМУ – 3,2 %). Увеличился удельный вес заболевших детей дошкольного возраста в сравнении со среднемноголетним уровнем – 3,7 % (СМУ – 2,5 %).

Заражение боррелиями при укусе клеща населения НСО, как и в предыдущие годы, происходило при: посещении дачных участков, работе на огородах – 37 % (СМУ – 45,7 %); отдыхе на природе – 26 % (СМУ – 23,8 %); сборе ягод и грибов, лекарственных трав – 10 % (СМУ – 7,8 %); охоте и рыбалке – 3 % (СМУ – 1,8 %); заготовке сена, дров, выпас скота – 3 % (СМУ – 3,9 %); пребывание на кладбище – 4 % (СМУ – 2,4 %). Удельный вес больных, отрицающих укус клеща, составил – 17 % (СМУ – 12,1 %).

Таким образом, в последние годы эпидемиологическая обстановка по иксодовому клещевому боррелиозу в ряде регионов РФ, в том числе Новосибирской области неблагоприятна.

## ГЛАВА 4 ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ КЛЕЩЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ

Новосибирская область является природным очагом клещевых инфекций. Ежегодно с начала и до конца эпидемического сезона, который продолжается с апреля-мая и заканчивается в сентябре-октябре и связан с активацией клещей – переносчиков данных заболеваний, в инфекционный стационар поступает большое количество пациентов с присасыванием клеща в анамнезе и лихорадкой.

Первая задача настоящего исследования – установить частоту встречаемости клещевых инфекций в Новосибирской области при помощи лабораторных методов у госпитализированных больных с присасыванием клеща в анамнезе. В рамках данной задачи проведено клинико-лабораторное обследование 728 больных, которые поступили в ГИКБ № 1 Новосибирска по поводу заболеваний, развившихся после присасывания клеща в 2015–2017 гг. Лабораторное обследование включало ПЦР-диагностику, которая проводилась в ФГБУН Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск), а также серологическое обследование (ИФА), которое осуществлялось на базе ГИКБ № 1, а также метод иммуночипов, проведенный в НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва).

В наших исследованиях верификация диагноза клещевой инфекции осуществлена у 375 (51,5 %) больных из 728 обследованных в связи с присасыванием клеща в анамнезе и лихорадкой. Она позволила определить следующие нозологические формы и их долю у больных, госпитализированных в стационар: 149 пациентов (20,5 %) с иксодовым клещевым боррелиозом; 74 (10,3 %) – с боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi*; 93 (12,7 %) – с клещевым энцефалитом; 42 (5,7 %) – с сибирским клещевым тифом; 16 (2,2 %) – с другими клещевыми риккетсиозами; в одном случае (0,13 %) диагностирована клещевая инфекция, вызванная вирусом Кемерово (рисунок 7).



Рисунок 7 – Частота встречаемости клещевых инфекций у госпитализированных лиц с заболеваниями, возникшими после укуса клещей в 2015–2017 гг.

Из данного рисунка видно, что наиболее часто при обследовании верифицируется ИКБ – у 20,5 % больных, затем клещевой энцефалит – у 12,7 %. Наличие лихорадки, первичного аффекта и регионарного лимфаденита, а также появление в динамике характерной сыпи позволило у 5,7 % больных подтвердить клещевой сыпной тиф. Новые методы обследования с использованием ПЦР крови и ликвора позволили расширить возможности диагностики клещевых инфекций у 12,6 % пациентов. У них подтверждены новые, до сих пор еще не регистрируемые заболевания: у 74 (10,3 %) – боррелиоз, вызванный *B. miyamotoi* (БМЗ согласно зарубежной аббревиатуре BMD – *B. Miyamotoi Diseases*), у 14 человек 2,2 % – новые риккетсиозы и у одного (0,13 %) – заболевание, вызванное вирусом Кемерово.

В наших исследованиях верификация диагноза клещевой инфекции осуществлена у 375 (51,5 %) больных из 728 обследованных в связи с присасыванием клеща в анамнезе и развитием заболевания. Она позволила

определить долю нозологических форм в общей структуре клещевых инфекций в 2015–2017 гг. (рисунок 8).

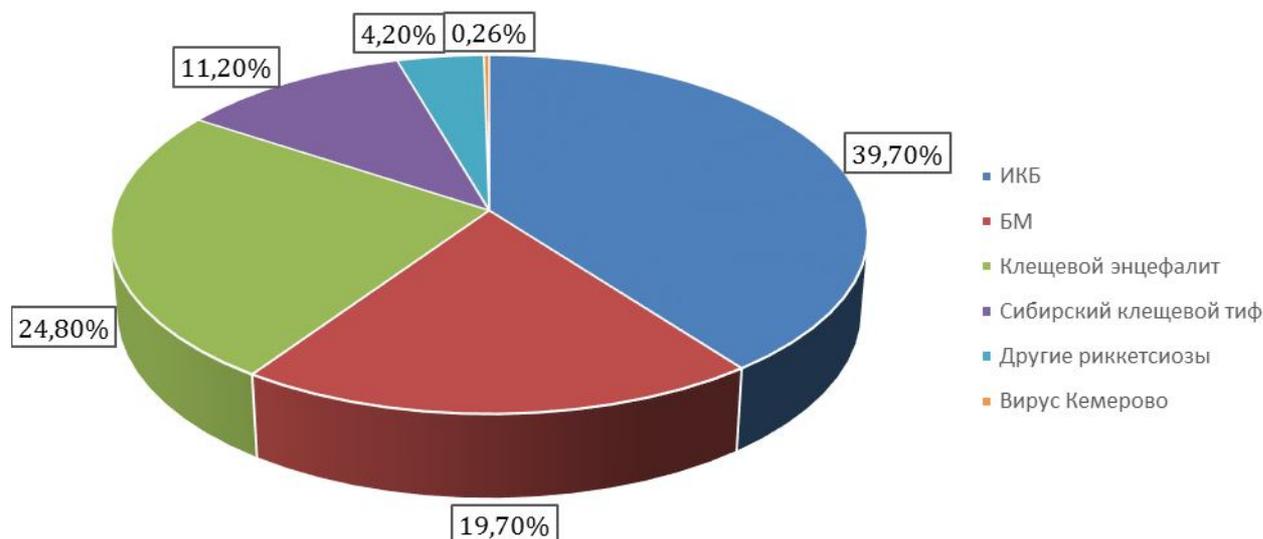


Рисунок 8 – Структура заболеваемости клещевыми инфекциями среди госпитализированных лиц в Новосибирской области в 2015–2017 гг.

Диагностировано 149 случаев (39,7 %) иксодового клещевого боррелиоза; 74 (19,7 %) – боррелиоза, вызванного *B. miyamotoi*; 93 (24,8 %) – клещевого энцефалита; 42 (11,2 %) – сибирского клещевого тифа; 16 (4,2 %) – других клещевых риккетсиозов; в одном случае выявлена клещевая инфекция, вызванная вирусом Кемерово.

Таким образом, установлено, что клещевые боррелиозы на территории Новосибирской области являются преобладающими (59,4 %) и могут быть вызваны двумя видами боррелий – *Borrelia burgdorferi sensu lato* и *Borrelia miyamotoi*. При этом, с учетом сходства клинического течения безэритемной формы иксодовых клещевых боррелиозов и боррелиоза *B. miyamotoi*, диагноз боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, подтвержден

при использовании молекулярно-генетических методов исследования (ПЦР с последующим типизирующим секвенированием полученных ампликонов боррелий). Проведенная оценка генетической variability *B. miyamotoi* показала соответствие азиатскому типу *B. miyamotoi*, ранее обнаруженному в клещах *I. persulcatus* на территории Новосибирской области, а также в других регионах России.

Клинико-эпидемиологическая и лабораторная характеристика клещевых боррелиозов подробно описана в главах 5 и 6.

Диагноз клещевого энцефалита (КЭ) установлен у 93 (12,7 %) больных на основании ПЦР-диагностики с определением РНК вируса КЭ в крови у 31 больного и в ликворе – у 3 больных, а также обнаружения антител класса IgM к ВКЭ методом ИФА в сыворотке крови. После поступления больных в стационар, на основании дальнейшего развития инфекционного процесса, лихорадочная форма КЭ среди обследованных диагностирована у 35 (37,6 %) человек, менингеальная – у 36 (38,7 %), менингоэнцефалитическая – у 14 (15,1 %), менингоэнцефалополиомиелитическая – у 8 (8,6 %).

Клещевой риккетсиоз установлен в 42 (5,7 %) случаях на основании клинико-эпидемиологических данных (присасывание и/или нахождение клеща, наличие лихорадки и интоксикационного синдрома, характерной экзантемы, первичного аффекта и регионарного лимфаденита). В остальных 16 (2,2 %) случаях диагноз риккетсиоза, вызванного не *R. Sibirica*, был установлен на основании типирования ДНК риккетсий в цельной крови.

Помимо «классических» клещевых инфекций, у больных с лихорадкой и присасыванием клеща в анамнезе методом двухраундовой ПЦРДНК *R. raoultii* выделена в образцах крови от 14 пациентов, у одного больного выявлены *R. aeschlimannii*, у одного – риккетсии из группы КПЛ, генетически наиболее схожие с *R. slovaca*.

В данном исследовании чаще всего, т. е. в клинических образцах 16 и 14 пациентов соответственно, госпитализированных после укусов клещей в Западной Сибири, были выявлены два риккетсиозных агента-*R. sibirica* и

*R. raoultii* соответственно. Полученные результаты подтверждают предыдущее предположение о том, что основной причиной риккетсиозов в НСО является *R. sibirica*.

В клинических образцах был выявлен генетический вариант *R. raoultii*: DnS14. Ранее *R. raoultii* DnS14 встречался в *Ixodes persulcatus*, *Ixodes Pavlovsky*, *Dermacentor nuttalli* клещей в Западной Сибири [129; 156; 150] и в крови двух пациентов в Китае [136]. Клинические проявления риккетсиоза, вызванного *R. raoultii*, достоверно отличались от таковых при сибирском клещевом тифе. Они выражались в умеренной и кратковременной лихорадке, интоксикации, а также неспецифических симптомах (слабости, снижения аппетита, головной боли, миалгий и др.). Нельзя исключать, что некоторые случаи инфекции *R. raoultii* могли быть пропущены из-за неспецифических клинических проявлений. Следует отметить, что у 4 больных ДНК *R. sibirica* была обнаружена при отсутствии у них типичных признаков сибирского клещевого тифа. Это позволяет утверждать, что пациенты с атипичными симптомами должны быть надлежащим образом обследованы на наличие риккетсиоза. Дальнейшие исследования, включая генотипирование *R. raoultii* с использованием нескольких генетических локусов и серологическое исследование, необходимы для определения влияния *R. raoultii* на риккетсиозы в Западной Сибири.

Также в единичном случае у больной с лихорадкой в течение 3 суток и «клещевым» анамнезом в образце крови выделен вирус Кемерово. В настоящее время активно изучается патогенность перечисленных «новых» риккетсий и вируса Кемерово.

Ввиду того, что в задачи настоящего исследования входили изучение клинических особенностей ИКБ и боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, а также их генетической вариабельности, подробная клинико-эпидемиологическая и молекулярно-генетическая характеристика риккетсиозов в данной работе не приводилась.

## ГЛАВА 5 КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ

За период с 2015 по 2017 год под наблюдением находились 149 пациентов с диагнозом иксодового клещевого боррелиоза. С эритемной формой ИКБ 116 пациентов (77,8 %) (1 группа), с безэритемной формой ИКБ 33 пациента (22,2 %) (2 группа).

В 1 группу включены 116 больных с эритемной формой ИКБ (ЭИКБ), диагностированной на основании клинико-эпидемиологических данных; у большинства из них диагноз также подтвержден выявлением антител класса IgM и/или IgG к боррелиям в более поздние сроки (после 21-го дня болезни), у 2 пациентов – выявлением ДНК *B. bavariensis* в крови методом двухраундовой ПЦР с последующим секвенированием.

Во вторую группу включены 33 пациента с безэритемной формой ИКБ (БЭИКБ); у 28 из них диагноз подтвержден выявлением специфических IgM; у остальных 5 пациентов – выявлением ДНК *B. Burgdorferi* s. l. в крови методом ПЦР в режиме реального времени, ни у одного из больных 1 и 2 групп методом ПЦР не выявлено ДНК *B. miyamotoi*.

Среди заболевших преобладали женщины – 53,5 % и 52 %, мужчины составляли 46,5 % и 48 %.

Возраст больных в 1 группе колебался от 16 до 87 лет (в среднем  $59,09 \pm 16,6$ ), во 2-й – от 16 до 82 лет (в среднем  $44,09 \pm 19,4$ ) (рисунки 9 и 10).

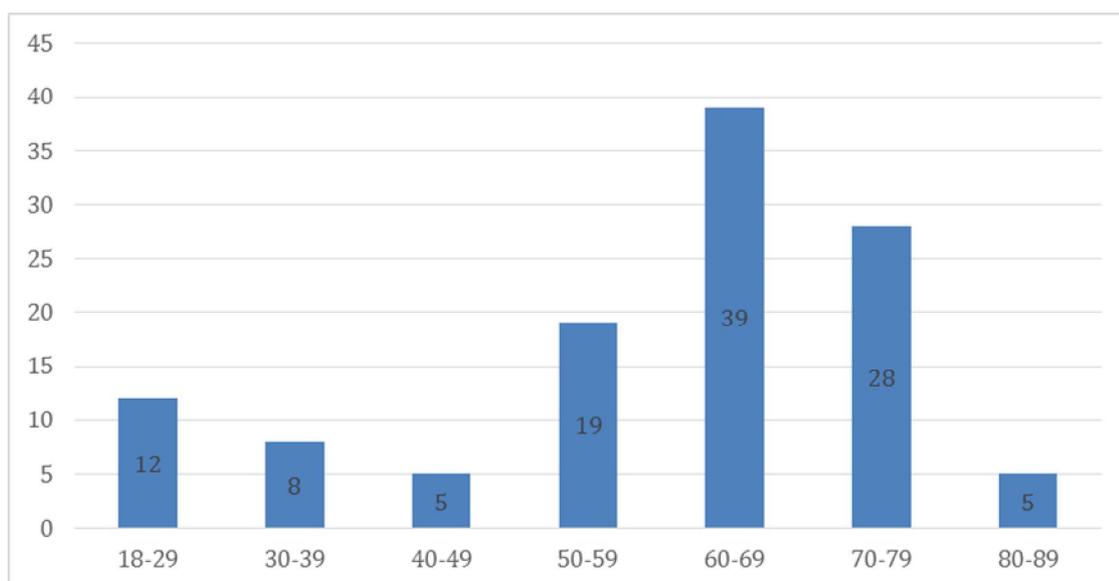


Рисунок 9 – Распределение больных с ЭИКБ по возрасту

При ЭИКБ преобладают пациенты старшей возрастной группы (50 лет и старше) (более 74 %).

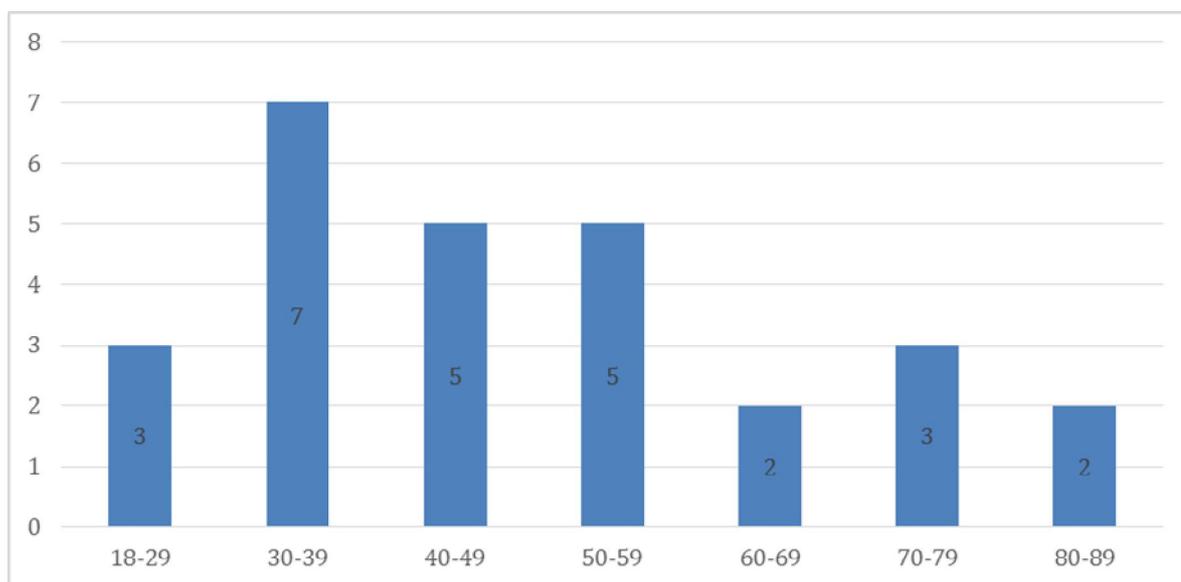


Рисунок 10 – Распределение больных с БЭИКБ по возрасту

При БЭИКБ преобладают пациенты среднего возраста от 30 до 59 лет (51,55 %).

На рисунке 11 представлено распределение госпитализированных больных ИКБ в стационар. Из данных рисунка следует, что пик заболеваемости ИКБ приходится на май, июнь и июль, далее в течение месяца происходит ее снижение до единичных случаев в сентябре.

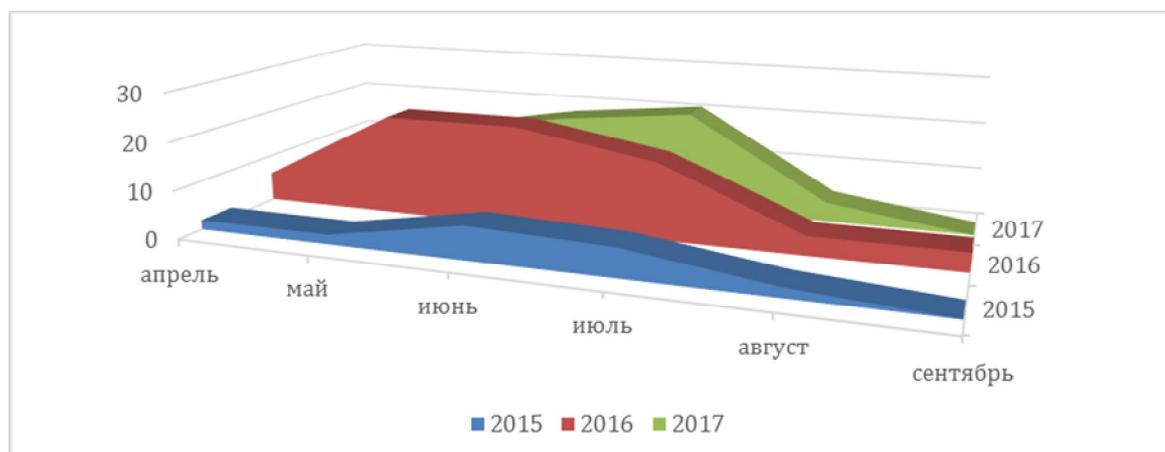


Рисунок 11 – Распределение госпитализированных больных с ИКБ по месяцам года за 2015–2017 гг. (по оси ординат – количество заболевших)

Большинство заболевших эритемной формой ИКБ – пенсионеры, занимающиеся садоводством на дачных участках. Среди больных безэритемной формой, за исключением небольшой группы студентов, распределение по социальному признаку было примерно одинаковым (таблица 4).

Таблица 4 – Распределение больных ИКБ по социальному признаку

Показатели		Социальное положение				Всего
		студенты	работающие	безработные	пенсионеры	
ЭИКБ	Абс.	2	20	16	78	116
	%	1,8	17,2	13,8	67,2	100
БИКБ	Абс.	3	12	10	8	33
	%	9,1	36,4	30,3	24,2	100

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

При сборе эпидемиологического анамнеза установлено, что у 149 (100 %) больных наблюдалось присасывание одного или нескольких клещей, 47,6 % больных подверглись его нападению на территории Новосибирска и в его пригороде, 45,6 % – на территории различных районов Новосибирской области (Тогучинский, Коченевский, Сузунский, Мошковский, Колыванский, Маслянинский, Ордынский и т. д). У 2 % больных присасывание клещей отмечено на территории Алтайского края и по 1 человеку (0,67 %) – на территории других субъектов РФ (Кемеровская, Томская области, Амурский край, республика Коми, на территории г. Владивостока) и других стран (в Германии и Чехии).

Среди пациентов с ИКБ только 19,4 % вакцинированы от ВКЭ, за экстренной профилактикой клещевого энцефалита обращалось 23,5 %.

Профилактический прием антибактериальных препаратов на догоспитальном этапе получили 10,9 %.

