

На правах рукописи

Савельева Мария Викторовна

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

14.01.09 – инфекционные болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2019

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

Научный руководитель

доктор медицинских наук, профессор **Краснова Елена Игоревна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Аитов Курбандурды**

(Иркутский государственный медицинский университет, профессор кафедры инфекционных болезней)

доктор медицинских наук, доцент **Миноранская Наталья Сергеевна**

(Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом постдипломного образования)

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Федеральной службы по надзору в сфере прав защиты потребителей и благополучия человека

Защита состоится «_____»_____2019 г. в ____ : ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.01 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091 г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел. 8 (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091 г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел. 8 (383) 229-10-83); <http://ngmu.ru/dissertation/448>)

Автореферат разослан «___»_____2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

И. В. Куимова

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 [Оберт А. С., 2001; Коренберг Э. И., 2013; Конькова Рейдман А. Б. и Злобин В.И., 2016]. 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) [Щербатов А. Ф., 2017]. 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* (БМ), обнаруженный в клещах *Ixodes persulcatus* генетически принадлежащий к группе боррелий – возбудителей возвратных лихорадок, способен вызывать заболевания у людей [Fukunaga M., 1995; Платонов А. Е. и соавт., 2010; Talagband-Reboul E. et al. 2018]. В некоторых регионах России у 58 % больных безэритемной формой боррелиоза методом ПЦР в крови выявлялась ДНК БМ [Гордынина Е. В. и

соавт., 2014]. Изучение клинических проявлений заболевания, вызванного *B. miyamotoi* (БМЗ), показало, что оно протекало в безэритемной форме, с выраженной интоксикацией, что затрудняло дифференциальный диагноз с клещевым энцефалитом (КЭ) [Platonov A. E. и соавт., 2011].

Степень разработанности темы диссертации. Случаев БМЗ в России описано мало, преимущественно в Европейской части и на Урале [Бондаренко Е. И. и соавт., 2014; Сарксян Д. С., 2015]. Неизвестен вклад БМ 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 ИКБ 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 *B. miyamotoi* в крови взрослых больных, госпитализированных в связи с развитием заболевания после присасывания клеща в эпидсезонах 2015–2017 годов, и показано, что *B. miyamotoi* вносят существенный вклад в этиологию клещевых инфекций. Установлено, что заболевание, вызываемое *B. miyamotoi*, занимает 3 место в структуре клещевых инфекций после иксодового клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита. Оценка генетической вариабельности *B. miyamotoi* показала соответствие азиатскому типу *B. miyamotoi*, ранее обнаруженному в клещах *I. persulcatus* на территории Новосибирской области, а также в других регионах России.

Помимо «новой» боррелии, впервые в Российской Федерации исследована встречаемость новых риккетсий – *R. raoultii*, *R. slovaca*, *R. 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 *B. 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 *B. 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 *B. 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 *B. miyamotoi*, впервые изучены интегральные гематологические показатели и уровни интерлейкинов-6, 8 и 10 в сыворотке крови. Установлено, что для заболевания, вызванного *B. 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 ИКБ, приводит к неопределенности и возможным ошибкам при постановке диагноза в том случае, если в действительности заболевание вызвано БМ. Выявление нового возбудителя в крови у госпитализированных больных расширило спектр природно-очаговых трансмиссивных инфекций, регистрируемых в НСО. Представленная клинико-эпидемиологическая характеристика БМЗ и возможности лабораторной диагностики помогут дифференцировать данное заболевание от других клещевых инфекций. Верификация диагноза БМЗ позволит впервые регистрировать данную

малоизученную нозологическую форму у жителей НСО, 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, 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 ($r = 0,84$) 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. 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» (НГМУ) Минздрава (МЗ) РФ (протокол № 31, от 27.12.2018 г. Новосибирск).

Диссертация выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО НГМУ МЗ РФ 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 МЗ РФ, 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.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базах ФГБОУ ВО НГМУ МЗ РФ и ГБУЗ НСО ГИКБ № 1. Обследовано 728 пациентов в возрасте от 18 до 87 лет, поступивших в ГИКБ № 1 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» и проводилось после получения информированного согласия на участие в исследовании в соответствии с правилами «О порядке проведения биомедицинских исследований у человека» (2002 г.) и «Правилами клинической практики» (Приказ МЗ РФ № 266 от 19.06.03). В качестве контрольной группы для определения уровня цитокинов в крови участвовали 14 здоровых человек (6 мужчин и 8 женщин в возрасте 44,8 лет $\pm$ 3,3 лет), не болевших ранее клещевыми инфекциями, не подвергавшихся укусам клещей и имевших отрицательные результаты ИФА на маркеры ИКБ.