В большинстве случаев заболевшие отмечали присасывание клеща во время пребывания на дачном участке – 67,5 %. Несколько реже (16,5 %) – на отдыхе на природе. В 11 % случаев совершали прогулки по Новосибирску (аллеи, парки), 5 % больных снимали с себя клеща после рыбалки, охоты.

Чаще всего заболевшие удаляли присосавшегося клеща с туловища – 50,3 %, несколько реже – 20,8 % – с нижних конечностей и 14,7 % – с верхних конечностей, с областей естественных складок (паховая и подмышечная области) – 12,2 %, с области головы и шеи – 2 %.

Инкубационный период составлял  $(10,2 \pm 9,3)$  суток в 1 группе и  $(15,6 \pm 8,8)$  суток во 2 группе. При этом максимальный инкубационный период был равен 60 и 36 дням соответственно, минимальный – 1 сутки в обеих группах (у 5 пациентов).

Только у половины больных 1 группы отмечалась лихорадка, причем чаще она была субфебрильной (26 %) или умеренной (15,5 %), высокой – только у

8,6 % пациентов и без достоверных отличий от больных 2 группы (таблица 5).

Таблица 5 – Распределение больных ИКБ с учетом особенностей лихорадочного синдрома

Показатели	Частота симптомов, %	
	1 группа (n = 116)	2 группа (n = 33)
Лихорадка:	50 %	75,7 %*
Высокая – 39°С и выше	8,6 %	15,1 %*
Умеренная (38–38,9 °С)	15,5 %	15,1 %
Субфебрилитет (37–37,9 °С)	25,9 %	45,5 %*
Двухволновая лихорадка	1,7 %	6,0 %*
Примечание: * – достоверность отличий между 1 и 2 группами, $p < 0,05$ .		

Средняя продолжительность составляла в первой группе ( $1,7 \pm 0,28$ ) дня, во второй – ( $2,3 \pm 0,53$ ) дня. Двухволновая лихорадка наблюдалась у 1,7 % пациентов 1 группы и в 6 % случаев – второй ( $p < 0,05$ ). В первой и второй группах вторая волна повышения температуры отмечалась через сутки апиреksии, достигала максимально  $37,4^{\circ}\text{C}$  и длилась одни сутки.

При опросе наиболее часто в начальном периоде заболевания пациенты предъявляли жалобы на общую слабость (в первой группе в 59,7 %, во второй в 75,7 %) (таблица 6). Интоксикационный синдром проявлялся головной болью (23,2 % и 57,5 % соответственно), реже головокружением (7,8 % и 5,8 %). Головная боль носила преимущественно разлитой – без определенной локализации – характер (70 %), несколько реже локализовалась в височной (18,5 %) и лобной областях (11,5 %). У 20 % заболевших наблюдалось нарушение сна в виде бессонницы либо прерывистого сна с частыми пробуждениями.

Озноб отмечали 53,4 % больных первой группы и 69,7 % – второй. Нарушение аппетита (снижение либо его отсутствие) отмечалось в 35,5 % случаев в обеих группах. На боли в мышцах предъявляли жалобы 8,6 % пациентов 1 группы и 21,2 % – второй. Артралгии, преимущественно, в крупных суставах (коленных, голеностопных), наблюдались у 5,2 % и 15,1 % пациентов

соответственно. Признаков артрита при этом не выявлялось. В первые дни заболевания на высоте лихорадки у 5,2 % больных 1 группы и 3,0 % больных второй отмечали тошноту в течение 1-2 дней, которая сопровождалась рвотой от одного до нескольких раз в день.

Таблица 6 – Частота встречаемости и продолжительность клинических симптомов у больных иксодовым клещевым боррелиозом

Клинический симптом	Частота встречаемости, % (n = 149)		Длительность (в днях), М ± m (n = 149)
	ЭИКБ (n = 116)	БЭИКБ (n = 33)	
Общая слабость	59,7	75,7*	8,9 ± 1,1
Озноб	53,4	69,7	4,4 ± 0,7
Головная боль	23,2	57,5*	5,6 ± 0,8
Головокружение	7,8	5,8	5,3 ± 0,9
Снижение аппетита	35,5	35,5	5,4 ± 0,9
Миалгии	8,1	21,2*	5,2 ± 1,1
Артралгии	5,2	15,1*	5,8 ± 1,0
Потливость	25,8	30,3	4,6 ± 0,9
Нарушение сна	20	20	3, ± 0,8
Тошнота	5,2	3,0	1,4 ± 0,2
Рвота	5,2	3,0	1,0 ± 0
Эритема	100	0*	13,8 ± 0,9
Регионарный лимфаденит	10	0*	7,8 ± 0,9
Примечание: * – достоверность отличий между 1 и 2 группами, p < 0,05			

Эритема на месте присасывания клеща является манифестным признаком у пациентов в первой группе. Она выявлялась в виде покраснения кожи, постепенно увеличивавшегося в размерах, чаще окруженного инфильтративным валиком. Чаще всего эритема располагалась в области туловища (у 37 % больных), а также на нижних конечностях (у 27,5 %), на верхних отмечена у 18,1 %; в области естественных складок: в паховой области – у 8,5 %, подмышечной – в 7,3 % случаев. В единичных случаях эритема локализовалась в области волосистой

части головы и в области шеи.

У 97,4 % больных размеры эритемы составили более 5 см в диаметре. У 2 человек наблюдалось одновременно 2 эритемы, и у 1 больного – 3 эритемы. Средний ее размер составил  $(13,3 \pm 5,2)$  см. Наибольший размер – 40 см. Продолжительность сохранения эритемы составила от 5 до 20 дней, в среднем –  $(13,8 \pm 0,9)$  дней. Эритема исчезала полностью до выписки из стационара у 90 % больных. У остальных 10 % пациентов купирование данного признака отмечено уже после выписки из стационара.

Регионарный лимфаденит отмечен в 10 % от общего числа заболевших у пациентов 1 группы. Лимфатические узлы не были спаяны между собой и с окружающими тканями, не превышали в размерах 2 см, кожа над ними была не изменена. Регионарный лимфаденит сохранялся от 2 до 10 дней, в среднем  $(7,8 \pm 0,9)$  дней.

Во 2 группе регионарный лимфаденит не зарегистрирован.

Со стороны сердечно-сосудистой системы в 58,7 % случаев в разгаре заболевания определялась тахикардия, у 21,7 % больных – относительная брадикардия. У большинства заболевших (65,3 %) артериальное давление оставалось в пределах нормы, 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.).

Аускультативно у всех пациентов выслушивалось везикулярное дыхание.

У 7 (6 %) больных 1 группы острым периоде болезни при наличии лихорадки и интоксикационного синдрома отмечался менингеальный синдром, в связи с чем была выполнена люмбальная пункция, воспалительных изменений в ликворе не найдено. Во второй группе в двух случаях (6 %) наблюдался синдром Баннварта, характеризующийся наличием триады симптомов: корешковой боли, периферического пареза лицевого и отводящего нервов и менингита с лимфоцитарным плеоцитозом.

Средние показатели гемограммы не отличались от нормальных значений (таблица 7). Повышение активности трансаминаз выявлялось чаще у больных

2 группы. Синдром цитолиза чаще встречался во 2 группе. Увеличение значений АЛТ и АСТ было слабо выраженным, средние показатели трансаминаз были выше по сравнению с таковыми в 1 группе ( $p < 0,05$ ). Вирусные гепатиты в этих случаях исключались на основании отрицательных серологических исследований крови на маркеры вирусных гепатитов А, В и С. У 60 % выявлены Ig GHAV, что свидетельствует о наличии иммунитета к гепатиту А. К выписке больных из стационара происходила нормализация данных показателей.

Таблица 7 – Лабораторные показатели общего анализа крови у больных ИКБ: средние показатели ( $M \pm m$ )

Показатели	Средние значения, $M \pm m$	
	1 группа (n = 116)	2 группа (n = 33)
Лейкоциты, $10 \times 9/л$	$6,9 \pm 0,3$	$6,3 \pm 0,4$
Эозинофилы, %	$1,2 \pm 0,1$	$0,75 \pm 0,1$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$1,0 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,2$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$63,9 \pm 5,3$	$57,8 \pm 4,3$
Лимфоциты, %	$29,5 \pm 2,9$	$31,7 \pm 3,6$
Моноциты, %	$6,7 \pm 0,4$	$7,4 \pm 0,7$
Тромбоциты, $10 \times 9/л$	$219,3 \pm 6,6$	$207,3 \pm 6,7$
Синдром цитолиза, %	16,9 %*	37,5 %
АЛТ, ед/л	$31,7 \pm 4,0^*$	$55,3 \pm 15,5$
АСТ, ед/л	$30,2 \pm 3,2^*$	$53,8 \pm 16,9$

Примечание: \* – достоверность отличий между 1 и 2 группами;  $p < 0,05$ .

Из данных таблицы 8 видно, что в 1 группе больных ИКБ чаще, по сравнению со 2 группой, встречался нейтрофилез (у каждого четвертого пациента), и реже – анемия, тромбоцитопения, лимфоцитоз, повышение активности трансаминаз.

Таблица 8 – Лабораторные показатели у больных иксодовым клещевым боррелиозом

Признак	Больные	
	1 группа (n = 116), абс., %	2 группа (n = 33), абс., %
Относительная лимфопения (менее 20,0 %)	19 (17 %)	4 (14 %)
Нейтрофилез (палочкоядерные нейтрофилы более 5 %)	33 (28,5 %)*	4 (12,5 %)
Тромбоцитопения (менее $160 \times 10^9/\text{л}$ )	4 (3,5 %)*	9 (27,2 %)
Снижение гемоглобина (менее 120 г/л)	6 (5 %)*	9 (27,2 %)
Относительный лимфоцитоз (более 40,0 %)	47 (36 %)*	23 (71 %)
Лейкоцитоз (более $9,0 \times 10^9/\text{л}$ )	9 (7,5 %)	4 (12,2 %)
Биохимический анализ крови		
Повышение активности АлАТ (более 40 Ед/л)	7 (6 %)*	8 (24,2 %)
Повышение активности АсАТ (более 31 Ед/л)	12 (10,3 %)	8 (24,7 %)
Примечание: * – достоверность отличий между 1 и 2 группами; $p < 0,05$ .		

У всех больных была определена степень тяжести заболевания, ее критерии представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Критерии степени тяжести у больных иксодовым клещевым боррелиозом

Степень тяжести	Критерии
Тяжелая	Резко выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела выше $39^{\circ}\text{C}$ , признаки менингита, нарушение проводимости сердца, признаки миокардита
Среднетяжелая	Умеренно выраженные симптомы общей интоксикации, повышение температуры тела $38\text{--}39^{\circ}\text{C}$
Легкая	Нерезко выраженные симптомы общей интоксикации, отсутствуют признаки поражения сердца, суставов и нервной системы. Повышение температуры тела до $38^{\circ}\text{C}$

При эритемной форме в большинстве случаев заболевание протекало в легкой – 69,4 %, в остальных случаях (30,6 %) – в среднетяжелой форме. Тяжелой формы у больных с ЭИКБ не выявлено. При безэритемной форме в 80,0 % – в

среднетяжелой форме, только у 2 больных (6,0 %) отмечена тяжелая форма заболевания с поражением нервной системы.

В стационаре всем пациентам проводилась комплексная терапия, направленная на элиминацию возбудителя и купирование симптомов заболевания. В качестве этиотропной терапии все больные получали препараты группы тетрациклинов и цефалоспорины: в 68,1 % назначался цефтриаксон и 39,1 % – доксициклин. Антибиотики назначались в среднетерапевтических дозах: цефтриаксон – 2 г/сут., доксициклин – по 0,2 г/сут. Курс лечения составлял, в среднем,  $(11,4 \pm 0,6)$  дня.

Температура тела нормализовалась на  $(3,32 \pm 0,3)$  дня при ЭИКБ и на  $(3,2 \pm 0,29)$  дня при БЭИКБ после назначения антибактериальной терапии (от 1 до 10) дней, 10,9 % заболевших принимали антибиотики до поступления в стационар (самостоятельно или по назначению врача поликлиники), из них 6,5 % – доксициклин и 4,4 % – ципрофлоксацин.

В 41,3 % случаев при среднетяжелой форме болезни пациентам проводилась инфузионная терапия путем внутривенного введения глюкозо-солевых растворов в объеме от 500,0 мл до 1000,0 мл для восполнения нормоволемии.

В периоде реконвалесценции все больные отмечали улучшение общего самочувствия и исчезновение основных симптомов заболевания. У 41,7 % больных 1 группы 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. Средний койко-день составил  $(13,0 \pm 0,7)$  дней.

Всем пациентам проводили исследование крови на наличие ДНК *B. miyamotoi* и *B. burgdorferi s. l.* методом ПЦР.

У пациентов, у которых при поступлении в стационар фиксировалась менингеальная симптоматика и проводилась диагностическая люмбальная пункция, методом ПЦР исследовался ликвор на наличие ДНК *B. miyamotoi* и *B. burgdorferi s. l.*

Для этого использовали набор «Проба НК» (ДНК-технология, Россия) согласно инструкции производителя. ДНК *B. miyamotoi* и *B. burgdorferi s. l.* выявляли методом двухраундовой ПЦР в присутствии видоспецифичных праймеров.

Серологическое обследование пациентов проводилось в динамике методом ИФА (исследование парных сывороток крови на наличие IgM и IgG к боррелиям комплекса *B. burgdorferi s. l.* с помощью ИФА тест-системы «ЛаймБест-IgM» («Вектор-Бест», Россия), забранных в первый день поступления больных в стационар и через 7–10 дней.

Эритемная форма ИКБ (1 группа) у всех 116 пациентов диагностирована клинико-эпидемиологически (присасывание или напозание клеща в анамнезе (100 %), наличие на теле эритемы (100 %), регионарный лимфаденит):

- у 2 больных (1,7 %) – выявлением ДНК *B. bavariensis* в крови методом двухраундовой ПЦР с последующим секвенированием;

- у 60 человек (51,7 %) диагноз также подтвержден выявлением антител класса IgM и/или IgG к боррелиям на 3-4 неделе болезни. Остальные пациенты были выписаны из стационара в более ранние сроки (до образования антител).

Из 33 больных безэритемной формой ИКБ (2 группа):

- у 28 (85 %) из них диагноз подтвержден выявлением специфических IgM и/или IgG к боррелиям на 3-4 неделе болезни;

- у остальных 5 пациентов (15 %) диагноз подтвержден выявлением ДНК *B. Burgdorferi* в крови.

Низкое выявление ДНК *B. burgdorferi s. l.* в крови не противоречит литературным данным о низкой чувствительности ПЦР при исследовании данного биологического материала [109]. Поэтому ПЦР является вспомогательным диагностическим тестом при ИКБ, а основными являются серологические методы.

## ГЛАВА 6 ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВОЗВРАТНОЙ КЛЕЩЕВОЙ ЛИХОРАДКИ, ВЫЗВАННОЙ *BORRELIA MIYAMOTOI*, В НОВОСИБИРСКОЙ ОБЛАСТИ.

Из числа 728 больных, госпитализированных с заболеванием, развившемся после присасывания клеща в анамнезе, на основании результатов специфических методов исследования (ПЦР крови, ликвора и ИФА) боррелиоз, вызванный *B. miyamotoi* (БМЗ), верифицирован у 74 человек (10,7 %). Они составили 3 группу обследованных пациентов.

У больных 3 группы выявлена ДНК *B. miyamotoi* при отсутствии в крови ДНК *B. burgdorferi s. l.* и антител к *B. burgdorferi s. l.* в ИФА. Для всех положительных образцов *B. miyamotoi* были секвенированы фрагменты гена *р66* длиной 514 н. п. и гена *glpQ* длиной 359 н. п. Все определенные последовательности фрагментов гена *р66* были идентичны друг другу и соответствовали азиатскому типу *B. miyamotoi*, ранее обнаруженному в клещах *I. persulcatus*, *I. Pavlovsky* на территории Новосибирской области и в других регионах России. Аналогично, все определенные последовательности фрагментов гена *glpQ* также были идентичны друг другу и соответствовали азиатскому типу *B. miyamotoi*.

### 6.1 Клинико-эпидемиологическая характеристика возвратной клещевой лихорадки, вызванной *B. miyamotoi*, в Новосибирской области

За период с 2015 по 2017 год под наблюдением находилось 74 пациента с ИКБ, вызванным *B. miyamotoi*, находившихся на стационарном лечении в городской инфекционной клинической больнице № 1 Новосибирска.

Среди заболевших преобладали мужчины 61 %, женщины составляли 39 %. Возраст больных колебался от 20 до 85 лет (в среднем  $51,1 \pm 15,8$ ). Интересно

отметить, что мужчин было больше в возрастной группе от 20 до 60 лет, женщин – от 60 до 79 лет (рисунок 12).

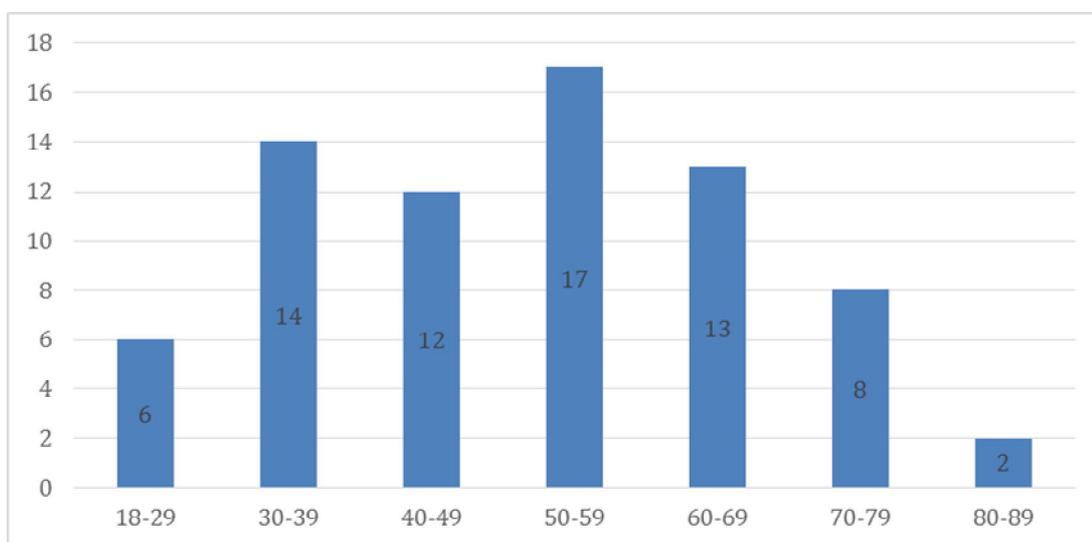


Рисунок 12 – Распределение больных с БМЗ по возрасту

Все заболевшие были городскими жителями. Наибольшее число пациентов являлось работающими людьми: служащими государственных учреждений, частных организаций и предприятий (62,2 %). Пенсионеры составили 31,1 % от числа заболевших, студенты – 6,7 %.

Среди пациентов с БМЗ только 13,8 % вакцинированы от ВКЭ, за экстренной профилактикой клещевого энцефалита обращалось 36,1 %.

Продолжительность инкубационного периода у больных варьировала от 1 до 38 дней, составив в среднем  $(13,8 \pm 6,1)$  дня (таблица 10).

Таблица 10 – Сроки инкубационного периода у больных БМЗ

Показатель	Дни									
	1-4	5-8	9-12	13-16	17-20	21-24	25-28	29-32	33-38	Всего
Абс.	4	6	21	21	12	5	2	0	3	74
%	5,4	8,1	28,4	28,4	16,2	6,7	2,7	0	4,1	100

Направлены в стационар с диагнозом «клещевой энцефалит» 68 больных (92 %), с диагнозом «клещевой боррелиоз» – 3 (4,0 %), «ОРВИ» – 3 (4,0 %). Сроки поступления больных в стационар от начала болезни представлены в таблице 11, из которой видно, что в первые 3 дня болезни госпитализировано большинство заболевших (87,5 %). В 1 сутки заболевания в стационар направлено 67,3 % пациентов, на 2 сутки – 12,1 %, на 3 сутки – 8,1 %. Остальные 12,5 % больных от 4 до 20 дней лечились на дому самостоятельно симптоматическими средствами без эффекта и затем тоже были госпитализированы.

Таблица 11 – Сроки поступления больных БМЗ в стационар от момента начала заболевания

Показатель	Дни													Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	15	20	
Абс.	50	9	6	1	1	0	2	1	0	1	1	1	1	74
%	67,3	12,1	8,1	1,4	1,4	0	2,7	1,4	0	1,4	1,4	1,4	1,4	100

В приемном покое после проведения клинико-эпидемиологического обследования 96 % пациентов выставлен диагноз клещевого энцефалита (лихорадочной формы) и в 4 % – клещевого боррелиоза, что было связано с доминированием лихорадки и интоксикационного синдрома в клинической картине болезни.