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; аутоиммунных заболеваний; других острых, либо хронических инфекционных заболеваний, имеющих непрерывно-прогрессирующее течение (ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Лабораторное обследование больных проведено с помощью молекулярно-генетических и серологических методов исследования. Использовали коммерческие диагностические системы на основе метода ПЦР в реальном времени для выявления в крови и ликворе возбудителей КЭ (вируса КЭ), ИКБ (*Borellia burgdorferi sensu lato*), СКТ (*R. sibirica*), а также лабораторные наборы для ПЦР-диагностики БМЗ (*B. miyamotoi*), клещевых риккетсиозов (*R. raoultii*, *R. slovaca*, *R. aeschilmanii*), вируса Кемерово, с

последующим секвенированием полученных ампликонов с целью видовой дифференцировки.

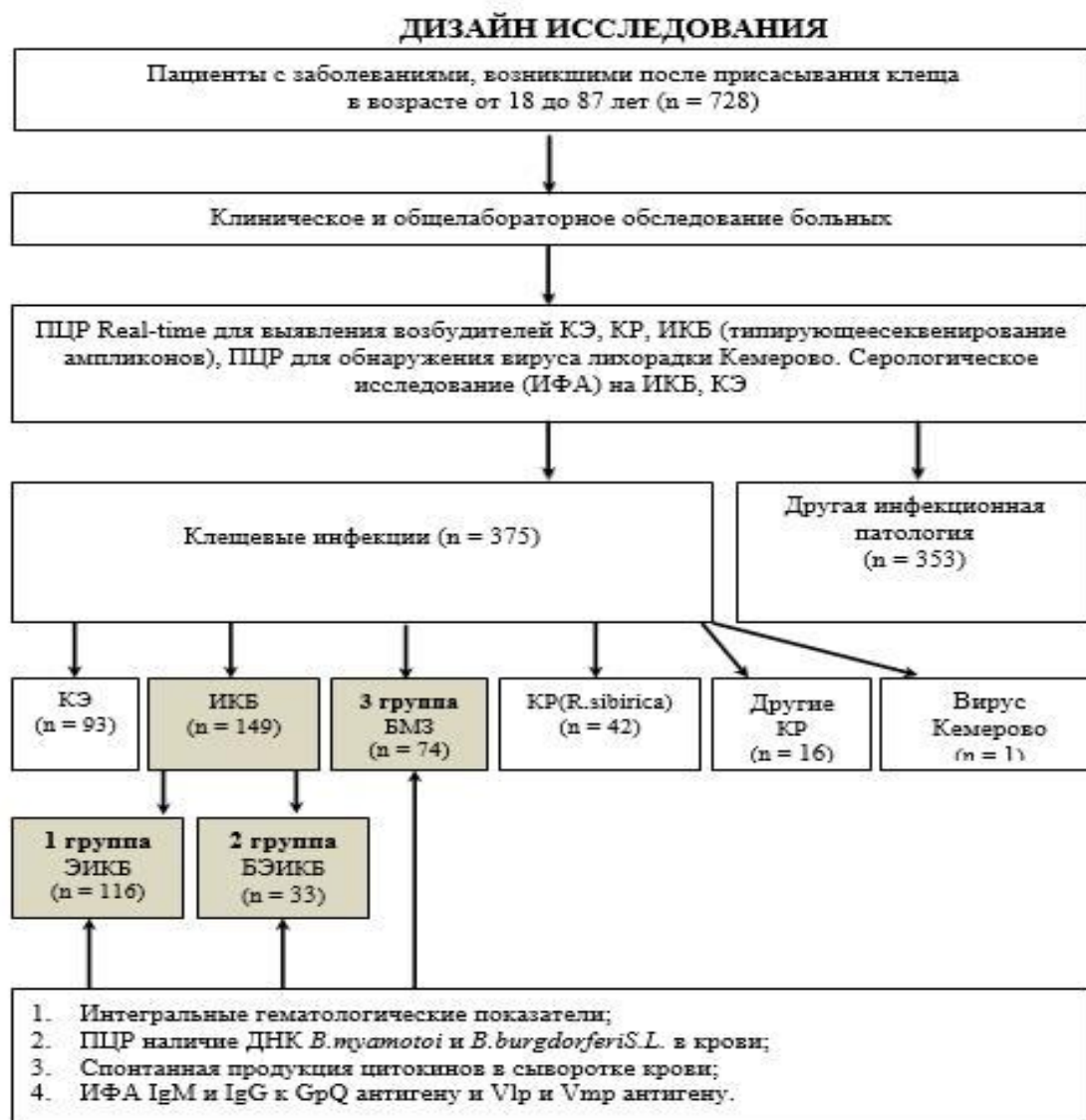


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Лабораторные исследования выполнялись при личном участии автора на базе Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск (ИХБФМ СО РАН), в лаборатории молекулярной микробиологии (заведующий лабораторией д-р мед. наук Н. В. Тикунова). На базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва (ЦНИИЭ), в лаборатории природно-очаговых инфекций (заведующий лабораторией д-р мед. наук, профессор А. Е. Платонов) проводилась серологическая диагностика БМЗ методом иммуночипов. Исследованы 59 сывороток от 26 пациентов с

определением в динамике заболевания IgM и IgG к GrQ (антигену, который присутствует во всех боррелиях группы возвратных лихорадок), Vlp и Vmp (большим и малым поверхностным белкам, которые используются как диагностические маркеры боррелиоза *tyomatoi*). Сыворотки взяты при поступлении больных в стационар, далее в динамике во время лечения и в последующие 2-3 месяца от начала болезни. При постановке диагноза клещевой инфекции учитывалась совокупность клинико-эпидемиологических и лабораторных данных.

Исследование общего анализа крови дополнялось анализом гематологических индексов: лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ) по Я. Я. Кальф-Калифу (1941), С. Ф. Химичу (2003), В. К. Островскому (2006), ядерного индекса степени эндотоксикоза (ЯИСЭ) по формуле Г. А. Даштоянца (1974), индекса сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК), индекса соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ) [Данилова Л. А., 2003; Мустафина Ж. Г., 1999; Островский В. К., 2003]. Концентрации цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-10 в сыворотке крови определяли при поступлении больных в стационар 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.

Статистический анализ проводили по стандартным методикам и использованием программного обеспечения Microsoft Excel, Statistica 10.0 и SPSS 22.0. Определяли доли, средние величины исследуемых морфометрических показателей (M) и среднюю ошибку (m). Количественные показатели сравнивали с помощью U-критерия Манна – Уитни. Значимость различий (p) для качественных показателей определяли с помощью χ^2 Пирсона. Если в таблице 2×2 , 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.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из числа обследованных 728 пациентов, с помощью метода ПЦР, верификация диагноза клещевой инфекции осуществлена у 375 (51,5 %) больных. Установлены следующие клещевые инфекции: у 149 пациентов (20,5 %) – ИКБ; у 74 (10,3 %) – БМЗ; у 93 (12,7 %) – КЭ; у 42 (5,7 %) – КСТ; у 16 (2,2 %) – другие клещевые риккетсиозы. ДНК *R. raoultii* выделена в образцах крови от 14 пациентов, у 1 выявлены *R. aeschlimannii*, у 1 – риккетсии из группы клещевых пятнистых лихорадок (КПЛ), генетически схожие с *R. slovaca*. В одном случае (0,13 %) у больной с лихорадкой в течение 3 суток и «клещевым» анамнезом диагностирована клещевая инфекция, вызванная вирусом Кемерово.

При определении структуры клещевых инфекций в НСО среди госпитализированных больных установлено, что на первом месте (39,7 %) ИКБ; на втором (24,8 %) – КЭ; на третьем (19,7 %) – БМЗ; на четвертом (11,2 %) – КСТ; 4,2 % приходится на другие клещевые риккетсиозы; в одном случае выявлена клещевая инфекция, вызванная вирусом Кемерово. Таким образом, установлено, что клещевые боррелиозы на территории НСО являются преобладающими (60 %) и вызваны двумя видами боррелий – *Borrelia burgdorferi sensu lato* и *Borrelia miyamotoi*, (БМ). Оценка генетической variability БМ показала соответствие азиатскому типу, ранее обнаруженному в клещах *I. persulcatus* на территории НСО, а также в других регионах России. Нуклеотидные последовательности генов *glpQ* и *p66* БМ 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). Жирным шрифтом выделены последовательности *B. miyamotoi* из крови обследованных пациентов.