Случаи заболевания регистрировались с мая по август. На рисунке 13 представлено распределение госпитализации больных с ИКБ, вызванным *Borrelia miyamotoi* в зависимости от месяцев года. Наибольшее число заболевших приходилось на июнь (54 %) с постепенным снижением к августу.

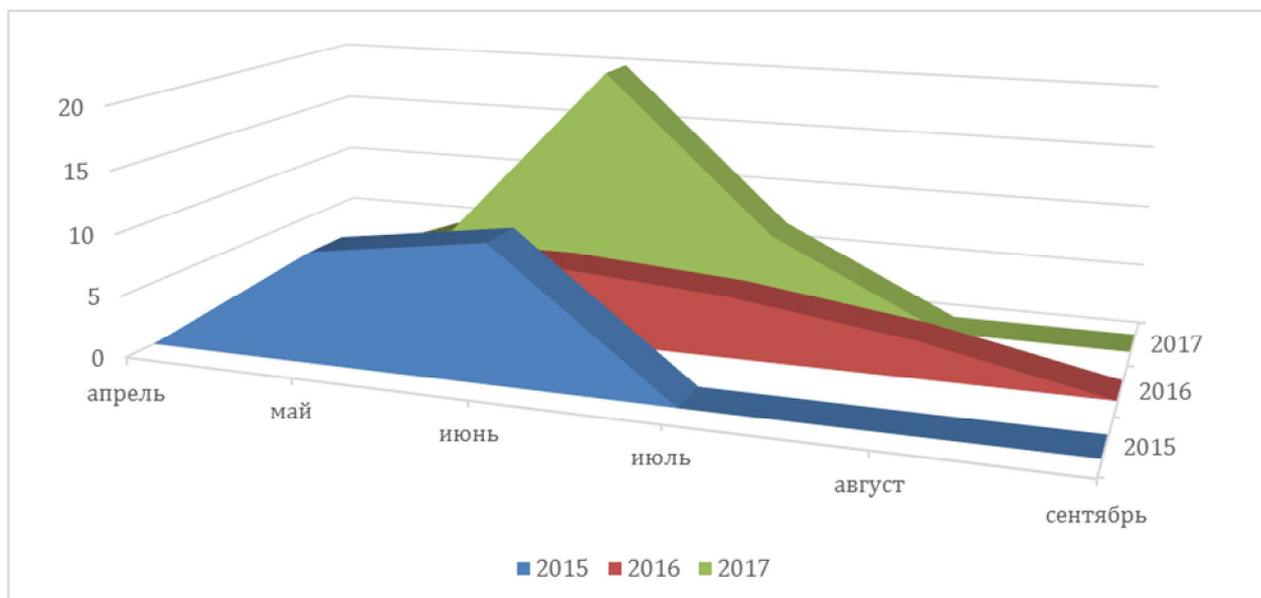


Рисунок 13 – Распределение госпитализации больных с КБ, вызванным *Borrelia miyamotoi*, по месяцам года в период 2015–2017 гг. (по оси ординат – количество больных)

Из анамнеза жизни удалось установить, что 40 заболевших (54 %) имели различные хронические соматические заболевания, вне обострения (гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, хронические заболевания органов дыхания и пищеварения).

При сборе эпидемиологического анамнеза установлено, что у 93 % пациентов накануне заболевания отмечались присасывания клещей на территории Новосибирска и Новосибирской области. Присасывание клещей встречалось также у больных, прибывших из Республики Алтай, Алтайского края и Кемеровской области (соответственно 4 %, 1,5 % и 1,5 %).

Чаще всего присасывание клещей происходило во время отдыха и работы городских жителей на дачном участке (у 74,3 %), 19,0 % пациентов подвергались нападению клеща по месту своего проживания или работы, во время отдыха в парках и скверах Новосибирска, 4,0 % – во время отдыха на Горном Алтае (в Чемальском районе и в районе Телецкого озера). В 1,4 % случаев укус клеща отмечался в черте г. Барнаула, в 1,4 % – на охоте в Кемеровской области.

В большинстве случаев клещей удаляли с туловища – 35,1 % пациентов, с нижних конечностей и паховой области – 29,7 % человек, с верхних конечностей и с подмышечной области – 20,3 % пациентов, в волосистой части головы – 6,7 %. В 2,7 % случаев заболевшие отмечали присасывание двух клещей в один день в разных частях тела (волосистая часть головы и грудь, ухо и плечо).

У 97,3 % больных БМЗ начиналось остро с повышения температуры тела.

На протяжении болезни температура повышалась до субфебрильных цифр – у 11,2 % больных, у 34,7 % – до фебрильных, у 51,4 % температура тела была выше 39 °С.

Отмечалась ремитирующая лихорадка (*febris remittens*) с суточными колебаниями в 2 °С. Длительность лихорадочного периода на фоне проводимой антибактериальной терапии при БМ колебалась от 1 до 10 дней. Средняя продолжительность составляла  $(2,7 \pm 0,31)$  дня.

Из рисунка 14 видно, что чаще всего лихорадка держалась 1–3 дня (у 80,0 %). Снижение температуры происходило критически, либо ускоренным или коротким лизисом.

В 12,2 % лихорадка имела двухволновый характер. Вторая волна повышения температуры от 37,1 до 38,1 °С возникала после 2–4 дней апиреksии и длилась до 2 суток.

Кроме повышения температуры, интоксикационный синдром проявлялся общей слабостью – (100 %), головной болью (84,6 %), болью в мышцах и суставах (31,9 % и 13,8 %). Миалгии локализовались, в основном, в области поясничных и икроножных мышц, мышцах плечевого пояса. Болели преимущественно коленные, голеностопные, локтевые, лучезапястные суставы. При этом изменения цвета кожных покровов, отека и ограничения движения в данных суставах не отмечалось (таблица 12).

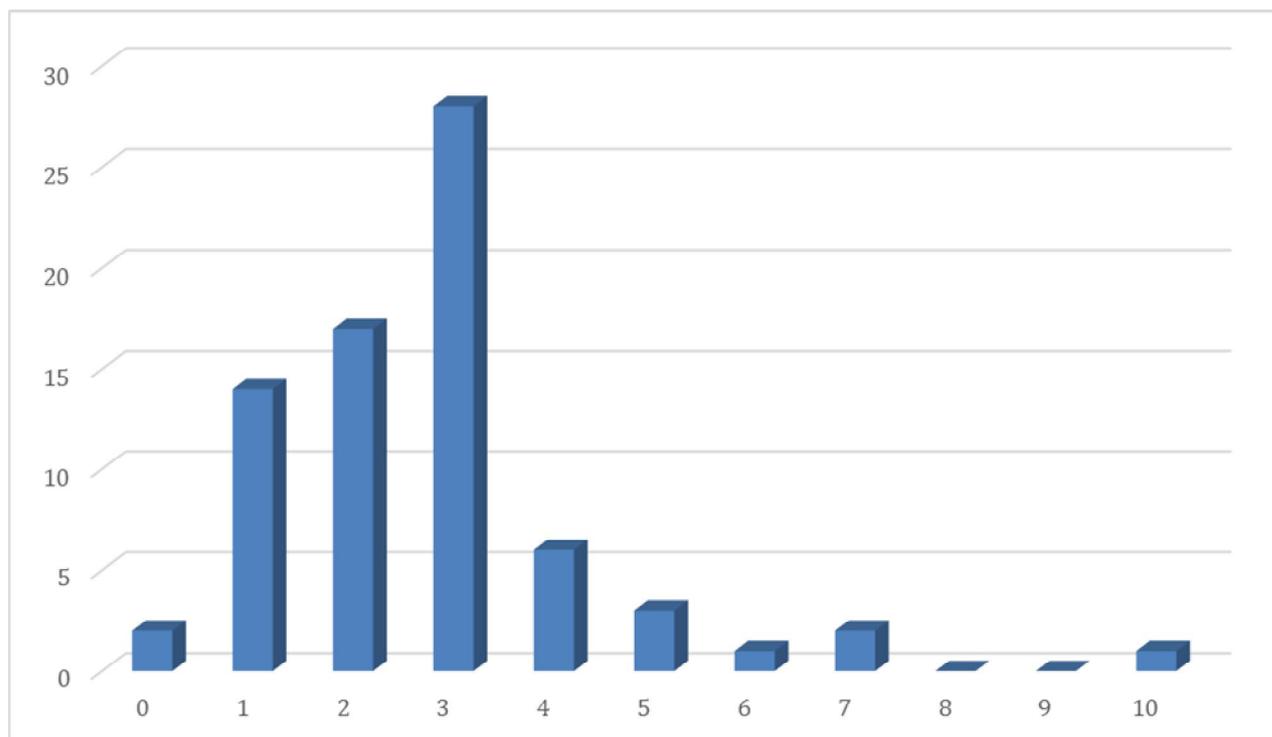


Рисунок 14 – Распределение больных клещевым боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi*, с учетом длительности лихорадочного периода (р %)

Таблица 12 – Частота симптомов у больных БМЗ (%)

Показатели	БМЗ (n = 74)
Лихорадка:	97,3 %
Высокая – 39 °С и выше	51,4 %
Умеренная (38–38,9 °С)	34,7 %
Субфебрилитет (37–37,9 °С)	11,2 %
Двухволновая лихорадка	13,8 %
Слабость	100 %
Головная боль	84,7 %
Миалгии	31,9 %
Артралгии	13,8 %

Эритема в месте укуса клеща зафиксирована у 3 пациентов с БМ (4 %) и достигала от 5 до 15 см в диаметре. Данный факт предполагает наличие у данных пациентов микст-инфекции, БМ с боррелиозом, вызванным *B. burgdorferi*, но не подтвержденной использованными методами диагностики.

У 10 пациентов с БМ отмечалась менингеальная симптоматика (ригидность затылочных мышц различной степени выраженности, положительные симптомы Кернига, Брудзинского), но при исследовании ликвора воспалительных изменений не выявлено. У одного из этих десяти больных в ликворе обнаружена ДНК *B. miyamotoi*. Менингеальный синдром у него был кратковременным, развился на 2-е сутки заболевания на фоне лихорадки до 40,0 °С и проявлялся сильной головной болью и болями в шее при движении. Был выявлен положительный симптом Кернига, ригидность мышц затылка. Симптомы регрессировали через сутки и были расценены как менингизм, так как проведенная люмбальная пункция позволила выявить отсутствие цитоза в ликворе, нормальные показатели белка. Таким образом, имел место факт присутствия в ликворе микробных тел без явного воспаления мозговых оболочек. Такой феномен в инфектологии известен, например, в отношении менингококковой инфекции – при ее генерализованных формах менингококки могут присутствовать в ликворе без развития плеоцитоза, что, вероятно, связано с иммунными механизмами (нет ответа на клеточном уровне при попадании возбудителя в какую-либо среду, в данном случае, в центральную нервную систему).

В гемограмме у большинства больных БМ отмечалось нормальное количество лейкоцитов (у 61,2 %). Лейкопения регистрировалась в 30,5 % случаев. У незначительной части больных с БМ выявлен лейкоцитоз (8,3 %). Средние показатели относительного содержания сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов при БМ были повышены.

У пациентов с ВМЗ в 66,7 % случаев отмечалась тромбоцитопения. Средние показатели тромбоцитов также были сниженными (таблица 13).

Повышение активности трансаминаз выявлялось у 52,9 % больных БМ. Повышение активности АЛТ и АСТ было слабо выраженным, средние показатели трансаминаз увеличены. Вирусные гепатиты в этих случаях исключались на основании отрицательных серологических исследований крови на маркеры вирусных гепатитов А, В и С. К выписке больных из стационара происходила нормализация данных показателей.

Таблица 13 – Лабораторные показатели у больных БМЗ при поступлении

Показатели	Средние значения, $M \pm m$ 3 группа БМ (n = 74)
Лейкоциты, $10 \times 9 /л$	$5,2 \pm 0,22$
Эозинофилы, %	$0,24 \pm 0,5$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$5,2 \pm 0,52$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$73,8 \pm 1,17$
Лимфоциты, %	$15,6 \pm 1,0$
Моноциты, %	$5,7 \pm 0,44$
Тромбоциты, $10 \times 9/л$	$144,3 \pm 15,2$
АЛТ, ед/л	$47,1 \pm 5,9$
АСТ, ед/л	$48,9 \pm 6,3$

### **6.2 Клинический случай возвратной клещевой лихорадки, вызванной *B. miyamotoi*, выявленной в ликворе, в Новосибирской области**

Пациент Ч., 45 лет поступил в стационар 29.05.2017 г. с жалобами на лихорадку до  $40^{\circ}\text{C}$ , сильную головную боль, выраженную слабость, резкое снижение работоспособности, отсутствие аппетита, сонливость, озноб, чувство жара, повышенную потливость, тошноту, рвоты не было.

Из анамнеза заболевания известно, что пациент заболел остро за 3 суток до госпитализации (27.05.2017), с повышения температуры до  $40^{\circ}\text{C}$ , сильной головной боли, плохо купирувавшихся приемом анальгетиков, отмечалось резкое снижение работоспособности, отсутствие аппетита, сонливость, лихорадка сопровождалась чувством жара, повышенной потливостью, на высоте лихорадки отмечалась тошнота, рвоты не было. Прием анальгетиков снижал температуру до  $38^{\circ}\text{C}$ , ее нормализации не происходило. Пациент доставлен в стационар бригадой СМП.

Эпидемиологический анамнез: больной проживает в г. Новосибирске в благоустроенной квартире. Работает дворником в Детском противотуберкулезном санатории. Отмечал укус клеща в область шеи 15.05.2017 года, неоднократное

наползание клещей на туловище и конечности (более 10). Специфическая профилактика клещевого энцефалита не проводилась, от него не вакцинирован.

Анамнез жизни: родился и живет в Новосибирске. Наличие хронических заболеваний отрицает.

При поступлении состояние пациента средней степени тяжести, температура  $38,2^{\circ}\text{C}$ . Сознание ясное, контактен, в месте и времени ориентирован. На вопросы отвечал правильно. Питание удовлетворительное, телосложение нормостеническое. Очаговой симптоматики не отмечено, статико-координаторные пробы выполнял правильно, тремора конечностей не отмечалось. Ригидность затылочных мышц на 1 поперечный палец. Лицо гиперемировано. Кожа туловища и конечностей чистая, обычной окраски, высыпаний нет. В месте укуса клеща в области шеи слева точечный след от укуса. Периферические лимфатические узлы при пальпации не увеличены, безболезненны. Слизистая ротоглотки умеренно гиперемирована. Патологии со стороны органов дыхания не выявлено. Частота дыхания 18 в минуту. Со стороны сердечно-сосудистой системы умеренная тахикардия – ЧСС 94 в мин. Артериальное давление – 110/70 мм рт. ст. Язык влажный, обложен белым налетом. Живот доступен для пальпации во всех отделах, безболезненный. Печень по краю реберной дуги, безболезненная. Селезенка не увеличена. Симптом Пастернацкого отрицательный с обеих сторон, мочеиспускание не нарушено. Стул оформлен, окрашен.

На основании клинико-эпидемиологических данных больному был выставлен предварительный диагноз «Клещевой энцефалит, менингеальная форма, средней степени тяжести?».

С диагностической целью при поступлении проведена люмбальная пункция, получен прозрачный ликвор, который вытекал частыми каплями. Цитоз составил  $36/3 = 12$  клеток, 65 % нейтрофилов, 35 % лимфоцитов, белок 0,2 г/л, глюкоза 3,4 ммоль/л.

В периферической крови – нормоцитоз  $6,0 \times 10^9/\text{л}$ , в лейкоцитарной формуле отмечался нейтрофилез с палочкоядерным сдвигом влево (п-24 %,

с-60 %, л-13 %, м-3 %), тромбоцитопения –  $135 \times 10^9/\text{л}$ , уровень эритроцитов и гемоглобина в пределах нормы. В биохимическом анализе крови выявлено слабо выраженное повышение уровня трансаминаз – АЛТ 66 ед/л, АСТ 79 ед/л.

При исследовании методом ПЦР в ликворе ДНК ВПГ 1,2 типа, ДНК ЦМВ, ДНК вируса Эпштейна – Барр, РНК энтеровирусов, вируса клещевого энцефалита не обнаружено, выявлена ДНК *B. miyamotoi*.

ИФА-диагностика на КЭ методом парных сывороток, взятых с интервалом в 10 дней (31.05.2017 и 10.06.2017) отрицательна – IgM и IgG отсутствовали. Иммуноферментный анализ (ИФА) на боррелиоз от 10.06.2017 – отрицательно IgM и IgG.

На фоне проводимой инфузионной терапии (глюкозо-солевыми растворами № 5), антибактериальной терапии (цефтриаксон  $2,0 \text{ г} \times 2$  раза в сутки в/м 10 дней), иммунокорректирующей терапии (циклоферон по 2.0 мл в/м 10 дней), отмечался регресс симптоматики в течение 3 суток. Снижение лихорадки до субфебрильных цифр отмечалось в первые сутки госпитализации, с последующим снижением до нормальных цифр в течение 2 дней. Менингеальная симптоматика регрессировала в первые сутки пребывания в стационаре. Головная боль и проявления интоксикационного синдрома купировались также на 3 сутки, сон восстановился на 2 сутки, аппетит через 5 дней.

При выписке в периферической крови отмечался нормоцитоз ( $6,25 \times 10^9/\text{л}$ ), в лейкоцитарной формуле нейтропения, лимфоцитоз (п-3 %, с-26 %, л-60 %, л-11 %). В биохимическом анализе крови выявлена нормализация уровня трансаминаз.

Пациент выписан с клиническим выздоровлением через 11 дней.

Таким образом, впервые в Новосибирской области молекулярно-биологическими методами исследования верифицирован случай заболевания клещевой инфекцией, вызванный *B. miyamotoi*, выявленной в ликворе без его воспалительных изменений (т. е. с картиной менингизма).

### 6.3 Серологическая диагностика боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*

Диагноз заболевания, вызванного *Borrelia miyamotoi* – БМЗ, подтверждался на основании обнаружения ДНК указанных боррелий в крови, взятой во время лихорадки, методом ПЦР. Доказать настоящую или пастинфекцию также возможно, используя серологическую диагностику. Мы провели исследование методом иммуночипов 59 сывороток от 26 пациентов с укусом клеща и лихорадкой в анамнезе с определением динамики формирования IgM и IgG к GpQ (антигену, который присутствует во всех боррелиях группы возвратных лихорадок), Vlp и Vmp (большим и малым поверхностным белкам, которые вызывают продукцию антител и используются как диагностические маркеры боррелиоза *miyamotoi*). Клинические признаки БМЗ подтверждались положительной ПЦР (обнаружением ДНК боррелий *miyamotoi*) у 18 человек. Сыворотки были взяты в первые дни болезни при поступлении больных в стационар, далее в динамике во время лечения и в последующие 2-3 месяца от начала болезни. Полученные результаты серологического обследования позволили разделить больных на несколько подгрупп.

Первая (1) подгруппа – 14 больных с подтвержденным диагнозом боррелиоза *miyamotoi*, из них 13 были ПЦР-положительными, у одного с отсутствием ДНК боррелий *miyamotoi* в крови на 17 день от начала болезни отмечена сероконверсия с появлением IgM к GpQ и Vsp1 и IgG к Vsp1. Только у одного больного № 13 не было продукции антител при подтвержденном методом ПЦР диагнозе БМ. У остальных больных 1 подгруппы формирование антител отмечалось по классическому варианту. У части больных IgM появлялись с первых дней болезни, а если отсутствовали в ранние сроки, то сероконверсия происходила в динамике, причем выявлялся комплекс антител к разным иммуногенным белкам – GpQ и Vsp1, Vlp5, 15, 18, что повышает чувствительность данного метода обследования. Антитела класса IgG отсутствовали в ранние сроки болезни и появлялись в динамике, начиная с 12 дня

от начала болезни. Формирования их не зафиксировано у пациентов № 10 (у него определялся комплекс IgM) и № 13 (у которого отсутствовали и IgM) (таблица 14).