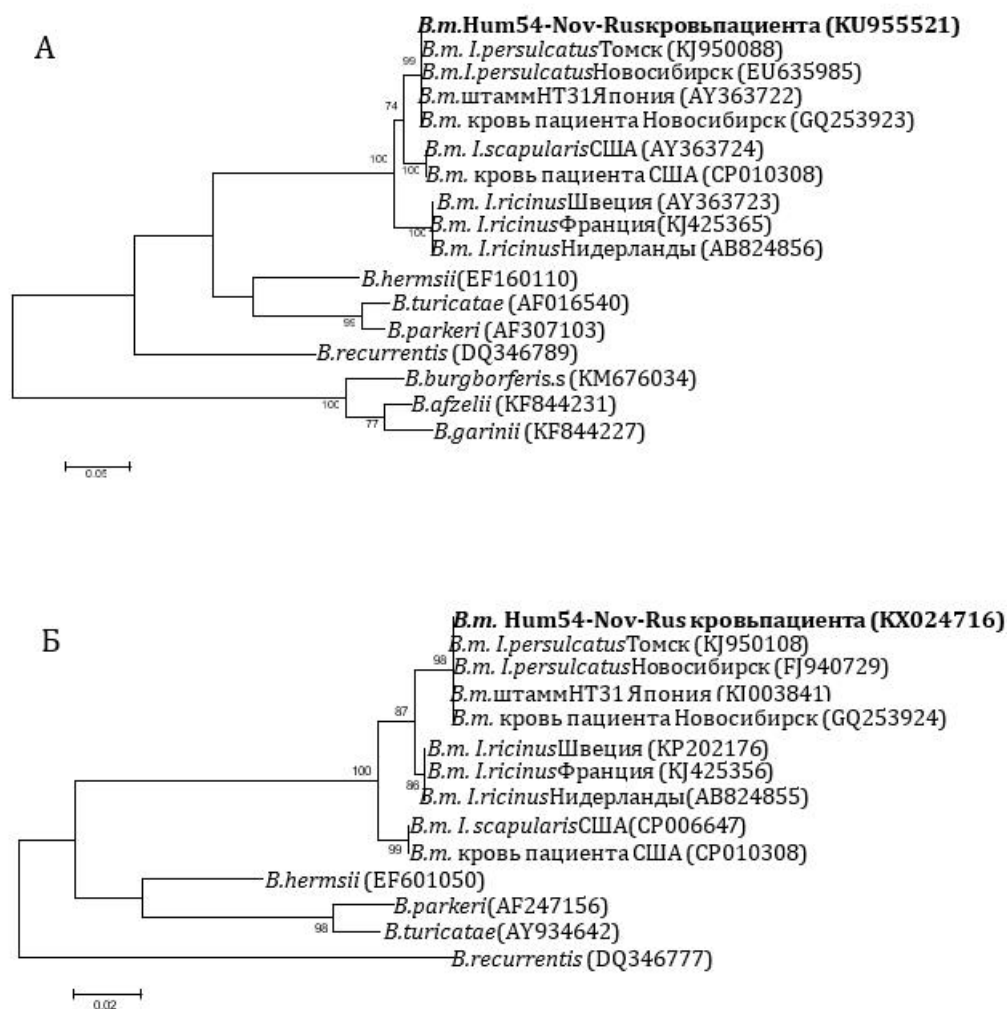


Рисунок 2 – Дендрограммы, построенные на основании последовательностей фрагмента гена *p66* длиной 514 п. н. (А) и *glpQ* длиной 359 п. н. (Б)

Иксодовые клещевые боррелиозы сохранили свои основные черты, протекали как в эритемной (77,8 %), так и в безэритемной формах (22,2 %). Клиника ИКБ возникала преимущественно у пожилых после присасывания клеща, инкубации, в среднем, $(14 \pm 6,2)$ дней, характеризовалась кратковременной лихорадкой и интоксикацией у 60 % больных эритемной формой (ЭИКБ) и 75 % – безэритемной (БЭИКБ). Диаметр эритемы, в среднем, составил $(13,3 \pm 5,2)$ см (максимальный – 40 см). При ЭИКБ в большинстве случаев заболевание протекало в легкой – 69,4 %, в остальных случаях (30,6 %) – в среднетяжелой форме. При БЭИКБ среднетяжелая форма отмечена в 80,0 % – (включая 6 % больных с синдромом Баннварта), только у 2 (20,0 %) – легкая

форма. Установлено транзиторное повышение активности АЛТ – в 6 % и 10,3 % случаев (от 49 до 352 Ед/л) и АСТ у 25 % больных (от 44 до 159 Ед/л). У всех отмечено выздоровление после курса антибактериальной терапии. ДНК *B. burgdorferi* s. l. в крови с помощью ПЦР обнаружена у 2 (1,7 %) больных ЭИКБ и 5 (15 %) – БЭИКБ, что доказывает редкое присутствие боррелий в крови. У 60 (51,7 %) диагноз подтвержден выявлением IgM и/или IgG к боррелиям на 3-4 неделе болезни методом ИФА. Остальные пациенты выписаны на 2 неделе болезни и не успели сформировать специфический иммунный ответ, поэтому диагноз у них подтвержден клинико-эпидемиологически, что допускается российскими и зарубежными протоколами по диагностике ИКБ.

Клиника БМЗ возникала преимущественно в июне-июле у пациентов средних лет после присасывания клеща, инкубации, в среднем, ($14 \pm 7,3$) дней (от 1 до 38 дней). Характерной для БМЗ была лихорадка, чаще высокая – выше 39°C (51,7 %) или умеренная (34,7 %), длительностью ($2,7 \pm 0,3$) суток (от 1 до 10 дней). Двухволновая температурная кривая отмечена у 14 % больных со вторым подъемом температуры не более 2 суток. Другие проявления БМЗ – слабость (100 %), головная боль (85 %), миалгии (32 %), артралгии (14 %), синдром менингизма (13,5 %), нормоцитоз (61,2 %), нейтрофилез (62,5 %), тромбоцитопения (66,7 %), повышение трансаминаз (52,9 %).

У 26 пациентов, заболевших после укуса клеща, проведено исследование 56 сывороток крови в динамике болезни методом иммуночипов. Результаты серологического обследования позволили разделить больных на несколько подгрупп. Первая (1) подгруппа – 14 больных с подтвержденным диагнозом БМЗ, из них 13 были ПЦР-положительными, у одного с отсутствием ДНК БМ в крови на 17-й 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. У части пациентов 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, IgG появлялись, начиная с 12 дня от начала болезни.

Вторую (2) подгруппу составили 5 пациентов с микст-инфекцией: сочетание БМЗ с риккетсиозами, вызванными *R. raoultii* (в 1 случае), *R. slovaca* (в 2 случаях), с КЭ, лихорадочной формой (в 2 случаях). Без серологического мониторинга в одном случае БМЗ остался бы нераспознанным. В другом случае ДНК БМ присутствовала в крови, что наряду с лихорадкой, интоксикацией подтверждало БМЗ, но IgM и IgG к белкам боррелий не сформировались. Выявление IgM к вирусу КЭ в титре 1/800 позволило верифицировать микст-инфекцию (лихорадочную форму КЭ и БМЗ). 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: БМЗ с риккетсиозом, либо КЭ, т. е. она регистрируется почти у каждого пятого пациента, но не является учтенной из-за неполной диагностики.

В третьей (3) подгруппе, состоящей из 2 больных, после укуса клеща при развитии лихорадки и отрицательной ПЦР 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 литературе соответствующих объяснений. Отсутствие у всех 5 больных четвертой (4) подгруппы в крови ДНК БМ, IgM и наличие IgG GpQ, а также Vsp1, Vlp15, 18 без динамики их появления свидетельствует о паст-инфекции (БМЗ).

Отсутствие значимых различий частоты положительных результатов при использовании ПЦР в сравнении с ИФА и наличие корреляционной связи между ними ($r = 0,84$; $p = 0,001$) подтверждают высокую диагностическую значимость обоих методов.