Таблица 14 – Распределение больных боррелиозом *miyamotoi* с учетом результатов обследования методами ПЦР и иммуночипов в динамике (n = 14)

Пациент №	Возраст, пол	Дата забора крови	День с начала болезни	ПЦР	IgM <i>B. miyamotoi</i>	IgG <i>B. miyamotoi</i>
1	74, м	13.06	3	—	—	—
		20.06	10	<i>B. miyam</i>	GlpQ, Vlp15	—
		16.08	66	—	—	Vlp18
2	47, м	16.06	1	<i>B. miyam</i>	—	—
		04.07	19	—	GlpQ, Vlp5, 15	Vlp 15
3	30, ж	20.06	4	<i>B. miyam</i>	—	—
		05.09	79	—	GlpQ, Vlp15	GlpQ
4	74, ж	25.06	2	<i>B. miyam</i>	—	—
		11.07	18	—	GlpQ, Vlp5, 15, 18	Vlp15
		05.09	72	—	GlpQ, Vlp5, 15, 18, Vsp1	Vlp15
5	63, ж	28.06	2	<i>B. miyam</i>	GlpQ, Vlp5, 15, 18, Vsp1	—
		05.09	69	—	GlpQ, Vlp5, 15, 18, Vsp1	GlpQ
6	55, ж	28.06	1	<i>B. miyam</i>	—	—
		05.09	68	—	GlpQ, Vlp5, 15, 18	GlpQ, Vlp5, 15, 18
7	28, м	20.07	1	<i>B. miyam</i>	GlpQ, Vlp15, Vsp1	—
		01.08	12	—	GlpQ, Vlp5, 15, 18, Vsp1	Vsp1
8	57, ж	24.07	2	<i>B. miyam</i>	—	—
		08.08	16	—	GlpQ, Vlp5, 15	GlpQ, Vlp15

Пациент №	Возраст, пол	Дата забора крови	День с начала болезни	ПЦР	IgM B. miyamotoi	IgG B. miyamotoi
		05.09	43	—	GlpQ, Vlp15	GlpQ, Vlp5, 15, Vsp1
9	34, м	24.09	1	B. miyam	—	—
		19.09	16	—	GlpQ, Vlp5, 15, 18	GlpQ, Vlp5, 15
10	59, м	14.06	2	B. miyam	—	—
		27.06	15	B. miyam	GlpQ, Vsp1	—
		19.09	90	—	—	—
11	61, м	19.05	2	B. miyam	—	—
		08.08	77	—	—	GlpQ, Vlp15
12	46, м	09.06	1	B. miyam	—	—
		27.06	18	—	—	Vlp5, 15, 18
13	26, м	23.05	0	B. miyam	—	—
		06.06	13	B. miyam	—	—
14	42, м	29.05	6	—	—	—
		09.06	17	—	GlpQ, Vsp1	Vsp1

Полученные результаты серологической диагностики боррелиоза *miyamotoi*, во-первых, подтверждают высокую информативность метода ПЦР крови в лихорадочном периоде заболевания при данной нозологической форме. Во-вторых, следует отметить высокий диагностический потенциал метода ИФА с определением IgM и IgG к GpQ, а также Vsp1, Vlp 5, 15, 18, что наводит на мысль о пользе их определения. Из 14 пациентов, у которых для исследования были доступны 2-3 сыворотки в разных временных вариантах, за исключением одного, не ответившего продукцией антител, все остальные ответили появлением IgM и IgG как на GpQ, так и на какой-нибудь Vmp, или на несколько больших и малых поверхностных белков одновременно.

Вторую (2) подгруппу составили 5 пациентов с микст-инфекцией: сочетание боррелиоза *miyamotoi* с риккетсиозами, вызванными *R. raoultii* (в 1 случае), *R. slovaca* (в 2 случаях), с клещевым энцефалитом, лихорадочной формой

(в 2 случаях). Необходимо подчеркнуть, что без серологического мониторинга в одном случае боррелиоз *miyamotoi* остался бы нераспознанным (у ПЦР-отрицательного больного № 3). У пациента № 4 ДНК боррелий *miyamotoi* присутствовала в крови, что наряду с лихорадкой, интоксикацией подтверждало БМЗ, но IgM и IgG к белкам боррелий не сформировались. Выявление IgM к вирусу клещевого энцефалита в титре 1/800 позволило верифицировать микст-инфекцию (лихорадочную форму клещевого энцефалита и боррелиоз *miyamotoi*) (таблица 15).

Таблица 15 – Распределение больных микст-инфекцией (сочетание боррелиоза *miyamotoi* с риккетсиозами, либо клещевым энцефалитом) с учетом результатов обследования методами ПЦР и ИФА в динамике (n = 5)

Пациент, №	Возраст, пол	Дата забора крови	День с начала болезни	ПЦР	IgM <u><i>B. miyamotoi</i></u>	IgG <u><i>B. miyamotoi</i></u>
1	32, ж	11.07	1	<i>B. miyam</i>	—	—
		01.08	21	<i>R. raoultii</i>	GlpQ, Vlp15	GlpQ, Vlp5,15
		05.09	55	—	GlpQ, Vlp15	GlpQ, Vlp5,15
2	72, ж	22.07	3	<i>B. miyam</i>	—	—
		08.08	19	<i>R. slovaca</i>	GlpQ, Vlp5,15	—
3	15, ж	21.05	1	БКЭ	—	—
		9.06	18	—	GlpQ, Vlp15	GlpQ, Vlp15
4	54, м	15.06	6	<i>B. miyam</i>	БКЭ 1\800	—
		30.06	21	—	—	—
5	35, м	20.07	1	<i>B. miyam</i>	—	—
		01.08	12	<i>R. slovaca</i>	GlpQ, Vsp1	—

Проведенная комплексная диагностика БМЗ методами ПЦР и иммуночипов показала, что из 26 обследованных пациентов с укусом клеща и лихорадкой в анамнезе у 5 (19,2 %) оказалась микст-инфекция: боррелиоз *miyamotoi* с риккетсиозом, либо клещевым энцефалитом, т. е. она регистрируется почти у

каждого пятого пациента, но не является учтенной в виду неполной диагностики. С учетом нередкого выявления риккетсиозов, лечение больных должно быть пересмотрено: антибактериальная терапия должна быть подобрана рационально, оказывать воздействие на внутриклеточных возбудителей, т. е. предпочтительно использование доксициклина либо макролидов.

В третьей (3) подгруппе обследованных больных оказалось два пациента. У больного № 1 с укусом клеща в анамнезе, лихорадкой и головной болью обнаружена ДНК риккетсий *raoultii*, что подтверждает диагноз данного риккетсиоза. Без выработки антител класса IgMк антигенам *B. miyamotoi* на 55 день от начала болезни выявлены IgG к Vlp18, которые отсутствовали в начале болезни. Данная сероконверсия также может свидетельствовать в пользу микст-инфекции – риккетсиоза *raoultii* и боррелиоза *miyamotoi*, однако для уточнения диагноза все-таки требуется еще одно ИФА-обследование данного пациента с учетом выявления антител только к одному типоспецифическому белку БМ. У больной № 2 клиника заболевания соответствовала ИКБ с наличием характерной эритемы на месте присасывания клеща диаметром 10 на 6 см, кроме того, диагноз ИКБ был подтвержден в стационаре серологически обнаружением группоспецифических IgM к *B. burgdorferi s. l.* в титре 1/200 (таблица 16).

Таблица 16 – Распределение больных с сероконверсией по IgG к боррелиям *miyamotoi* с учетом результатов обследования методами ПЦР и ИФА в динамике (n = 2)

Пациент, №	Возраст, пол	Дата забора крови	День с начала болезни	ПЦР	IgM <i>B. miyamotoi</i>	IgG <i>B. miyamotoi</i>
1	50, м	20.06	0	<i>R. raoultii</i>	—	—
		15.08	55	—	—	Vlp18
2	65, ж	17.08	7	—	—	—
		05.09	35	—	—	Vlp5-высокий

Помимо этого, при отсутствии в ИФА ранних антител к *B. miyamotoi* в

динамике к 35 дню от начала болезни обнаружены IgG к Vlp5, что также может указывать на высокую вероятность микст-инфекции: ИКБ и боррелиоза *miyamotoi*.

В четвертой (4) подгруппе оказалось 5 больных с отсутствием ДНК *B. miyamotoi* в крови и выявлением только IgG без сероконверсии (таблица 17).

Таблица 17 – Распределение больных с наличием антител класса IgG к боррелиям *miyamotoi* без сероконверсии с учетом результатов обследования методами ПЦР и ИФА в динамике (n = 5)

Пациент №	Пол	Дата забора крови	День с начала болезни	ПЦР	IgM <i>B. miyamotoi</i>	IgG <i>B. miyamotoi</i>
1	Ж	10.05	—	—	—	GlpQ, Vlp15
		19.05	9	—	—	GlpQ, Vlp15
		04.07	56	—	—	GlpQ, Vlp15
2	М	30.05	1	—	—	Vsp1
		09.06	11	—	—	Vsp1
3	Ж	02.06	0	Rick. sp	—	GlpQ
		05.09	93	—	—	GlpQ
4	Ж	13.06	3	—	—	Vlp15, Vlp18
		05.09	85	—	—	Vlp18
5	М	03.07	50	—	—	GlpQ
		08.08	85	Rick. sp	—	GlpQ
		15.08	92	—	—	GlpQ

У больной № 1 помимо лихорадки отмечались первичный аффект на месте присасывания клеща, регионарный лимфаденит и пятнисто-папулезная сыпь, что клинико-эпидемиологически позволило поставить диагноз клещевого риккетсиоза. У больного № 2 верифицировать ту или иную клещевую инфекцию не представилось возможным в виду наличия только лихорадки и головной боли. У больных № 3 и № 5 с лихорадкой методом ПЦР обнаружена ДНК риккетсий, которые оттипировать не удалось. Иксовый клещевой боррелиоз установлен у пациентки № 4 на основании наличия эритемы диаметром 15 см и фебрильной

лихорадки. Отсутствие у всех 5 больных IgM и наличие IgGGpQ, а также Vsp1, Vlp 15, 18 без динамики их появления свидетельствует о паст-инфекции, т. е. перенесенном в прошлом боррелиозе *miyamotoi*.

Следует подчеркнуть, что из 26 обследованных пациентов с использованием одновременно методов ПЦР-диагностики и иммуночипов, у 19 больных первых двух подгрупп был подтвержден БМЗ как моно- либо микст-инфекция. Из них у 15 человек определялись как ДНК к боррелиям, так и ранние и поздние специфические антитела. Таким образом, совпадение положительных результатов при сопоставлении данных методов ПЦР и иммуночипов у больных с БМЗ составило 79 %. Высокая прямая корреляционная связь между результатами ПЦР и ИФА ( $r = 0,84$ ) подтверждает значимость предложенных методик в схеме диагностики заболевания.

## ГЛАВА 7 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ, КЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ И БОРРЕЛИОЗА *MIYAMOTOI*

### 7.1 Результаты сопоставления эпидемиологических и клинических проявлений иксодовых клещевых боррелиозов и заболевания, вызванного *B. miyamotoi*

Возраст больных в первой группе (с эритемной формой ИКБ) – от 16 до 87 лет (в среднем  $59,09 \pm 16,6$ ), во второй (с безэритемной формой ИКБ) – от 16 до 82 лет (в среднем  $44,09 \pm 19,4$ ); в третьей группе (с БМЗ) колебался от 20 до 85 лет (в среднем  $51,1 \pm 15,8$ ). В третьей группе преобладали мужчины (61,2 %), в первой и второй они составляли 46,5 % и 48,4 % соответственно. У 93 % пациентов накануне заболевания отмечались присасывания клещей на территории Новосибирска и Новосибирской области. В 1 группе в 6 % случаев присасывание клещей зафиксировано в Алтайском крае. Во 2 группе присасывание клеща встречалось также в Республике Алтай, Алтайском крае и Кемеровской области (соответственно 4 %, 1,5 % и 1,5 %), а в 3 группе – на территории Томской области, Алтайского края, Амурской области, Приморского края, Кемеровской области, в Германии и Чехии (соответственно по 0,8 %). Продолжительность инкубационного периода у больных 3 группы варьировала от 1 до 38 дней, составив в среднем ( $13,8 \pm 6,1$ ) дня, это больше, чем у больных 1 группы ( $10,2 \pm 9,3$  дня), во 2 группе она была самой продолжительной ( $15,6 \pm 8,8$  дня).

Заболевание у всех больных БМЗ начиналось остро с повышения температуры тела. Лихорадка при БМЗ регистрировалась чаще, чем у больных с ИКБ (таблица 18).

Таблица 18 – Клинические показатели у больных ЭИКБ и БМЗ: частота симптомов (%)

Показатели	Группы наблюдения				p
	ЭИКБ (n = 116)		БМЗ (n = 74)		
	1 группа		3 группа		
	абс. чис.	%	абс. чис.	%	
Лихорадка:	58	50,0	72	97,3	0,001*
Высокая (39 °С и выше)	10	8,6	38	51,4	0,001*
Умеренная (38–38,9 °С)	18	15,5	26	35,1	0,002*
Субфебрилитет (37–37,9 °С)	30	25,9	8	10,8	0,002**
Двухволновая лихорадка	2	1,7	10	13,5	0,002**
Слабость	69	59,4	74	100,0	0,001*
Головная боль	27	23,3	63	85,1	0,001*
Миалгии	10	8,6	24	32,4	0,001*
Артралгии	6	5,2	10	13,5	0,06**
Примечания:					
1. * – $\chi^2$ Пирсона;					
2. ** – ТТФ.					

У большинства больных БМЗ лихорадка была высокой (51,4 %) или умеренной (34,7 %), в отличие от пациентов с эритемной формой ИКБ – в 8,6 % ( $p = 0,001$ ,  $\chi^2$ ) и 15,5 % ( $p = 0,002$ ,  $\chi^2$ ) случаях, соответственно и с безэритемной формой ИКБ – в 15,1 % ( $p = 0,0005$ , ТТФ) и 15,1 % ( $p = 0,036$ , ТТФ) случаях (таблица 19). Длительность лихорадочного периода на фоне проводимой антибактериальной терапии при БМЗ колебалась от 2 до 10 дней. Средняя продолжительность составляла ( $2,7 \pm 0,3$ ) дня и была больше, чем при ЭИКБ ( $1,7 \pm 0,28$ ); ( $p < 0,05$ ) и сопоставима с БЭИКБ ( $2,3 \pm 0,53$ ). Двухволновая лихорадка наблюдалась чаще у больных БМЗ (13,5 %), чем при ЭИКБ (1,7 %) ( $p = 0,002$ ,  $\chi^2$ ) и без достоверных отличий при БЭИКБ (6,0 %), ( $p = 0,34$ , ТТФ). У больных с БМЗ вторая волна повышения температуры от 37,1 °С до 38,1 °С возникала после 2–4 дней апиреksии и длилась до 2 суток. В первой и второй

группах вторая волна повышения температуры отмечалась через сутки апирексии, достигала максимально 37,4 °С и длилась одни сутки.

Наряду с лихорадкой у большинства пациентов БМЗ отмечались проявления интоксикации. Наиболее часто регистрировались слабость (100 %) и головная боль (84,7 %), реже выявлялись миалгии и артралгии. Симптомы интоксикации при БМЗ регистрировались достоверно чаще, чем при ЭИКБ ( $p = 0,001$ ,  $\chi^2$ ), кроме артралгий ( $p = 0,34$ , ТТФ) (см. таблицу 18). Группа больных БЭИКБ отличалась от БМЗ меньшей частотой жалоб на слабость и головную боль ( $p = 0,001$ ,  $\chi^2$ ) (см. таблицу 19).

Таблица 19 – Клинические показатели у больных БЭИКБ и БМЗ: частота симптомов (%)

Показатели	Группы наблюдения				P
	БЭИКБ (n = 33) 2 группа		БМЗ (n = 74) 3 группа		
	абс. чис.	%	абс. чис.	%	
Лихорадка:	25	75,7	72	97,3	0,0001*
Высокая (39°С и выше)	5	15,1	38	51,4	0,0005**
Умеренная (38-38,9°С)	5	15,1	26	35,1	0,036**
Субфебрилитет (37-37,9°С)	15	45,5	8	10,8	0,0002**
Двухволновая лихорадка	2	6,0	10	13,5	0,34**
Слабость	25	75,5	74	100,0	0,001*
Головная боль	19	57,5	63	85,1	0,001*
Миалгии	7	21,2	24	32,4	0,26**
Артралгии	5	15,1	10	13,5	0,77**
Примечания:					
1. * – $\chi^2$ Пирсона;					
2. ** – ТТФ.					

Эритема в месте укуса клеща зафиксирована у 3 пациентов с БМЗ (4 %) и достигала от 5 до 15 см в диаметре. Данный факт предполагает наличие у данных пациентов микст-инфекции, БМЗ с боррелиозом, вызванным *B. burgdorferi*, но не

подтвержденной использованными методами диагностики.

У 10 пациентов с БМЗ отмечалась менингеальная симптоматика (ригидность затылочных мышц различной степени выраженности, положительные симптомы Кернига, Брудзинского), но при исследовании ликвора воспалительных изменений не выявлено. У одного из этих десяти больных в ликворе обнаружена ДНК *B. miyamotoi*. Менингеальный синдром у него был кратковременным, развился на 2-е сутки заболевания на фоне лихорадки до 40,0 °С и проявлялся сильной головной болью и болями в шее при движении. Был выявлен положительный симптом Кернига, ригидность мышц затылка. Симптомы регрессировали через сутки и были расценены как менингизм, так как проведенная люмбальная пункция позволила выявить отсутствие цитоза в ликворе.

При БЭИКБ в двух случаях имел место синдром Баннварта, характеризующийся наличием триады симптомов: корешковые боли, периферический парез лицевого и отводящего нервов и менингит с лимфоцитарным плеоцитозом.

У оставшихся 82 больных из 94 обследованных с менингеальным синдромом, которым с диагностической целью выполнена люмбальная пункция, верифицирован диагноз клещевого энцефалита, формы которого указаны в главе 4.

## **7.2 Результаты сопоставления лабораторных проявлений иксодовых клещевых боррелиозов и заболевания, вызванного *B. miyamotoi***

В гемограмме у большинства больных БМЗ отмечалось нормальное количество лейкоцитов (у 61,2 %). Лейкопения регистрировалась в 30,5 % случаев, чаще чем в первой и второй группах (6,8 % и 12,1 % соответственно). У незначительной части больных с БМЗ выявлен лейкоцитоз (8,3 %), реже чем в первой группе (16,1 %) и сопоставимо со второй группой (9 %). Средние показатели относительного содержания сегментоядерных и палочкоядерных

нейтрофилов при БМЗ были выше по сравнению с 1 и 2 группами ( $p < 0,05$ ), (таблица 20).

Таблица 20 – Лабораторные показатели у больных ИКБ и БМЗ: средние показатели ( $M \pm m$ )

Показатели	Средние значения, $M \pm m$		
	1 группа ЭИКБ (n = 116)	2 группа БЭИКБ (n = 33)	3 группа БМ (n = 74)
Лейкоциты, $10 \times 9/л$	$6,9 \pm 0,23$	$6,3 \pm 0,24$	$5,2 \pm 0,22^*$
Эозинофилы, %	$1,2 \pm 0,17$	$0,75 \pm 0,12$	$0,24 \pm 0,5^{* \#}$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$1,0 \pm 0,5$	$1,6 \pm 0,27$	$5,2 \pm 0,52^{* \#}$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$63,9 \pm 1,13$	$57,8 \pm 1,32$	$73,8 \pm 1,17^{* \#}$
Лимфоциты, %	$29,5 \pm 2,9$	$31,75 \pm 1,36$	$15,6 \pm 1,0^{* \#}$
Моноциты, %	$5,7 \pm 0,44$	$6,7 \pm 0,34$	$7,4 \pm 0,27$
Тромбоциты, $10 \times 9/л$	$219,3 \pm 6,62$	$207,3 \pm 6,76$	$144,3 \pm 15,2^{* \#}$
Синдром цитолиза, %	16,9 %	37,5 %	52,9 %*
АЛТ, ед/л	$31,7 \pm 4,0$	$55,3 \pm 15,5$	$47,1 \pm 5,9^*$
АСТ, ед/л	$30,2 \pm 3,2$	$53,8 \pm 16,9$	$48,9 \pm 6,3^*$
Примечание: * – достоверность отличий между 1 и 3 группами; # – достоверность отличий между 2 и 3 группами, $p < 0,05$ .			

У пациентов с БМЗ в 66,7 % случаев отмечалась тромбоцитопения, что чаще, чем во второй и третьей группах в 13,7 % и 27,3 % ( $p < 0,05$ ). Средние показатели тромбоцитов также были ниже в 1 группе, чем во 2 и 3 (см. таблицу 20).

Большинство исследователей отмечают, что у больных ИКБ не отмечается значимых отклонений от нормативов показателей периферической крови, при БМЗ данные об изменениях в лейкоцитарной формуле единичны [60] (см. таблицу 20).

Таблица 21 – Частота изменений лейкоцитарной формулы у больных БМЗ и ИКБ

Показатели	1 группа ЭИКБ (n = 116), абс., %	2 группа БЭИКБ (n = 33), абс., %	3 группа БМЗ (n = 74), абс., %
Лейкопения, $10^9$	16 (14 %)	3 (9,0 %)	22 (30 %)***#
Нормоцитоз, $10^9$	91 (78,5 %)	26 (78,8 %)	42 (57,5 %)***#
Лейкоцитоз, $10^9$	9 (7,5 %)	4 (12,2 %)	10 (12,5 %)
Относительное число <u>нейтрофилов, %:</u>			
нейтропения	34 (30%)	9 (28,5 %)	0
норма	72 (62 %)	21 (64 %)	24 (32,5 %)***##
нейтрофилез	10 (8 %)	3 (7,5 %)	46 (62,5%)***##
Абсолютное число нейтрофилов, тыс/л:			
нейтропения	7 (6 %)	3 (9,0 %)	1 (1,3 %)
норма	76 (65,5 %)	26 (78,8 %)	33 (44,6 %)***
нейтрофилез	33 (28,5 %)	4 (12,2 %)	40 (54,1 %)***#
Относительное число лимфоцитов, %:			
норма	52 (45 %)	6 (17 %)	34 (47 %)##
лимфоцитоз	47 (36 %)	23 (71 %)	0
лимфопения	17 (17 %)	4 (14 %)	40 (55 %)***##
Абсолютное число лимфоцитов, тыс/л:			
лимфоцитоз	28 (23,8 %)	23 (71 %)	1 (1,4 %)***#
норма	71 (61,5 %)	5 (14,5 %)	26 (35,1 %)***##
лимфопения	17 (14,7 %)	5 (14,5 %)	47 (64,5 %)***##
Примечание: * – $p < 0,05$ ; ** – $p < 0,01$ ; достоверность различий в группах ЭИКБ и БМЗ. # – $p < 0,05$ ; ## – $p < 0,01$ ; достоверность различий в группах БЭИКБ БМЗ $\chi^2$ с поправкой Йейтса			

Однако ответная реакция лейкоцитов на внедрение бактерий и развитие воспалительной реакции в сосудистом русле вполне закономерны, что послужило поводом для проведенного анализа и расчета взаимоотношений различных видов лейкоцитов у сравниваемых групп больных. Как видно из таблицы 21, нормоцитоз чаще встречался при ИКБ (более 78 % при эритемной и безэритемной формах), чем при БМЗ (57 %);  $p < 0,05$ . У 30 % лиц с БМЗ отмечена лейкопения, в то время как при разных формах ИКБ она наблюдалась редко ( $p < 0,05$ ). Относительный и абсолютный нейтрофилез более характерен для БМЗ (встречается у 62,5 % пациентов,  $p < 0,01$ ). Закономерно этому, у данной группы больных чаще повышался лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) – показатель, указывающий на степень выраженности воспалительной реакции, экзогенной или эндогенной интоксикации.

Из данных таблицы 22 следует, что независимо от того, по какой формуле рассчитывался ЛИИ, его значения были повышены в 2 и более раза у большего количества больных БМЗ по сравнению с ИКБ ( $p < 0,01$ ). Высокий уровень напряженности лейкоцитарной защиты характеризует БМЗ, по-видимому, за счет спирохетемии в начальном периоде заболевания (возможно, возбудитель с более сильным антигенным раздражением). В отличие от БМЗ, при ИКБ, преимущественно локальной инфекции, возбудитель редко обнаруживается в крови, поэтому нейтрофилы (мобильные фагоциты), которые ищут в крови “нарушителей гомеостаза” [39], проявляют умеренную или низкую функциональную активность, поэтому отклонения ЛИИ при ИКБ менее значительны или отсутствуют.

Таблица 22 – Распределение больных сравниваемых групп с учетом изменений ЛИИ

Формы	1 группа ЭИКБ (n = 116), абс., %	2 группа БЭИКБ (n = 33), абс., %	3 группа БМ (n = 74), абс., %
ЛИИ по Кальф-Калифу:			
- норма (до 1,5 усл.ед.)	32 (27,5 %)	17 (51,5 %)	9 (12 %)*##
- повышен:			
в 1,1–1,9 раза	34 (29,3 %)	8 (24,25 %)	15 (20 %)
в 2 и более раза	8 (24,25 %)	50 (43,2 %)	50 (68 %)**##
ЛИИ по С. Ф. Химичу:			
- норма (до 2,2 усл.ед)	94 (81,0 %)	28 (84,8 %)	42 (56,7 %)**##
- повышен:			
в 1,1–1,9 раза	19 (16,4 %)	4 (12,2 %)	15 (20,3 %)
в 2 и более раза	3 (2,6 %)	1 (3,0 %)	17 (23 %)**##
ЛИИ по В. К. Островскому:			
- норма (до 2,2 усл. ед)	47 (40,5 %)	23 (69,6 %)	4 (5,4 %)**##
- повышен:			
в 1,1–1,9 раза	50 (43,1 %)	5 (15,2 %)	24 (32,4 %)
в 2 и более раза	19 (16,4 %)	5 (15,2 %)	46 (62,2 %)**##
Примечание: * – $p < 0,05$ ; ** – $p < 0,01$ ; достоверность различий в группах ЭИКБ и БМЗ. # – $p < 0,05$ ; ## – $p < 0,01$ ; достоверность различий в группах БЭИКБ и БМЗ. $\chi^2$ с поправкой Йейтса			

В таблице 23 представлено распределение больных сравниваемых групп в зависимости от изменений интегральных гематологических показателей.

Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) = эозинофилы + базофилы + нейтрофилы / моноциты + лимфоциты в норме равен  $1,96 \pm 0,4$ . Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) – маркер реактивности при остром воспалении. У 2/3 больных с БМЗ он оказался повышенным, причем у 1/3 – более чем в 2 раза, в то время как при ИКБ – только у 30 % и 20 % соответственно ( $p < 0,05$ ).

Таблица 23 – Распределение больных сравниваемых групп в зависимости от выраженности изменений интегральных гематологических показателей

Формы	1 группа ЭИКБ (n = 116), абс., %	2 группа БЭИКБ(n = 33), абс., %	3 группа БМ (n = 74), абс., %
Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК):			
- снижен	25 (21,5 %)	14 (42,4 %)	4 (5,4 %)**##
- в норме	55 (47,5 %)	12 (36,4 %)	18 (24,3 %)**
- повышен			
в 1,1–1,9 раза	31 (26,7 %)	3 (9,1 %)	25 (33,8 %) #
в 2 и более раза	5 (4,3 %)	4 (12,1 %)	27 (36,5 %)**##
Ядерный индекс степени эндотоксикоза по формуле Г. А. Даштоянца:			
- снижен или нормален	114 (98,3 %)	32 (96,9 %)	44 (59,5 %)**##
- повышен	2 (1,7 %)	1 (3,1 %)	30 (40,5 %)**##
Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ):			
- снижен	60 (51,8 %)	7 (21,1 %)	62 (80,5 %)**##
- в норме	19 (16,4 %)	30 (25,8 %)	4 (6,5 %)*
- повышен		20 (60,6%)	
в 1,1–1,9 раза	7 (6,0 %)	4 (12,2 %)	4 (6,5 %)**##
в 2 и более раза	4 (6,5 %)	2 (6,1 %)	
Индекс соотношение нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ):			
-снижен	35 (30,2 %)	19 (57,5 %)	4 (5,4 %)**##
-в норме	44 (37,9 %)	6 (18,2 %)	10 (13,5 %)**
-повышен			
в 1,1-1,9 раза	27 (23,3 %)	5 (15,2 %)	27 (36,5 %) #
в 2 и более раза	10 (8,6 %)	3 (9,1 %)	33 (44,6 %)**##
Примечание: * – $p < 0,05$ ; ** – $p < 0,01$ ; достоверность различий в группах ЭИКБ и БМЗ; # – $p < 0,05$ ; ## – $p < 0,01$ ; достоверность различий в группах БЭИКБ и БМЗ; $\chi^2$ с поправкой Йейтса.			

Ядерный индекс степени эндотоксикоза по формуле Г. А. Даштоянца [2]:  
$$\text{ЯИСЭ} = (\text{ММ} \% + \text{М} \% + \text{ПЯ} \% ) / \text{СЯ} \%$$
 Отсутствие острого эндотоксикоза: 0,05–0,08 усл. ед. Снижение менее 0,05 усл. ед. соответствует увеличению количества зрелых (сегментоядерных) нейтрофилов. Повышение выше 0,08 усл. ед. выявляет увеличение числа палочкоядерных нейтрофилов и косвенно указывает на повышение активности костного мозга (при сочетании с лейкоцитозом или нормоцитозом и нормальным или повышенным удельным весом сегментоядерных нейтрофилов) или на его депрессию – при сочетании с лейкопенией и снижением относительного количества сегментоядерных нейтрофилов («дегенеративный сдвиг»). Ядерный индекс степени эндотоксикоза (ЯИСЭ) оказался нормальным у подавляющего большинства больных ИКБ, что коррелировало с уровнем палочкоядерных нейтрофилов у данной группы больных ( $r = 0,64$ ). У 40 % пациентов с БМЗ он был повышен ( $p < 0,05$ ).

Кроме этого, необходимо отметить, что высокий индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ), демонстрирующий повышение роли неспецифической защиты иммунной системы (иммунологической реактивности), достоверно чаще встречался при БМЗ (у 81 % больных), в то время как при ЭИКБ только в 32 % случаев, при БЭИКБ – в 24,3 %. Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ) при БМЗ оказался сниженным.

Таким образом, БМЗ характеризует высокий ЛИИ, свидетельствующий о наличии интоксикации и высокий показатель ИСНЛ, демонстрирующий выраженную иммунологическую реактивность.

Повышение активности трансаминаз выявлялось у 52,9 % больных БМ чаще, чем у больных ЭИКБ. Повышение активности АЛТ и АСТ было слабо выраженным, средние показатели трансаминаз были выше по сравнению с группой ЭИКБ ( $p < 0,05$ ) и сопоставимы с группой БЭИКБ (см. таблицу 20). К выписке больных из стационара происходила нормализация данных показателей.

Таким образом, сравнительный анализ клинико-лабораторных данных при ИКБ и БМЗ показал, что существуют различия в частоте и выраженности признаков болезни. Для БМЗ не характерна мигрирующая эритема, в этом

проявляется сходство с безэритемной формой ИКБ. Лихорадка при БМЗ регистрируется в 2 раза чаще, чем при эритемной форме ИКБ, выше  $39^{\circ}\text{C}$  у 51 % против 8 % при ЭИКБ, двухволновая лихорадка отмечена у 14 % больных БМЗ и только у 2 % с ЭИКБ и 6 % с БЭИКБ; головная боль, артралгии, миалгии чаще беспокоят больных БМЗ ( $p < 0,05$ ). Средняя продолжительность лихорадки на 1 сутки больше при БМЗ, по сравнению с ЭИКБ. Для БМЗ, в отличие от ИКБ, характерно повышение относительного и абсолютного содержания сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов в крови, тромбоцитопения, высокий ЛИИ, свидетельствующий о наличии интоксикации и высокий показатель ИСНЛ, демонстрирующий выраженную иммунологическую реактивность.

### **7.3 Результаты сопоставления значений провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при иксодовых клещевых боррелиозах и заболевании, вызванном *B. miyamotoi***

Интерлейкин-6 является провоспалительным цитокином, обеспечивая пирогенный эффект, местный воспалительный синдром в случаях наличия локальной симптоматики. В остром периоде болезни его значения, по сравнению с контрольными, повышались в 2 раза при безэритемной форме ИКБ, составив  $8,8 \pm 1,5$  пг/мл (в контроле  $3,7 \pm 0,4$  пг/мл) ( $p < 0,05$ ). У лиц с эритемной формой данный показатель составил 4 нормы ( $18,1 \pm 3,9$  пг/мл;  $p < 0,01$ ), но самым высоким он оказался при БМ ( $26,5 \pm 4,9$  пг/мл;  $p < 0,001$ ), т. е. в 6 раз выше контрольных величин.

Уровень провоспалительного цитокина ИЛ-8 оказался высоким (3 нормы) как при эритемной форме ИКБ ( $24,3 \pm 3,1$  пг/мл), так и при БМЗ ( $29,6 \pm 3,4$  пг/мл); в контроле  $9,7 \pm 1,4$  пг/мл ( $p < 0,01$ ). У больных с безэритемной формой ИКБ также имелось умеренное повышение значений ИЛ-8 до  $19,9 \pm 2,4$  пг/мл по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), но оно было ниже, чем при БМЗ ( $p < 0,05$ ) (таблица 24).

Таблица 24 – Уровень интерлейкинов в крови в остром периоде иксодовых клещевых боррелиозов

Параметры	1 группа ЭИКБ (n = 24)	2 группа БЭИКБ (n = 18)	3 группа БМЗ (n = 28)	Контрольная группа (n = 14)
ИЛ-6 (0–5,9 пг\мл)	18,1 ± 3,9 <sup>**#</sup>	8,8 ± 1,5 <sup>*</sup>	26,5 ± 4,9 <sup>**@</sup>	3,7 ± 0,4
ИЛ-8 (0–10 пг\мл)	24,3 ± 3,1 <sup>**</sup>	19,9 ± 2,4 <sup>*</sup>	29,6 ± 3,4 <sup>**@</sup>	9,7 ± 1,4
ИЛ-10 (0–9,1 пг\мл)	14,2 ± 2,1 <sup>**\$\$</sup>	12,8 ± 2,0	33,0 ± 6,9 <sup>**@@</sup>	6,8 ± 0,9
Примечания: * – p < 0,05; ** – p < 0,01 достоверность различий в группах ИКБ, БМЗ по сравнению с контролем; # – p < 0,05 достоверность различий в группах ИКБ эритемной и безэритемной формами; @ – p < 0,05; @@ – p < 0,01 достоверность различий в группах БМЗ и безэритемной формой ИКБ; \$\$ – p < 0,01 достоверность различий в группах эритемной формы КБ и БМЗ				

В остром периоде заболевания максимальный уровень сывороточного ИЛ-10 установлен при БМЗ (33,0 ± 6,9) пг/мл; p < 0,01), в то время как при эритемной форме ИКБ отмечалось умеренное повышение продукции данного противовоспалительного цитокина (14,2 ± 2,1) пг/мл; по сравнению с контролем p < 0,05). У больных безэритемной формой ИКБ показатель (12,8 ± 2,0) пг/мл в 1,8 раза был выше контрольных значений (6,8 ± 0,9) пг/мл (p > 0,05). Гиперпродукция противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в дебюте заболевания при БМЗ указывает на формирование Th2 типа иммунного ответа при данной нозологической форме. Возможно, что реализация противовоспалительной активности в сосудистом русле с первых дней от начала болезни способствует быстрому разрешению лихорадки, интоксикационного синдрома, наблюдаемым при БМЗ. Высокий уровень ИЛ-10 отражает направленность данного цитокина на ограничение воспалительной реакции у пациентов с БМЗ.

Таким образом, система цитокинов реагировала при боррелиозной инфекции повышением уровня провоспалительного ИЛ-8 (хемокина), который максимально был высоким в остром периоде эритемой формы ИКБ, а также при БМЗ. Как известно, ИЛ-8 стимулирует выработку провоспалительного ИЛ-6 и угнетает продукцию противовоспалительного ИЛ-10. Это обеспечивает раннюю

местную воспалительную реакцию при эритемной форме ИКБ, формирование клеточного и гуморального иммунного ответа, приводящих к выздоровлению больных. Установлена высокая прямая корреляционная связь между содержанием ИЛ-8 при БМЗ и выраженностью лихорадочной реакции ( $r = 0,73$ ,  $p = 0,01$ ).

При безэритемной форме достоверного повышения уровня ИЛ-10 не отмечалось, при эритемной форме оно носило умеренный характер, по сравнению с таковым у больных БМЗ. Продукция ИЛ-10, определяющего, наряду с другими цитокинами, гуморальный иммунный ответ, при ИКБ играет определенную роль в развитии замедленной антителопродукции (формирования антител, начиная с 3–4 недели болезни). Гиперпродукция ИЛ-10 уже в остром периоде БМЗ, возможно, является прогностически благоприятным явлением, указывает на сбалансированность провоспалительных и противовоспалительных процессов при комбинированном Th1/Th2 иммунном ответе.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новосибирская область является природным очагом клещевых инфекций. Ежегодно с начала и до конца эпидемического сезона, который продолжается с апреля-мая и заканчивается в сентябре-октябре и связан с активацией клещей – переносчиков данных заболеваний, в инфекционный стационар поступает большое количество пациентов с присасыванием клеща в анамнезе и лихорадкой. При направлении больных в стационар им обычно выставляется диагноз: Клещевой энцефалит, лихорадочная форма. Возможности лабораторной диагностики ограничены только ИФА для выявления антител к антигенам вируса клещевого энцефалита и боррелий *burgdorferi s. l.* В случаях отрицательных результатов при обследовании данной категории больных им обычно выставляется диагноз острого респираторного заболевания. При этом лечащие врачи испытывают неудовлетворенность от такого результата обследования, понимая, что структура клещевых инфекций разнообразна, помимо вирусного энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза, включает разнообразные риккетсиозы, возвратную лихорадку, эрлихиоз, бабезиоз и другие инфекции, которые не могут быть подтверждены из-за отсутствия диагностических тест-систем.

Первая задача настоящего исследования – установить частоту встречаемости клещевых инфекций в Новосибирской области при помощи лабораторных методов у больных с присасыванием клеща в анамнезе и лихорадкой. В рамках данной задачи проведено клинико-лабораторное обследование 728 больных, которые поступили в ГИКБ № 1 Новосибирска по поводу заболеваний, развившихся после присасывания или напозания клеща. Лабораторное обследование включало ПЦР-диагностику, которая проводилась в ФГБУН Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН Новосибирска, а также серологическое обследование (ИФА), которое осуществлялось на базе ГИКБ № 1, а также в НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва).

В наших исследованиях верификация диагноза клещевой инфекции осуществлена у 375 (51,5 %) больных из 728 обследованных в связи с присасыванием/наползанием клеща в анамнезе и развитием заболевания. Были диагностированы следующие клещевые инфекции: у 149 пациентов (20,5 %) – иксодовый клещевой боррелиоз; у 74 (10,3 %) – заболевание, вызванное *B. miyamotoi*; у 93 (12,7 %) – клещевой энцефалит; у 42 (5,7 %) – сибирский клещевой тиф; у 16 (2,2 %) – другие клещевые риккетсиозы; в одном случае (0,13 %) диагностирована клещевая инфекция, вызванная вирусом Кемерово.

Второй задачей настоящего исследования явилась оценка доли заболевания, вызванного *B. miyamotoi*, в общей структуре клещевых инфекций на эндемичной территории Новосибирской области и генетической вариабельности данного возбудителя.

Для каждого региона России характерна своя структура клещевых инфекций. Так, для Алтайского края характерно преобладание клещевого сыпного тифа, по данным О. В. Бесхлебовой, он встречается в 65 % случаев, второе место занимает иксодовый клещевой боррелиоз (21,6 %), третье – клещевой энцефалит (1,8 %), в единичных случаях регистрируются редкие риккетсиозы и гранулоцитарный анаплазмоз [7].

При определении структуры клещевых инфекций в Новосибирской области установлено следующее распределение: на первом месте (39,7 %) иксодовый клещевой боррелиоз; на втором (24,8 %) – клещевой энцефалит; на третьем (19,7 %) – заболевание, вызванное *B. miyamotoi*; на четвертом (11,2 %) – сибирский клещевой тиф; 4,2 % приходится на другие клещевые риккетсиозы; в одном случае выявлена клещевая инфекция, вызванная вирусом Кемерово.

Таким образом, установлено, что клещевые боррелиозы на территории Новосибирской области являются преобладающими, составляют около 60 % и могут быть вызваны двумя видами боррелий – *Borrelia burgdorferi sensu lato* и *Borrelia miyamotoi*. При этом, с учетом сходства клинического течения безэритемной формы иксодовых клещевых боррелиозов и боррелиоза, *B. miyamotoi*, диагноз БМЗ подтвержден при использовании

молекулярно-генетических методов исследования (ПЦР с последующим типизирующим секвенированием полученных ампликонов боррелий). Проведенная оценка генетической variability *B. miyamotoi* показала соответствие азиатскому типу *B. miyamotoi*, ранее обнаруженному в клещах *I. persulcatus* на территории Новосибирской области, а также в других регионах России.

Третьей задачей наших исследований явилось изучение клинико-эпидемиологических особенностей острых иксодовых клещевых боррелиозов у взрослых на территории Новосибирской области.

Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) сохраняет свои основные черты, присущие данному заболеванию. Он протекает как в эритемной (77,8 %), так и в безэритемной формах (22,2 %). Клиника ИКБ возникала, преимущественно, у пожилых пациентов после присасывания или напоздания клеща во время работы на дачном участке, периода инкубации со средней длительностью 14 дней, характеризовалась непродолжительной лихорадкой и интоксикационным синдромом у 60 % больных эритемной формой и 75 % – безэритемной. При наличии эритемы ее диаметр в среднем составил  $(13,3 \pm 5,2)$  см (максимальный – 40 см), регионарный лимфаденит регистрировался редко (10 %). Столь низкий процент выявления лимфаденопатии при наличии эритемы, вероятнее всего, связан с недостаточной оценкой врачами размеров лимфоузлов.