Проведена сравнительная характеристика клинико-эпидемиологических и лабораторных проявлений ИКБ и БМЗ. Лихорадка при БМЗ регистрировалась у большинства пациентов (97,3 %), чаще ($p = 0,001$, χ^2), чем при ЭИКБ (50,0 %) и БЭИКБ (75,7 %). Таким образом, шансы возникновения лихорадки при БМЗ были выше по сравнению с БЭИКБ (ОШ = 11,52; 95 % ДИ 2,29–57,92) и, особенно, ЭИКБ (ОШ = 36,0; 95 % ДИ 8,43–153,69). У большинства больных

БМЗ лихорадка была высокой (51,4 %) или умеренной (34,7 %), в отличие от пациентов с ЭИКБ – в 8,6 % ($p = 0,001$, χ^2) и 15,5 % ($p = 0,002$, χ^2) случаях, соответственно, и БЭИКБ – в 15,1 % ($p = 0,0005$, ТТФ) и 15,1 % ($p = 0,036$, ТТФ) случаях. Длительность лихорадочного периода на фоне антибактериальной терапии при БМЗ колебалась от 2 до 10 дней, в среднем, $2,7 \pm 0,3$ 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 %) ($p = 0,002$, χ^2) и без значимых отличий при БЭИКБ (6,0 %), ($p = 0,34$, ТТФ). У больных с БМЗ вторая волна повышения температуры от 37,1 до 38,1 °С возникала после 2-4 дней апиреksии и длилась до 2 суток. В первой и второй группах вторая волна лихорадки отмечалась через сутки апиреksии, достигала 37,4 °С и длилась одни сутки. Наряду с лихорадкой у большинства пациентов БМЗ отмечались проявления интоксикации: слабость (100 %), головная боль (84,7 %), реже – миалгии и артралгии. Симптомы интоксикации регистрировались чаще, чем при ЭИКБ ($p = 0,001$, χ^2). Группа больных БЭИКБ отличалась от БМЗ меньшей частотой жалоб на слабость и головную боль ($p = 0,001$, χ^2). Для БМЗ, в отличие от ИКБ, характерно повышение содержания сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов в крови, тромбоцитопения, высокий ЛИИ, свидетельствующий о наличии интоксикации и высокий показатель ИСНЛ, демонстрирующий выраженную иммунологическую реактивность.

Система цитокинов реагировала при ИКБ повышением уровня провоспалительного ИЛ-8 (хемокина), он был высоким в остром периоде ЭИКБ, 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 ЭИКБ, 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 ($r = 0,73$, $p = 0,01$). Значительная продукция ИЛ-10 в остром периоде БМЗ, возможно, является прогностически благоприятным явлением, указывает на сбалансированность провоспалительных и

противовоспалительных процессов при комбинированном Th1/Th2 иммунном ответе. Уровень интерлейкинов в крови в остром периоде иксодовых клещевых боррелиозов показан в таблице.

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

Параметры	ЭИКБ (n = 24)	БИКБ (n = 18)	БМЗ (n = 28)	Контрольная группа (n = 14)
ИЛ-6 (0-5,9 пг\мл)	18,1 ± 3,9 ^{**#}	8,8 ± 1,5 [*]	26,5 ± 4,9 ^{**@}	3,7 ± 0,4
ИЛ-8 (0-10 пг\мл)	24,3 ± 3,1 ^{**#}	19,9 ± 2,4 [*]	29,6 ± 3,4 ^{**@}	9,7 ± 1,4
ИЛ-10 (0-9,1 пг\мл)	14,2 ± 2,1 ^{**\$\$}	12 ± 2,0	33,0 ± 6,9 ^{**@@}	6,8 ± 0,9
Примечания: * – p < 0,05; ** – p < 0,01 в группах ИКБ, БМЗ по сравнению с контролем; # – p < 0,05 в группах ЭИКБ и БЭИКБ; @ – p < 0,05; @@ – p < 0,01 в группах БМЗ и БЭИКБ; \$\$ – p < 0,01 в группах ЭИКБ и БМЗ.				

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 *B. 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 *B. miyamotoi*; на четвертом (11 %) – сибирский клещевой тиф; 4 % приходится на другие клещевые риккетсиозы. Оценка генетической variability *B. 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 уравнивание 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 IgG к 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Особенности клинических проявлений и лабораторной диагностики возвратной клещевой лихорадки, вызванной *B. miyamotoi* в Новосибирской области / Е. И. Краснова [и др.; в том числе М. В. Савельева] // **Эпидемиология и инфекционные болезни**. – 2017. – № 2. – С. 10–16.