При эритемной форме в большинстве случаев заболевание протекало в легкой – 69,4 %, в остальных случаях (30,6 %) – в среднетяжелой форме. При безэритемной форме среднетяжелая форма отмечена в 80,0 % – (включая 6 % больных с синдромом Баннварта), только у 2 (20,0 %) – легкая форма ИКБ.

Установлено повышение активности сывороточных трансаминаз: АЛТ – в 6 % и 10,3 % случаев (от 49 до 352 Ед/л) и АСТ у 25 % больных (от 44 до 159 Ед/л), которое было транзиторным. У всех обследованных отмечено благоприятное течение заболевания с полным выздоровлением после курса антибактериальной терапии.

ДНК *B. burgdorferi* s. l. в крови с помощью ПЦР-метода обнаружены у 2 (1,7 %) больных эритемной и 5 (15 %) – безэритемной формами ИКБ, что

доказывает редкое присутствие данного вида боррелий в крови больных ИКБ. Ни у одного из больных 1 и 2 групп методом ПЦР не выявлено ДНК *B. miyamotoi*.

Серологическая диагностика высокоинформативна при исследовании сыворотки не ранее 3-4 недели болезни, что подтверждает медленную антителопродукцию при ИКБ. У 60 человек (51,7 %) диагноз подтвержден выявлением антител класса IgM и/или IgG к боррелиям на 3-4 неделе болезни. Остальные пациенты были выписаны на 2 неделе болезни и не успели сформировать специфический иммунный ответ, поэтому диагноз у них был подтвержден клинико-эпидемиологически, что допускается российскими и зарубежными протоколами по диагностике и лечению ИКБ.

Четвертой задачей явилось определение клинико-эпидемиологической характеристики заболевания, вызванного *B. miyamotoi*.

Клиника БМЗ возникала преимущественно в июне-июле у пациентов средних лет после присасывания или напоздания клеща во время работы на дачном участке, периода инкубации со средней длительностью 14 дней (от 1 до 38 дней). Характерным проявлением инфекции, вызванной *B. miyamotoi*, была лихорадка, чаще высокая – выше 39 °С (51,7 %) или умеренная (34,7 %), длительностью от 1 до 10 дней. Средняя продолжительность лихорадки составила  $2,7 \pm 0,3$  суток. Двухволновая температурная кривая отмечена у 14 % больных, второй подъем температуры был кратковременным (не более 2 суток). Другими неспецифическими проявлениями БМЗ были слабость (100 %), головная боль (85 %), миалгии (32 %), артралгии (14 %), синдром менингизма (13,5 %), нормоцитоз (61,2 %), нейтрофилез (62,5 %), палочкоядерный сдвиг влево (45 %), тромбоцитопения (66,7 %), слабовыраженное повышение трансаминаз (52,9 %).

Пятой задачей явилось определение информативности ПЦР-диагностики и метода иммуночипов при заболевании, вызванном *B. miyamotoi*.

Преимущества настоящего исследования заключались в том, что серологический профиль боррелиоза *miyamotoi* изучался в ПЦР-доказанной когорте, в динамике заболевания с продолжительными наблюдениями.

Проведено исследование методом иммуночипов 59 сывороток от

26 заболевших после укуса/наползания клеща с определением динамики формирования IgM и IgG к GpQ (антигену, специфичному для боррелий группы возвратных лихорадок), Vlp и Vmp (большим и малым поверхностным иммуногенным белкам, используемым как диагностические маркеры БМЗ). Клинические признаки БМЗ подтверждались положительной ПЦР (обнаружением ДНК боррелий *miyamotoi*) у 18 человек. Сыворотки взяты в первые дни болезни при поступлении больных в стационар, далее в динамике во время лечения и в последующие 2-3 месяца от начала болезни. Полученные результаты серологического обследования позволили разделить больных на несколько подгрупп.

1 подгруппа – 14 больных с подтвержденным диагнозом боррелиоза *miyamotoi*, из них 13 были ПЦР-положительными, у одного с отсутствием ДНК боррелий *miyamotoi* в крови на 17 день от начала болезни отмечена сероконверсия с появлением IgM к GpQ и Vsp1 и IgG к Vsp1. Только у одного больного не было продукции антител при подтвержденном методом ПЦР диагнозе БМЗ. В инфектологии известен факт, когда выздоровление идет без наработки антител, что обычно отмечается у больных, которым рано назначается антибактериальная терапия. Благодаря последней резко снижается продукция иммуногенных антигенов в организме. У остальных больных 1 подгруппы формирование антител отмечалось по классическому варианту. У части больных IgM появлялись с первых дней болезни, а если отсутствовали в ранние сроки, то сероконверсия происходила в динамике, причем выявлялся комплекс антител к разным иммуногенным белкам – GpQ и Vsp1, Vlp 5, 15, 18, что повышает чувствительность данного метода обследования. Антитела класса IgG отсутствовали в ранние сроки болезни и появлялись в динамике, начиная с 12 дня от начала болезни.

Полученные результаты серологической диагностики боррелиоза *miyamotoi*, во-первых, подтверждают высокую информативность метода ПЦР крови в лихорадочном периоде заболевания при данной нозологической форме. Во-вторых, следует отметить высокий диагностический потенциал метода

иммуночипов с определением IgM и IgG к GpQ, а также Vsp1, Vlp5, 15, 18, что наводит на мысль о пользе их определения. Из 14 пациентов, у которых для исследования были доступны 2-3 сыворотки в разных временных вариантах, за исключением одного, не ответившего продукцией антител, все остальные ответили появлением IgM и IgG как на GpQ, так и на какой-нибудь Vmp, или на несколько больших и малых поверхностных белков одновременно.

Вторую подгруппу составили 5 пациентов с микст-инфекцией: сочетание боррелиоза *miyamotoi* с риккетсиозами, вызванными *R. raoultii* (в 1 случае), *R. slovaca* (в 2 случаях), с клещевым энцефалитом, лихорадочной формой (в 2 случаях). Необходимо подчеркнуть, что без серологического мониторинга в одном случае боррелиоз *miyamotoi* остался бы нераспознанным. В другом случае *B. miyamotoi* присутствовала в крови, что наряду с лихорадкой, интоксикацией подтверждало БМЗ, но IgM и IgG к белкам боррелий не сформировались. Выявление IgM к вирусу клещевого энцефалита в титре 1/800 позволило верифицировать микст-инфекцию (лихорадочную форму клещевого энцефалита и боррелиоз *miyamotoi*).

Проведенная комплексная диагностика БМЗ методами ПЦР и иммуночипов показала, что из 26 обследованных пациентов с укусом клеща и лихорадкой в анамнезе у 5 (19,2 %) оказалась микст-инфекция: боррелиоз *miyamotoi* с риккетсиозом, либо клещевым энцефалитом, т. е. она регистрируется почти у каждого пятого пациента, но не является учтенной в виду неполной диагностики. Наши данные согласуются с данными G. Margos [90], Lee [116], которые при ИКБ в крови часто выявляли и БМ. P. J. Krause et al. в США [96], K. Sato [137] в Японии, А. Е. Platonov и соавт. в России [139] описали клинику микст-инфекции ИКБ + БМЗ с наличием классической эритемы и продолжительной лихорадкой 5 и 7 суток. Эти новые результаты должны побудить медицинское сообщество к осознанию того, что случаи сохранения синдромов после присасывания клещей вызваны микст-патогенами. Выявление ко-инфекций требует нового подхода в диагностике и лечении, если не фактического изменения парадигмы. С. Perronne [161] образно назвал данную ситуацию: «Диагностические подводные камни в

повседневной практике», когда тестируется один возбудитель, а болезнь протекает не в классической форме. Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) обычно легко поддается лечению, но, когда имеется неспецифическая плеоморфная клиническая картина, она “сбивает с толку” врачей [147; 175].

В третьей подгруппе больных, обследованных методом иммуночипов, состоящей из 2 больных после укуса клеща при развитии лихорадки и отрицательном ПЦР-результате, происходила сероконверсия только на один белок IgG Vsp1, а не на комплекс белков, как у других обследованных. Данный результат мы посчитали сомнительным, не найдя в доступной литературе соответствующих объяснений. Новосибирск является третьей территорией в России наряду с Ижевском и Екатеринбургом, на которой методом иммуночипов проведено обследование больных для подтверждения БМЗ [170].

Отсутствие у всех 5 больных 4 подгруппы в крови ДНК *B. miyamotoi*, IgM и наличие IgGGpQ, а также Vsp1, Vlp15, 18 без динамики их появления свидетельствует о паст-инфекции, т. е. перенесенном в прошлом боррелиозе *miyamotoi*. До сих пор в доступной литературе единичными являются исследования, касающиеся длительности сохранения антител к иммуногенным белкам боррелий *miyamotoi*. По данным J. Koetsveld et al. [170], которые провели продолжительные (до года) наблюдения за продукцией и сохранением антител после присасывания клеща, инфицирующего человека боррелиями *miyamotoi*, пик антител класса IgG наблюдается через 21–50 дней от начала болезни. Через год они снижаются, но сохраняются – у одних пациентов к GpQ, у других к Vmp8.

Таким образом, при одновременном исследовании крови больных боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi*, методами ПЦР с выявлением ДНК *B. miyamotoi* в крови и иммуночипов с определением IgM и IgGк GpQ, а также Vsp1, Vlp5, 15, 18 в динамике болезни эффективность обоих методов в виде совпадения положительных результатов ПЦР и метода иммуночипов составила 89,4 %. Высокая прямая корреляционная связь между результатами указанных методов ( $r = 0,84$ ) подтверждает значимость предложенных методик в схеме диагностики заболевания. Метод иммуночипов высокоинформативен в выявлении

микст- и паст-инфекции.

Использование в диагностических алгоритмах определения комбинаций антител позволит своевременно выявлять БМЗ, может быть основой для эпидемиологических исследований, правильно определять терапевтическую тактику (выбор антибактериального препарата).

Шестой задачей настоящего исследования явилось представление сравнительной характеристики клинико-эпидемиологических и лабораторных проявлений иксодовых клещевых боррелиозов и заболевания, вызванного *B. miyamotoi*.

Сравнительный анализ клинико-лабораторных данных при ИКБ и БМЗ показал, что существуют различия в частоте и выраженности признаков болезни. Для БМЗ не характерна мигрирующая эритема, в этом проявляется сходство с безэритемной формой ИКБ. Лихорадка при БМЗ регистрируется в 2 раза чаще, чем при эритемной форме ИКБ, выше  $39^{\circ}\text{C}$  у 51 % против 8 % при ЭИКБ, двухволновая лихорадка отмечена у 14 % больных БМЗ и только у 2 % с ЭИКБ и 6 % с БЭИКБ; головная боль, артралгии, миалгии чаще беспокоят больных БМЗ ( $p < 0,05$ ). Средняя продолжительность лихорадки на 1 сутки больше при БМЗ, по сравнению с ЭИКБ. Для БМЗ, в отличие от ИКБ, характерно повышение относительного и абсолютного содержания сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов в крови, тромбоцитопения, высокий ЛИИ, свидетельствующий о наличии интоксикации и высокий показатель ИСНЛ, демонстрирующий выраженную иммунологическую реактивность.

Седьмой задачей исследования явилось изучение роли провоспалительных (ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов при эритемной, безэритемной формах иксодовых клещевых боррелиозов и заболевании, вызванном *B. miyamotoi*.

Система цитокинов реагировала при боррелиозной инфекции повышением уровня провоспалительного ИЛ-8 (хемокина), который максимально был высоким при БМЗ. Как известно, ИЛ-8 стимулирует выработку провоспалительного ИЛ-6 и угнетает продукцию противовоспалительного ИЛ-10. Это обеспечивает раннюю

местную воспалительную реакцию при эритемной форме ИКБ, формирование клеточного и гуморального иммунного ответа, приводящих к выздоровлению больных. ИЛ-6, ИЛ-8 повышают проницаемость сосудов, способствуя распространению возбудителя. Избыток провоспалительных цитокинов из очага воспаления попадает в кровь, обеспечивая общеинфекционный синдром. Ю. П. Васильевой установлено, что уровень ИЛ-6 и ИЛ-8 в остром периоде всех форм ИКБ повышался [24]. По данным Н. С. Миноранской и П. В. Сарап [42], при эритемной форме ИКБ отмечался средний уровень продукции ИЛ-8, при безэритемной форме он был усилен. По данным Г. Ф. Железниковой и соавт. [50], наоборот, наименьший уровень продукции ИЛ-8 отмечался при безэритемной форме ИКБ. По нашим результатам, наиболее высокое содержание ИЛ-6 и ИЛ-8 выявлено при БМЗ, что способствовало выраженной лихорадочной реакции и интоксикационному синдрому (т. е. обеспечивало общую воспалительную реакцию). Установлена высокая прямая корреляционная связь между содержанием ИЛ-8 при БМЗ и выраженностью лихорадочной реакции ( $r = 0,73$ ,  $p = 0,01$ ).

Противовоспалительный ИЛ-10 участвует в усилении гуморального иммунного ответа, продуцируется не только макрофагами и моноцитами, но и Т-хелперами 2 типа, В-лимфоцитами; свои эффекты осуществляет на антиген-презентирующие клетки и лимфоциты, обеспечивая антителопродукцию. С другой стороны, ИЛ-10 защищает эндотелий сосудов от повреждающего действия факторов агрессии бактерий и их антигенов, так и эндогенной усилительной системы макроорганизма. По данным А. В. Гордеев и А. А. Черниковой, уровень ИЛ-10 в остром периоде ИКБ мало отличался от показателей у здоровых лиц [14]. Л. Д. Шарифуллина и соавт. [75] установили повышенный уровень ИЛ-10 по отношению к контролю. В нашем исследовании при безэритемной форме достоверного повышения уровня ИЛ-10 не отмечалось, при эритемной форме оно носило умеренный характер, по сравнению с таковым у больных БМЗ. Известно, что для ИКБ характерно медленное антителообразование за счет низкой иммуногенности боррелий. Недостаточная продукция ИЛ-10,

определяющего, наряду с другими цитокинами, гуморальный иммунный ответ, вероятно, играет определенную роль в развитии замедленной антителопродукции (формирования антител, начиная с 3-4 недели болезни). Установленная нами гиперпродукция ИЛ-10 уже в остром периоде БМЗ, возможно, является прогностически благоприятным явлением, указывает на сбалансированность провоспалительных и противовоспалительных процессов при комбинированном Th1/Th2 иммунном ответе.

В заключении необходимо указать, что после проведенного нами исследования с 2018 года администрацией ГБУЗ НСО Городской инфекционной клинической больницы № 1 приобретены тест-системы для ПЦР-диагностики заболевания, вызванного *B. miyamotoi*, в результате чего невыявляемая ранее клещевая инфекция стала регистрироваться в Новосибирске. Появление возможности диагностики данной нозологической формы послужит дальнейшим исследованиям по изучению вопросов эпидемиологии, патогенеза, частоты микст-форм с другими клещевыми инфекциями, клиники, исходов заболевания, рациональной антибактериальной терапии и профилактики.

## ВЫВОДЫ

1. Из числа 728 взрослых пациентов, жителей Новосибирской области, госпитализированных с заболеванием, возникшим после присасывания клеща в анамнезе в эпидсезонах 2015–2017 гг., у 375 (51,5 %) верифицированы клещевые инфекции: у 20,5 % – иксодовый клещевой боррелиоз; у 10,3 % – заболевание, вызванное *Borrelia miyamotoi*; у 12,7 % – клещевой энцефалит; у 5,7 % – сибирский клещевой тиф; у 2,2 % – другие клещевые риккетсиозы; в одном случае (0,13 %) диагностирована клещевая инфекция, вызванная вирусом Кемерово.

2. В структуре выявленных клещевых инфекций в Новосибирской области на первом месте (40 %) – иксодовый клещевой боррелиоз; на втором (25 %) – клещевой энцефалит; на третьем (20 %) – заболевание, вызванное *Borrelia miyamotoi*; на четвертом (11 %) – сибирский клещевой тиф; 4 % приходится на другие клещевые риккетсиозы. Оценка генетической variability *Borrelia miyamotoi* показала соответствие азиатскому типу, ранее обнаруженному в клещах *I. persulcatus* на территории Новосибирской области, а также в других регионах России.

3. Иксодовый клещевой боррелиоз сохранил основные черты, присущие данному заболеванию: протекал в эритемной (77,8 %) и безэритемной формах (22,2 %), преимущественно у пожилых после присасывания клеща, периода инкубации длительностью ( $14 \pm 4,5$ ) дней, характеризовался непродолжительной лихорадкой и интоксикационным синдромом у 60 % больных эритемной формой и 75 % – безэритемной. При наличии эритемы ее диаметр в среднем составил ( $13,3 \pm 5,2$ ) см (максимальный – 40 см).

4. Характерными проявлениями заболевания, вызванного *B. miyamotoi*, были лихорадка, чаще высокая или умеренная (86 %), двухволновая (14 %), головная боль (85 %), миалгии (32 %), артралгии (14 %), нормоцитоз (61,2 %), нейтрофилез (62,5 %), палочкоядерный сдвиг (45 %), тромбоцитопения (66,7 %), повышение трансаминаз (52,9 %). Диагноз верифицирован обнаружением ДНК боррелий в крови методом ПЦР в лихорадочном периоде.

5. При одновременном исследовании крови больных боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi*, методами ПЦР с выявлением ДНК в крови и иммуночипов с определением IgM и IgG к GpQ, а также Vsp1, Vlp5, 15, 18 во время болезни и через 1–3 месяца совпадение положительных результатов ПЦР и метода иммуночипов составило 89,4 %. Наличие корреляционной связи между результатами указанных методов ( $r = 0,84$ ,  $p = 0,001$ ) подтверждает их значимость в алгоритме диагностики заболевания. Метод иммуночипов информативен в выявлении паст-инфекции *B. miyamotoi* и микст-инфекции с другими клещевыми инфекциями.

6. Выявлены различия в частоте и выраженности признаков болезни у больных с заболеванием, вызванным *B. miyamotoi*, и иксодовым клещевым боррелиозом: для боррелиоза *miyamotoi* не характерна мигрирующая эритема; лихорадка регистрируется в 2 раза чаще, высокая у половины больных ( $p < 0,01$ ), чаще двухволновая ( $p < 0,05$ ); средняя длительность лихорадки на 1 сутки больше ( $p < 0,05$ ). Головная боль, артралгии, миалгии более характерны для боррелиоза *miyamotoi*, как и нейтрофилез, тромбоцитопения, высокий лейкоцитарный индекс интоксикации и индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов ( $p < 0,01$ ).

7. У больных с заболеванием, вызванным боррелиями *miyamotoi*, в начальном периоде выявлены изменения в цитокиновом профиле: повышение уровней ИЛ-6, ИЛ-8 в сыворотке крови сочеталось со значительной продукцией ИЛ-10, что указывает на уравновешенность воспалительных и противовоспалительных процессов при комбинированном Th1/Th2 иммунном ответе. Установлена высокая прямая корреляционная связь между содержанием ИЛ-8 при боррелиозе *miyamotoi* и выраженностью лихорадочной реакции ( $r = 0,73$ ,  $p = 0,01$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При поступлении в стационар больных, проживающих в природном очаге клещевых инфекций, с заболеванием, возникшим после присасывания клеща, сопровождающимся лихорадкой, интоксикационным синдромом, и/или нейтрофилезом, тромбоцитопенией, в алгоритм дифференциально-диагностического поиска следует включать заболевание, вызванное *B. miyamotoi*.

2. Неспецифичность симптомов заболевания, вызванного *B. miyamotoi*, является основанием для включения в комплекс методик обследования пациентов с лихорадкой после присасывания клеща проведение ПЦР для выявления ДНК *B. miyamotoi* в образцах крови, наряду с традиционными методами лабораторной диагностики иксодового клещевого боррелиоза (выявлением специфических IgM методом ИФА), а также клещевого энцефалита (выявлением специфических IgM и IgG методом ИФА).

3. Дополнительное использование метода иммуночипов с определением IgM и IgGк GpQ, а также Vsp1, Vlp5, 15, 18 *B. miyamotoi* необходимо при затруднениях в диагностике клещевых инфекций для верификации заболевания, вызванного *B. miyamotoi*, а также для выявления клещевых микст-инфекций.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АБТ	– антибактериальная терапия
АлАТ, АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АсАТ, АСТ	– аспартатаминотрансфераза
Б	– базофилы
БМ	– <i>borrelia miyamotoi</i>
БМЗ	– боррелиозы, вызванные <i>b. miyamotoi</i>
БЭИКБ	– безэритемная форма иксодового клещевого боррелиоза
ВКЭ	– вирус клещевого энцефалита
ГАЧ	– гранулоцитарный анаплазмоз человека
ГБУЗ НСО	государственное бюджетное учреждение здравоохранения
ГИКБ № 1	– Новосибирской области Городская инфекционная клиническая больница № 1
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИБ	– иммунный блоттинг
ИКБ	– иксодовый клещевой боррелиоз
ИКБ-БМ	– иксодовый клещевой боррелиоз, вызываемый <i>B. miyamotoi</i>
ИЛ	– интерлейкин
ИЛГ	– лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс
ИСЛК	– индекс сдвига лейкоцитов крови
ИСЛМ	– индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов
ИСНЛ	– индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов
ИСНМ	– индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИФН	– интерферон
ИХБФМ	– Институт химической биологии и фундаментальной медицины
СО РАН	– СО РАН, Новосибирск
КР	– клещевой риккетсиоз
КС	– коэффициент серопозитивности

КФК	– креатининфософиназа
КФК-МВ	– креатининфософиназа-МВ
КЭ	– клещевой энцефалит
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
ЛИИ	– лейкоцитарный индекс интоксикации
ЛФ	– лимфоциты
М	– миелоциты
Мо	– моноциты
МЭ	– мигрирующая эритема
МЭЧ	– моноцитарный эрлихиоз человека
НСО	– Новосибирская область
ОАК	– общий анализ крови
ОКИ	– острая кишечная инфекция
ОРЗ	– острое респираторное заболевание
ОТ-ПЦР	– полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
ПЯ	– палочкоядерные лейкоциты
РНГА	– реакция непрямой гемагглютинации
РНИФ	– реакция непрямой иммунофлюоресценции
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РОН	– реактивный ответ нейтрофилов
рРНК	– рибосомные рибонуклеиновые кислоты
СКТ	– сибирский клещевой тиф
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ФБУН ЦНИИЭ	– ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва
ФНО	– фактор некроза опухоли
ЦНИИ	– Центральный научно-исследовательский институт
ЦНС	– центральная нервная система
ЧСС	– частота сердечных сокращений

ЭИКБ	– эритемная форма иксодового клещевого боррелиоза
Эо	– эозинофилы
Ю	– юные лейкоциты
ЯИСЭ	– ядерный индекс степени эндотоксикоза
EUCALB	– Европейский союз согласованных действий при Лайм-Боррелиозе
IgM, G	– иммуноглобулины M, G
СМУ	– среднемноголетний уровень заболеваемости
TIBOLA	– tick-bornelymphadenopathy

Примечание: В связи с отсутствием устоявшейся терминологии, термины «заболевание, вызванное *Borrelia miyamotoi*», «боррелиоз *miyamotoi*» и сокращенную форму «БМЗ» в тексте необходимо рассматривать как синонимы.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аитов, К. Природно-очаговые трансмиссивные клещевые инфекции Прибайкалья: автореф. дис.... д-ра мед. наук / Аитов Курбандурды. – Иркутск, 2005. – 46 с.
2. Актуальные вопросы клинической иммунологии / под ред. Г. А. Даштоянца. – М. : ЦОЛИ УВ, 1974. – 80 с.
3. Ананьева, Л. П. Лайм-боррелиоз, или иксодовые клещевые боррелиозы. Ч. 1: этиология, клиника, диагностика / Л. П. Ананьева // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002. – Т. 4 (№ 2). – С. 42–45.
4. Андропова, Н. В. Специфический иммунный ответ и некоторые отдаленные результаты при остром течении иксодового клещевого боррелиоза и микст-инфекции клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза / Н. В. Андропова, Н. С. Миноранская, Е. И. Миноранская // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 54–57.
5. Арумова, Е. А. Клещевой боррелиоз (болезнь Лайма) в России / Е. А. Арумова, Т. В. Воронцова // Дезинфекционное дело. – 2000. – № 2. – С. 5–7.
6. Бактериальные болезни: учебное пособие / под ред. Н. Д.. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 976 с.
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. – 1017. – Т. 8. – № 4. – С. 50–55.
8. Бондаренко, А. Л. Сравнительная характеристика эритемных и безэритемных форм иксодовых клещевых риккетсиозов / А. Л. Бондаренко, С. В. Аббасова // Инфекционные болезни. – 2005. – Т. 3. – С. 12–16.
9. Боррелиозные возвратные лихорадки / Е. В. Гордынина [и др.] // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2014. – № 4. – 27–33.
10. Воробьева, Н. Н. Клиника, лечение и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов / Н. Н. Воробьева; под ред. Э. И. Коренберга. – Пермь :

Урал-Пресс, 1998. – 136 с.

11. Воробьева, Н. Н. Стандарты диагностики и лечения больных клещевым энцефалитом и иксодовыми клещевыми боррелиозами / Н. Н. Воробьева, И. А. Главатских, Т. К. Рысинская // Росс. мед. журнал. – 2009. – № 4. – С. 23–26.

12. Выявление *Borrelia miyamotoi* в клещах *Ixodespersulcatus* на территории России / Н. В. Фоменко [и др.]. // Паразитология. – 2010. – 44 (3). – 201–211.

13. Выявление антител к gipq антигену *borrelia miyamotoi* в сыворотках крови больных в Поволжье / Л. С. Карань [и др.] // Молекулярная диагностика : материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – М., 2014. – С. 506–507.

14. Гордеец, А. В. Клинико-иммунологические аспекты клещевого энцефалита, иксодового клещевого боррелиоза / А. В. Гордеец, А. А. Черникова // Детские инфекции. – 2009. – № 4. – С. 15–18.

15. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году»: Государственный доклад. – М. : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018. – 268 с.

16. Дифференциальный подход к выявлению боррелий в клещах и клинических образцах с помощью ПЦР-анализа в режиме реального времени с использованием наборов серии «РЕАЛ-БЕСТ» / Е. И. Бондаренко [и др.] // Молекулярная диагностика. – 2014. – Т. 1. – Раздел 15. Природно-очаговые инфекции. – С. 503–504.

17. Доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения и защиты прав потребителей в Республике Алтай в 2016 году». – Горно-Алтайск, 2017. – 251 с.

18. Железникова, Г. Ф. Типы иммунного ответа при острых инфекционных заболеваниях / Г. Ф. Железникова // Журн.микробиол. – 2003. – № 5. – С. 117–120.

19. Иксодовые клещевые боррелиозы (клиника, диагностика, лечение) 2-е издание дополненное и переизданное / В. Н. Козько [и др.]. – Харьков : Изд-во ХГМУ, 2005. – 99 с.

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

21. Интерлейкин-1 и интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса / С. Н. Серебренникова [и др.] // Сибирский мед. журнал. – 2012. – № 8. – С. 5–7.

22. Инфекционные болезни: национальное руководство / Под ред. Н. Д. Ющука, Ю. Я. Венгерова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1056 с.

23. Исследование зараженности боррелиями таежных клещей на территории Новосибирского научного центра СО РАН / В. Ю. Боргояков [и др.]. // Паразитология. – 2010. – Т. 44, № 6. – С. 543–556.

24. К патогенезу клещевого боррелиоза у детей / Ю. П. Васильева [и др.] // Детские инфекции. – 2003. – №3. – С. 26–30.

25. Кальф-Калиф, Я. Я. О лейкоцитарном индексе интоксикации и его практическом значении / Я. Я. Кальф-Калиф // Врачебное дело. – 1941. – № 1. – С. 31–35.

26. Клинико-рентгенологическая характеристика поражения легких при боррелиозе *miyamotoi* / Д. С. Сарксян [и др.] // Клинический альманах. – 2012. – № 2. – С. 42–47.

27. Клинико-эпидемиологическая характеристика клещевого боррелиоза в Красноярском крае / Н. С. Миноранская [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2005. – Т. 34, № 1. – С. 27–30.

28. Клинические особенности «нового клещевого боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi* / Д. С. Сарксян [и др.] // Терапевтический архив. – 2012. – № 11. – С. 34–41.

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

30. Конькова-Рейдман, А. Б. Сочетанная инфекция иксодового клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита на Южном Урале / А. Б. Конькова-Рейдман, В. И. Злобин. – Челябинск, 2016. – 316 с.

31. 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.

32. Коренберг, Э. И. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в лесной зоне, и стратегия их профилактики: изменение приоритетов / Э. И. Коренберг // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2013. – № 5 (72). – С. 7–17.

33. Коренберг, Э. И. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами / Э. И. Коренберг, В. Г. Полякова, Н. С. Осин; Пособие под ред. академика РАМН А. Л. Гинцбурга и академика РАМТ В. Н. Злобина. – М : 2013. – 464 с.

34. Куимова, И. В. Клинические особенности иксодовых клещевых боррелиозов у детей / И. В. Куимова, О. А. Радионова, Е. И. Краснова // Лечащий врач. – 2014. – № 3. – С. 65–69.

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

36. 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.

37. 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.

38. Манзенюк, И. Н. Клещевые боррелиозы (болезнь Лайма). Пособие для врачей / И. Н. Манзенюк, О. Ю. Манзенюк. – Кольцово, 2005. – 85 с.

39. Маянский, Д. Н. Лекции по клинической патологии: руководство для врачей / Д. Н. Маянский, И. Г. Урсов. – Новосибирск, 1997. – 249 с.

40. Микробиологическое подтверждение этиологии иксодового клещевого боррелиоза в безэритемной форме – инфекции, вызванной *Borrelia miyamotoi* / А. Е. Платонов [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – № 1

(92). – С. 29–35.

41. Миноранская, И. С. Дерматологические проявления клещевого боррелиоза в Красноярском крае / И. С. Миноранская, Т. Г. Рукша // Росс. журн. кожных и венерических болезней. – 2014. – № 1. — С. 32–36.

42. Миноранская, И. С. Особенности продукции цитокинов как патогенетическая основа развития клинических форм иксодовых клещевых боррелиозов / И. С. Миноранская, П. В. Сарап // Цитокины и воспаление. – 2013. – Т. 12, № 4. – С. 56–62.

43. Мошкова, Д. Ю. Клинико-иммунологические особенности воспалительного процесса при клещевом боррелиозе / Д. Ю. Мошкова, М. Г. Авдеева // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2016. – № 21 (2). – С. 86–92.

44. Мустафина, Ж. Г. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности у больных с офтальмопатологией / Ж. Г. Мустафина // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 5. – С. 47–48.

45. Набор реагентов для выявления *Borrelia miyamotoi* – возбудителя клещевой возвратной лихорадки методом ПЦР в режиме реального времени / Е. И. Бондаренко [и др.] // Новости “Вектор-Бест”. Информационный бюллетень. – 2013. – № 1 (67). – С. 2–8.

46. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: Государственный доклад. – М. : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. – 220 с.

47. 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.

48. 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

49. Островский, В. К. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке степени тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойно-деструктивных заболеваниях / В. К. Островский // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 6. – С. 50–53.

50. Патогенетические аспекты иксодового клещевого боррелиоза у детей / Г. Ф. Железникова [и др.] // Педиатр. – 2012. – Т. 3, № 2.- С. 75–86.

51. Первые случаи заболевания, вызванного *Borrelia miyamotoi*, на дальнем востоке России / Г. Н. Леонова [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2017. – № 3. – С. 57–64.

52. Платонов, А. Е. Применение ме-30. тода «дерева решений» для построения алгоритма дифференциальной диагностики природно-очаговых инфекций / А. Е. Платонов, Д. С. Сарксян, В. В. Малеев // Терапевтический архив. – 2013. – 85 (11). – С. 21–26.

53. Покровский, В. И. Эволюция инфекционных болезней России в XX веке / В. И. Покровский, Г. Г. Онищенко, Б. Л. Черкасский. – М. : Медицина, 2003. – 664 с.

54. Последствия перенесенного клещевого боррелиоза: мифы и реальность с позиций доказательной медицины / Н. В. Соловей [и др.] // Инфекционные болезни. – 2013. – Т. 11, № 2. – С. 55–63.

55. Применение ПЦР в режиме реального времени для диагностики различных клещевых инфекций / Л. С. Карань [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2010. – № 3. – С. 72–77.

56. Рецидивирующее (возвратное) течение заболевания, вызванного *Borrelia miyamotoi* / Д. С. Сарксян [и др.] // Тер. Арх. – 2015. – Т. 87, № 11. – С. 18–25.

57. Сарксян, Д. С. Дифференциальная диагностика иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* / Д. С. Сарксян, В. В. Малеев, А. Е. Платонов // Инфекционные болезни. – 2012. – Т. 10 (4). – С. 41–44.

58. Сарксян, Д. С. Иксодовые клещевые боррелиозы: современное

состояние проблемы / Д. С. Сарксян // Инфекционные болезни. – 2015. – 13 (2). С. 61–67.

59. Симакова, А. И. Особенности иммунного ответа у больных эритемной формой иксодовых клещевых боррелиозов / А. И. Симакова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – № 4 (42). – С. 22–26.

60. Скрипченко, Н. В. Клинико-лабораторные особенности иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, у детей / Н. В. Скрипченко, А. А. Балинова // Журнал инфектологии. – 2010. – Том 2, № 2 – С. 35–39.

61. Скрипченко, Н. В. Современные представления о патогенезе иксодовых клещевых боррелиозов / Н. В. Скрипченко, А. А. Балинова // Журнал инфектологии. – 2012. – 4 (2). – С. 5–14.

62. Случай затяжного течения иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* / Д. С. Сарксян [и др.] // Инфекционные болезни. – 2013. – Т. 11, № 4. – С. 88–90.

63. Состояние системы свертывания крови и микроциркуляторные нарушения при иксодовом клещевом боррелиозе, вызванном *Borrelia miyamotoi* / Д. С. Сарксян [и др.] // Тер. Арх. – 2015. – № 11. – С. 26–32.

64. Специфическая диагностика иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* / Е. В. Гордынина [и др.] // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2015. – № 2. – С. 28–31.

65. Справочник по лабораторным методам исследования / под ред. Л. А. Даниловой. – СПб. : Питер, 2003. – 726 с.

66. Стир, А. С. Лайм-артрит: поражения суставов при Лайм-боррелиозе в США / А. С. Стир // Терапевт. Арх. – 1995. – Т. 67. – С. 43–45.

67. Таксономическая позиция и генетическое разнообразие вида боррелий *Borrelia miyamotoi* – возбудителя «нового» иксодового клещевого боррелиоза. В кн: Покровский В.И., ред. / А. Е. Платонов [и др.] // Молекулярная диагностика. – 2010. – Т. 2. – М. : ООО «Рекламное Агентство «ЭйВиДжи», 2010. – С. 250–256.

68. Тарбеев, А. К. Клинико-эпидемиологические особенности лайм-боррелиоза в Иркутской области и оценка эффективности его лабораторной

диагностики : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Тарбеев Анатолий Кириллович. – Иркутск, 2004. – 18 с.

69. Фоменко, Н. В. Генетические особенности ДНК боррелий вида *Borrelia miyamotoi*, выявляемых в таежных клещах/ Н. В. Фоменко, В. Ю. Боргояков, В. В. Панов // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2011. – № 2. – С. 12–17

70. Хабиров, Т. Ш. Уровень реактивного ответа нейтрофилов как показатель степени тяжести эндогенной интоксикации при абдоминальном сепсисе / Т. Ш. Хабиров // Сепсис – патогенез, диагностика и терапия : тез. докл. науч.-практ. конф. – Луганск, 2002. – С. 223.

71. Характеристика природных очагов иксодовых клещевых боррелиозов Новосибирского научного центра и Новосибирской области / Н. Н. Ливанова [и др.] // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2012. – Т. 111, № 4. – С. 20–23.

72. Циркуляция *Borrelia miyamotoi* в природных очагах Прибайкалья / И. В. Войцеховская [и др.] // Известия Иркутского государственного университета. Серия : Биология. Экология. – 2014. – № 8. – С. 56–65.

73. Чеканова, Т. А. 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.

74. Черникова, А. А. Иммунотерапия иксодового клещевого боррелиоза у детей / А. А. Черникова, А. В. Гордеец, С. Н. Бениова // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62. – № 3. – С. 121–124.

75. Шарифуллина, Л. Д. Значение иммуноцитоклиновых нарушений в патогенезе иксодовых клещевых боррелиозов / Л. Д. Шарифуллина, Р. Г. Мурзабаева // Медицинский вестник Башкортостана. – 2017. – Т. 12. – № 1 (67). – С. 99–104.

76. Шарифуллина, Л. Д. Иммунологические особенности воспалительного процесса в остром периоде иксодовых клещевых боррелиозов / Л. Д. Шарифуллина, Р. Г. Мурзабаева, Е. М. Гареев // Медицинский вестник

Башкортостана. – 2017. – Т. 12, № 5. – С. 69–74.

77. Щербатов, А. Ф. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2017 году» / А. Ф. Щербатов. – С. 186–200.

78. Эпидемиологическая и клинико-иммунологическая характеристика иксодовых клещевых боррелиозов и микст-форм клещевых инфекций на Южном Урале / А. Б. Конькова-Рейдман [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2009. – Т. 47, № 4. – С. 13–21.

79. Ярилин, А. А. Иммунология: учебник / А. А. Ярилин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.

80. Blood-meal analysis for the identification of reservoir hosts of tick-borne pathogens in Ireland / B. Pichon [et al.] // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2005. – N 5. – P. 172–180

81. Current Guidelines, Common Clinical Pitfalls, and Future Directions for Laboratory Diagnosis of Lyme Disease, United States / A. Moor [et al.] // Emerging Infectious Diseases. – 2016. – Vol. 22, N 7. – 1169–1177.

82. A case of meningoencephalitis by the relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* in Europe / J. W. Hovius [et al.] // Lancet. – 2013. – Vol. 382 (9892). – P. 658.

83. A critical appraisal of “chronic Lyme disease” / H. M. Feder Jr [et al.] // N. Engl J. Med. – 2007. – Vol. 357. – P. 1422–1430.

84. Antiscience and ethical concerns associated with advocacy of Lyme disease / P. G. Auwaerter [et al.] // Lancet Infect. Dis. – 2011. – N 11. – P. 713–719.

85. Associations of passerine birds, rabbits, and ticks with *Borrelia miyamotoi* and *Borrelia andersonii* in Michigan, U.S.A. / S. A. Hamer [et al.] // Parasites & Vectors. – 2012. – V. 5. – P. 231.

86. Barbour A.G. Multiple and diverse vsp and vlp sequences in *Borrelia miyamotoi*, a hard tick-borne zoonotic pathogen / A. G. Barbour // PLoS One. – 2016. – N 11. – P. e0146283.

87. Barbour, A. G. Biology of *Borrelia species* / A. G. Barbour, S. F. Hayes //

Microbiol. Rev. – 1986. – Vol. 50 (4). – P. 381–400.

88. 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.

89. *Borrelia miyamotoi* presenting as human granulocytic anaplasmosis. A casereport / H. R. Chowdri [et al.] // Ann Intern Med. – 2013. – V. 159 (1). – P. 21–27.

90. *Borrelia kurtenbachii* sp. nov.: a widely distributed member of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* species complex in North America / G. Margos [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. – 2014. – V. 64. – P. 128–130.

91. *Borrelia miyamotoi* disease (BMD): Neither Lyme disease nor relapsing fever / S. Telford [et al.] // Clin Lab Med. – 2015. – V. 35 (4). – P. 867–882.

92. *Borrelia miyamotoi* disease in an immunocompetent patient, Western Europe / D. Hoornstra [et al.] // Emerging Infectious Disease. – 2018. – V. 24. – № 9. – P. 1770–1772.

93. *Borrelia miyamotoi* disease in the Northeastern United States: a case series / P. J. Molloy [et al.] // Ann. InternMed. – 2015. – Vol. 163 (2). – P. 91–96.

94. *Borrelia miyamotoi* in vectors and hosts in The Netherlands / A. Wagemakers [et al.] // Ticks Tick Borne Dis. – 2017. – V. 8. – P. 370–374.

95. *Borrelia miyamotoi* infection in nature and in humans / P. J. Krause [et al.] // Clin Microbiol Infect. – 2015. – Vol. 21 (7). – P. 631–639.

96. *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.

97. *Borrelia miyamotoi*: a widespread tick-borne relapsing fever spirochete / A. Wagemakers [et al.] // Trends Parasitol. – 2015. – V. 31 (6). – P. 260–269.

98. *Borrelia miyamotoi*-associated neuroborreliosis in immunocompromised person / K. Boden [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2016. – V. 22. – P. 1617–1620.

99. Branda, J. A. *Borrelia miyamotoi*: a lesson in disease discovery / J. A. Branda, E. S. Rosenberg // Ann. Intern. Med. – 2013. – V. 159. – P. 61–62.

100. Brorson, O. *In vitro* conversion of *Borrelia burgdorferi* to cystic forms in

spinal fluid, and transformation to mobile spirochetes by incubation in BSK-H medium / O. Brorson and S. H. Brorson // *Infection*. – 1998. – V. 26. – P. 144–150.