2. Detection of causative agents of tick-borne rickettsioses in Western Siberia, Russia: identification of *Rickettsia raoultii* and *Rickettsia sibirica* DNA in clinical samples / Y. Igolkina [et al., **М. Савельева**] // **Clinical Microbiology and Infection**. – 2018. – Том 24, выпуск 2. – Р. 9–12.

3. Клинико-лабораторная характеристика заболеваний, вызванных боррелиями *B. miyamotoi*, у жителей Новосибирской области в 2015–2017 гг. / **М. В. Савельева** [и др.] // **Журнал инфектологии**. – 2018. – Т. 10, № 2. – С. 68–75.

4. Выявление ДНК *Rickettsia raoultii* и *Rickettsia sibirica* в крови и ликворе пациентов в Западной Сибири / Я. П. Иголкина [и др.; в том числе **М. В. Савельева**] // Национальные приоритеты России. – 2016. – № 4 (22). – С. 85–88.

5. Актуальные вопросы клещевых инфекций на современном этапе / Е. И. Краснова [и др.; в том числе **М. В. Савельева**] // Сибирский медицинский вестник. – Новосибирск. – 2018. – № 3. – С. 46–57.

6. **Савельева, М. В.** Особенности течения клещевого боррелиоза у взрослых в Новосибирской области / **М. В. Савельева** // Авиценна-2016 : мат-лы 7-й Российской научно-практической конференции с Международным участием студентов и молодых ученых. – Новосибирск, 2016. – С. 360–361.

7. Лабораторная диагностика и особенности клинических проявлений возвратной клещевой лихорадки, вызванной *Borrelia miyamotoi*, в Новосибирской области / **М. В. Савельева** [и др.] // Диагностика и профилактика инфекционных болезней на современном этапе : материалы научно-практической конференции. – Новосибирск, 2016 – С. 170–172.

8. **Савельева, М. В.** Особенности клиники и лабораторной диагностики иксодового клещевого боррелиоза *miyamotoi* на территории Новосибирской области / **М. В. Савельева**, Д. В. Капустин // Авиценна-2017 : мат-лы 8-й Российской научно-практической конференции с Международным участием студентов и молодых ученых. – Новосибирск, 2017. – С. 335–336.

9. Клинические проявления микст-инфекции клещевого энцефалита и клещевого боррелиоза у взрослых за период с 2008–2017 гг. в Новосибирске / Е. И. Краснова [и др.; в том числе **М. В. Савельева**] // Микроорганизмы и

биосфера «Microbios» : материалы 4-го Национального конгресса бактериологов и Международного симпозиума. – Омск, 2018. – С. 39.

10. Особенности клиники и лабораторной диагностики заболеваний, вызванных боррелиями *B. miyamotoi*, у жителей Новосибирской области / **М. В. Савельева** [и др.] // Материалы 5-го конгресса Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням // Журнал инфектологии. – 2018. – Приложение 1. – Т. 10, № 2. – С. 93.

11. Клинические и лабораторные проявления возвратной клещевой лихорадки, вызванной *Borrelia miyamotoi*, в Новосибирской области в 2015–2017 гг. / **М. В. Савельева** [и др.] // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы : материалы 10-го ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с Международным участием. – Москва, 2018. – С. 189–190.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ, АСТ	– аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза
БМ	– <i>Borrelia miyamotoi</i>
БМЗ	– заболевание, вызванные <i>B. miyamotoi</i>
БЭИКБ	– безэритемная форма иксодового клещевого боррелиоза
ГБУЗ НСО	Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
ГИКБ № 1	– Новосибирской области Городская инфекционная клиническая больница №1
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИЛ	– интерлейкин
ИСЛК	– Индекс сдвига лейкоцитов крови
ИСНЛ	– Индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИХБФМ СО	– Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО
РАН	– РАН, Новосибирск
КЭ	– клещевой энцефалит
ЛИИ	– Лейкоцитарный индекс интоксикации
ОШ	– Отношение шансов
НСО	– Новосибирская область
ПЦР	– Полимеразная цепная реакция
РФ	– Российская Федерация
СКТ	– Сыпной клещевой тиф
ФБУН	– ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва
ЦНИИЭ	– Центральный научно-исследовательский институт
ЦНИИ	– Эритемная форма иксодового клещевого боррелиоза
ЭИКБ	– Иммуноглобулины М, G
IgM, G	– Иксодовый клещевой боррелиоз
ИКБ	– Т-хелперы
Th	