101. Bunikis, J. Laboratory testing for suspected Lyme disease / J. Bunikis, A. G. Barbour // *Med Clin N Am*. – 2002. – Vol. 86. – P. 311–339.

102. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Media Relations. CDC Provides Estimate of Americans Diagnosed with Lyme Disease Each Year.-2013.- Available online at: [www.cdc.gov/media/releases/2013/p0819-lyme-disease.html](http://www.cdc.gov/media/releases/2013/p0819-lyme-disease.html) (Accessed March 24, 2014).

103. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. National notifiable Diseases Surveillance System. Lyme disease – *Borrelia burgdorferi* – 2011 Case Definition. Available online at: [wwwn.cdc.gov/NNDSS/script/casedef.aspx](http://wwwn.cdc.gov/NNDSS/script/casedef.aspx) (Accessed March 24, 2014).

104. 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.

105. 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.

106. Clark, K. L. Lyme borreliosis in human patients in Florida and Georgia, USA / K. L. Clark, B. Leydet, S. Hartman // *Int. J. Med. Sci*. – 2013. – V. 10. – P. 915–931.

107. Comstock, L. E. Characterization of *Borrelia burgdorferi* invasion of cultured endothelial cells / L. E. Comstock, D. D. Thomas // *Microb. Pathol*. – 1999. – Vol. 10. – N 2. – P. 137–148.

108. 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.

109. Cutler, S. Emerging borreliae – expanding beyond Lyme borreliosis / S. Cutler, E. Ruzic-Sabljić, A. Rotkonjak // *Molecular and Cellular Probes*. – 2016. –

doi: 10.1016/j.mcp.2016.08.003.

110. Dessau, R. B. Laboratory diagnosis of infection caused by *Borrelia burgdorferi* / R. B. Dessau, J. M. Bangsberg, T. P. Jensen // *Ugeskr. Laeger.* – 2006. – Vol. 168 (34). – P. 2805–2817.

111. Dessau, R. B. To test or not to test? Laboratory support for the diagnosis of Lyme borreliosis / R. B. Dessau, A. P. van Dam, V. Fingerle // *ClinMicrobiol Infect.* – 2017. – pii: S1198-743X(17)30488-3. – doi: 10.1016/j.cmi.2017.08.025.

112. Detection and genetic characterization of a wide range of infectious agents in *Ixodes pavlovskyi* ticks in Western Siberia, Russia / V. Rar [et al.] // *Parasites&Vectors.* – 2017. – N 10. – P. 258

113. Detection and genetic characterization of relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in Estonian ticks / J. Geller [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7 (12). – P. e51914.

114. Detection of a *Borrelia miyamotoi* sensu lato relapsing-fever group spirochete from *Ixodes pacificus* in California / J. Mun [et al.] // *J Med Entomol.* – 2006. – N 43. – P. 120–123.

115. Detection of *Borrelia miyamotoi* in whole blood and cerebral spinal fluid (CSF) specimens in New York State (NYS) utilizing a multiplex real-time PCR approach / D. Wroblewski [et al.] // In: 14th International Conference on Lyme Borreliosis and other Tick-Borne Diseases; 2015.

116. Detection of borreliae in archived sera from patients with clinically suspect Lyme disease / S. H. Lee [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – V. 15. – P. 4284– Lee S.H. 4298.

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

118. Diagnosis of Lyme Borreliosis / M. E. Aguero–Rosenfeld [et al.] // *ClinMicrobiol Rev.* – 2005. – Vol. 18, N 3. – P. 484–509.

119. 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.

120. 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.

121. Dressler, F. Antibody responses to the three genome groups of *Borrelia burgdorferi* in European Lyme borreliosis / F. Dressler, R. Askermann, A. C. Steere // J. Infect Dis. – 1994. – Vol. 169 (2). – P. 313-8.

122. EUCALB. European Concerted Action on Lyme Borreliosis, Diagnosis: Serology: Minimum Standards. (1997). Available online at: [www.eucalb.com](http://www.eucalb.com) (Accessed March 24, 2014).

123. Evaluation of a new microarray for detection of *Borrelia burgdorferi* specific antibodies in human serum samples / V. Fingerle [et al.] // International Symposium on tick-borne pathogens and diseases ITPD. – Vienna, Austria, 2017. – P. 96.

124. Evidence-based guidelines for the management of Lyme disease / D. Cameron [et al.] // Expert Rev. Anti Infect. Ther. – 2004. – Vol. 2. – S1–S13.

125. Franke, J. Exploring gaps in our knowledge on Lyme borreliosis spirochaetes – Updates on complex heterogeneity, ecology, and pathogenicity / J. Franke, A. Hildebrandt, W. Dorn // Ticks and Tick-borne Diseases. – 2013. – N 4. – P. 11–25.

126. Fukunaga, M. The flagellin gene of *Borrelia miyamotoi* sp. nov. and its phylogenetic relationship among *Borrelia* species / M. Fukunaga, Y. Koreki // FEMS Microbiol. Lett. – 1995. – Vol. 134 (2–3). – P. 255–258.

127. Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia miyamotoi* sp. nov., isolated from the ixodid tick *Ixodes persulcatus*, the vector for Lyme disease in Japan / M. Fukunaga // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1995. – Vol. 45 (4). – P. 804–810.

128. Genetic characterization of the human relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in vectors and animal reservoirs of Lyme disease spirochetes in France / J. F. Cosson [et al.] // Parasit. Vectors. – 2014. – N 7. – P. 233.

129. Genetic variability of *Rickettsia* spp. In *Ixodes persulcatus* tick from

continental and island areas of the Russian Far East / Y. Ygolkina [et al.] // Tick Borne Dis. – 2016. – N 7. – P. 1284–1289

130. Guerrier, G. Comparison of antibiotic regimens for treating louse-borne relapsing fever: a meta-analysis / G. Guerrier, T. Doherty // TransRoyalSocietyTropMedHygiene. – 2011. – Vol. 105. – P. 483–490.

131. Halperin, J. Chronic Lyme disease: misconceptions and challenges for patient management / J. Halperin // Infect. Drug. Resist. – 2015. – Vol. 15 (8). – P. 119–28.

132. High serop-revalence of *Borrelia miyamotoi* antibodies in forestry workers and individuals suspected of human granulocytic anaplasmosis in the Netherlands / S. Jahfari [et al.] // New Microbes New Infect. – 2014. – Vol. 2 (5). – P. 144–149.

133. High-prevalence *Borrelia miyamotoi* infection among wild Turkeys (*Meleagrisgallopavo*) in Tennessee/ M. C. Scott [et al.] // J. Med. Entomol. – 2010. – V. 47. – P. 1238–1242.

134. High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe / L. Michelet [et al.] // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2014. – N 4. – P. 103.

135. 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.

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

137. Human infections with *Borrelia miyamotoi*, Japan / K. Sato [et al.] // Emerg Infect Dis. – 2014. – N 20. – P. 1391–1393.

138. Human infections with *Rickettsia raoultii*, China / N. Jia [et al.] // Emerg Infect Dis. – 2014. – N 20. – P. 866–868.

139. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi*, Russia / A. E. Platonov [et al.] // Emerg Infect Dis. – 2011. – Vol. 17 (10). – P. 1816–1823.

140. Immune evasion of *Borrelia miyamotoi*: CbiA, a novel outer surface protein exhibiting complement binding and inactivating properties / F. Röttgerding

[et al.] // Sci. Rep. – 2017. – V. 7. – P. 303.

141. Kiewra, D. *Ixodes ricinus* ticks (*Acari, Ixodidae*) as a vector of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Borrelia miyamotoi* in Lower Silesia, Poland – preliminary study / D. Kiewra, J. Stańczak, M. Richter // Ticks Tick Borne Dis. – 2014. – Vol. 5 (6). – P. 892–7.

142. Krause, P. J. *Borrelia miyamotoi*: The newest infection brought to us by deer tick / P. J. Krause, A. G. Barbour // Ann. Intern. Med. – 2015. – V. 163. – P. 141–142.

143. 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.

144. Lantos, P. M., Chronic Lyme disease: the controversies and the science. / P. M. Lantos // Expert Rev Anti Infect. Ther. – 2011. – N 9. – P. 787–797.

145. 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.

146. Long-term in vitro cultivation of *Borrelia miyamotoi* / G. Margos [et al.] // Ticks Tick Borne Dis. – 2015. – V. 6 – P. 181–184.

147. Lyme borreliosis / G. Stanek [et al.] // Lancet. – 2012. – V. 379. – P. 461–473.

148. Meningoencephalitis from *Borrelia miyamotoi* in an Immunocompromised Patient / J. L. Gugliotta [et al.] // Engl J Med 2013. – Vol. 368 – P. 240–245

149. 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.

150. Molecular identification of a collection of spotted group rickettsiae obtained from patients and ticks from Russia / S. Shpynov [et al.] // Am J Trop Med Hyg. – 2006. – Vol. 743. – P. 440–443

151. Molecular identification of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes ricinus* from Portugal / M. Nunes [et al.] // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2015. – Vol. 15 (8). –

P. 515–517.

152. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications / G. Wang [et al.] // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1999. – V. 12 (4). – P. 633–653.

153. Mukhacheva, T. A. Multilocus sequence analysis of *Borrelia burgdorferi* s. l. in Russia / T. A. Mukhacheva, S. Y. Kovalev // *Ticks Tick Borne Dis.* – 2013. – Vol. 4 (4). – P. 275–279.

154. Multiple tick-associated bacteria in *Ixodes ricinus* from Slovakia / G. Subramanian [et al.] // *Ticks Tick Borne Dis.* – 2012. – Vol. 3 (5–6). – P. 406–10.

155. Murgia, R. Induction of cystic forms by different stress conditions in *Borrelia burgdorferi* / R. Murgia, M. Cinco // *APMIS.* – 2004. – V. 112. – P. 57–62.

156. New Rickettsiae in ticks collected in territories of the former soviet union / E. Rydkina [et al.] // *Emerg Infect Dis.* – 1999 – N 5. – P. 811–814.

157. Next generation sequencing uncovers unexpected bacterial pathogens in ticks in western Europe / M. Vayssier-Taussat [et al.] // *Plos one.* – 2013. – V. 8 (11). – P. e81439.

158. Niche partitioning of *Borrelia burgdorferi* and *Borrelia miyamotoi* in the same tick vector and mammalian reservoir species / A. G. Barbour [et al.] // *Am J Trop Med Hyg.* – 2009. – Vol. 81 (6). – P. 1120–31.

159. Pathogens in ticks collected from dogs in Berlin / C. Schreiber [et al.] // Brandenburg, Germany. *Parasit. Vectors.* – 2014. – N 7. – P. 535.

160. Peltomaa, M. Persistence of antibody response to the VlsE sixth invariant region (IR6) peptide of *Borrelia burgdorferi* after successful antibiotic treatment of Lyme disease / M. Peltomaa, G. A. McHugh, C. Steere // *J. Infect. Dis.* – 2003. – Vol. 187. – P. 1178–1186.

161. Perronne, C. Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat / C. Perronne // *Cellular and Infect. Microbiol.* – 2014. – V. 4, N 74. – P. 1–6.

162. Prevalence and diversity of *Borrelia species* in ticks that have bitten humans in Sweden / P. Wilhelmsson [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2010. – Vol. 48 (11).

– P. 4169–76.

163. Prevalence of *Borrelia miyamotoi* in *Ixodes ticks* in Europe and the United States / C. D. Crowder [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 20 (10). – P. 1678–82.

164. Probability of spirochete *Borrelia miyamotoi* transmission from ticks to humans / D. S. Sarkisyan [et al.] // *Emerg Infect Dis.* – 2015. – Vol. 21 (12). – P. 2273–2274.

165. 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.

166. Relapsing fevers: neglected tick-borne diseases / E. Talagrand-Reboul [et al.] // *Cellular and Infect. Microbiol.* – 2018. – V. 8. – Article 98. Doi :10.3389/fcimb.2018.00098

167. 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, N 6. – P. 1018–1029.

168. Schwan, T. G. GlpQ an antigen for serological discrimination between relapsing fever and Lyme borreliosis / T. G. Schwan // *J. Clin. Microbiol.* – 1996. – V. 34. – P. 2483–2492.

169. Schwarzova, K. Attachment of *Borrelia burgdorferi* to Vero cell / K. Schwarzova, I. Ciznar // *International Symposium on tick-borne pathogens and diseases ITPD Vienna, Austria, 2017.* – P. 102.

170. Serodiagnosis of *Borrelia miyamotoi* disease by measuring antibodies against GpQ and variable major proteins / J. Koetsveld [et al.] // *Clinical Microbiol. and Infection.* – 2018. – <http://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.03.009>.

171. Shapiro, E. D. Lyme Disease / E. D. Shapiro // *N. Engl. J. Med.* – 2014. – Vol. 370. – P. 1724–1731.

172. Sinski, E. *Borrelia miyamotoi*: A human tick-borne relapsing fever spirochete in Europe and its potential impact on public health / E. Sinski, R. Welc-Faleciak, J. Zajkowska // *Advances in Medical Sciences.* – 2016. – V. 61. –

P. 255–260.

173. 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.

174. Steere, A. C. The emergence of Lyme disease / A. C. Steere, J. Coburn, L. Glickstein // Journ. Clin. Invest. – 2004. – V. 113. – P. 1093–1101.

175. Stricker, R. B. Lyme disease: call for a “Manhattan Project” to combat the epidemic / R. B. Stricker, L. Johnson // PLoS Pathog. – 2014. – N 10. – P. e1003796. doi: 10.1371/journal.ppat.100379.

176. Strle, F. Clinical manifestations of Lyme borreliosis / F. Strle, G. Stanek // Curr. Probl. Dermatol. – 2009. – N 37. – P. 51–110.

177. The genospecies *B. burgdorferi s. l.*, isolated from ticks and from neurological patients with suspected Lyme borreliosis / S. Bazovska [et al.] // Neuroendocrinology letters. – 2011. – Vol. 32. – ISSN: 0172-780X.

178. The relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* is cultivable in a modified Kelly-Pettenkofer medium, and is resistant to human complement / A. Wagemakers [et al.] // Parasit. Vectors. – 2014. – V. 7. – P. 418.

179. The relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* resists complement-mediated killing by human serum / A. Teegler [et al.] // Ticks Tick Borne Dis. – 2014. – V. 5. – P. 898–901.

180. Three multiplex assays for detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Borrelia miyamotoi sensu lato* in field-collected *Ixodes* nymphs in North America / A. J. Ullmann [et al.] // J Med Entomol. – 2005. – N 42. – P. 1057–62.

181. Tick surveillance for relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* in Hokkaido, Japan / A. Takano [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 39 (8). – P. e104532.

182. Tick-borne pathogens in ticks collected from breeding and migratory birds in Switzerland / E. Lommano // Ticks Tick Borne Dis. – 2014. – V. 5. – P. 871–882.

183. Tick-borne relapsing fever in the northwestern United States and southwestern Canada / M. S. Dworkin [et al.] // Clin Infect Dis. – 1998. – Vol. 26. – P. 122–131.

184. Tijssen-Klasen, E. Tick-borne pathogen – reversed and conventional

discovery of disease / E. Tjisse-Klasen, M. Koopmans, H. Sprong // *Frontiers in Public Health*. – 2014. – V. 2. – Article 73 /4Doi: 10.3389/fpubh.2014.00073

185. 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.

186. Variable major proteins as targets for specific antibodies against *Borrelia miyamotoi* / A. Wagemakers [et al.] // *J.Immunol.* – 2016. – V. 196. – P. 4185–4195.

187. 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. Таблица 1 – Выбор препарата, режим дозирования и длительность курса АБТ при различных формах ИКБ (по рекомендации EUCALB, 2014) . . . . . С. 37
2. Таблица 2 – Праймеры, используемые для выявления ДНК боррелий . . . . . С. 51
3. Таблица 3 – Формы заболевания у больных иксодовым клещевым боррелиозом в 2015–2017 гг. . . . . С. 59
4. Таблица 4 – Распределение больных ИКБ по социальному признаку . . . . . С. 67
5. Таблица 5 – Распределение больных ИКБ с учетом особенностей лихорадочного синдрома . . . . . С. 69
6. Таблица 6 – Частота встречаемости и продолжительность клинических симптомов у больных иксодовым клещевым боррелиозом . . . . . С. 70
7. Таблица 7 – Лабораторные показатели общего анализа крови у больных ИКБ: средние показатели ( $M \pm m$ ) . . . . . С. 72
8. Таблица 8 – Лабораторные показатели у больных иксодовым клещевым боррелиозом . . . . . С. 73
9. Таблица 9 – Критерии степени тяжести у больных иксодовым клещевым боррелиозом . . . . . С. 73
10. Таблица 10 – Сроки инкубационного периода у больных БМЗ . С. 77
11. Таблица 11 – Сроки поступления больных БМЗ в стационар от момента начала заболевания . . . . . С. 78
12. Таблица 12 – Частота симптомов у больных БМЗ (%) . . . . . С. 81
13. Таблица 13 – Лабораторные показатели у больных БМЗ при поступлении . . . . . С. 83
14. Таблица 14 – Распределение больных боррелиозом *miyamotoi* с учетом результатов обследования методами ПЦР и иммуночипов в динамике ( $n = 14$ ) . . . . . С. 87

15. Таблица 15 – Распределение больных микст-инфекцией (сочетание боррелиоза *miyamotoi* с риккетсиозами, либо клещевым энцефалитом) с учетом результатов обследования методами ПЦР и ИФА в динамике (n = 5) . . . . . С 89
16. Таблица 16 – Распределение больных с сероконверсией по IgG к боррелиям *miyamotoi* с учетом результатов обследования методами ПЦР и ИФА в динамике (n = 2) . . . . . С. 90
17. Таблица 17 – Распределение больных с наличием антител класса IgG к боррелиям *miyamotoi* без сероконверсии с учетом результатов обследования методами ПЦР и ИФА в динамике (n = 5) . . . . . С. 91
18. Таблица 18 – Клинические показатели у больных ЭИКБ и БМЗ: частота симптомов (%) . . . . . С. 94
19. Таблица 19 – Клинические показатели у больных БЭИКБ и БМЗ: частота симптомов (%) . . . . . С. 95
20. Таблица 20 – Лабораторные показатели у больных ИКБ и БМЗ: средние показатели ( $M \pm m$ ) . . . . . С. 97
21. Таблица 21 – Частота изменений лейкоцитарной формулы у больных БМЗ и ИКБ . . . . . С. 98
22. Таблица 22 – Распределение больных сравниваемых групп с учетом изменений ЛИИ . . . . . С. 100
23. Таблица 23 – Распределение больных сравниваемых групп в зависимости от выраженности изменений интегральных гематологических показателей . . . . . С. 101
24. Таблица 24 – Уровень интерлейкинов в крови в остром периоде при КБ . . . . . 104
25. Рисунок 1 – Дизайн исследования . . . . . С. 45
26. Рисунок 2 – Дендрограммы, построенные на основании последовательностей фрагмента гена *р66* длиной 514 п. н. (А) и *glpQ* длиной 359 п. н. (Б) с использованием метода ML . . . . . С. 52
27. Рисунок 3 – Динамика заболеваемости иксодовыми

- клещевыми боррелиозами и клещевым энцефалитом (случаев на 100 тыс. населения) в 2007–2016 гг. в России по данным Роспотребнадзора . . . . . С. 56
28. Рисунок 4 – Показатели заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами (случаев на 100 тыс. населения) в регионах России в 2016 году по данным Роспотребнадзора . . . С. 56
29. Рисунок 5 – Показатели заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом в НСО в сравнении с показателями по РФ (с 2010 по 2017 гг.) . . . . . С. 57
30. Рисунок 6 – Годовая динамика заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом в НСО в 2017 г. . . . . С. 58
31. Рисунок 7 – Частота встречаемости клещевых инфекций у госпитализированных лиц с заболеваниями, возникшими после укуса клещей в 2015–2017 гг. . . . . С. 61
32. Рисунок 8 – Структура заболеваемости клещевыми инфекциями среди госпитализированных лиц в Новосибирской области в 2015–2017 гг. . . . . С. 62
33. Рисунок 9 – Распределение больных с ЭИКБ по возрасту . . . . . С. 66
34. Рисунок 10 – Распределение больных с БЭИКБ по возрасту . . . С. 66
35. Рисунок 11 – Распределение госпитализированных больных с ИКБ по месяцам года за 2015–2017 гг. (по оси ординат – количество заболевших) . . . . . С. 67
36. Рисунок 12 – Распределение больных с БМЗ по возрасту . . . . . С. 77
37. Рисунок 13 – Распределение госпитализации больных с КБ, вызванным *Borrelia miyamotoi*, по месяцам года в период 2015–2017 гг. (по оси ординат – количество больных) . . . . . С. 79
38. Рисунок 14 – Распределение больных клещевым боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi*, с учетом длительности лихорадочного периода (р %) . . . . . С. 81