

Результаты выявления антител к риккетсиям в сыворотках крови пациентов в Омской области и Западно-Казахстанской области Республики Казахстан

И.Е. Самойленко¹, Н.В. Рудаков^{1,2} (rickettsia@mail.ru), Т.А. Решетникова¹, Р.А. Егембердиева³, Е.В. Шаламова⁴, С.В. Штрек^{1,2}, Л.В. Кумпан^{1,2}

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора

²ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Минздрава России

³Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алма-Ата

⁴МУЗ «Называевская ЦРБ», Омская область, г. Называевск

Резюме

Ранее нами выявлена высокая видовая и антигенная гетерогенность риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки, циркулирующих на территориях РФ. В данной работе представлены результаты выявления антител к *R. sibirica* и *R. conorii* в РСК и РНИФ в сыворотках крови больных после присасывания клещей в очагах клещевых риккетсиозов на приграничных территориях России и Казахстана. Полученные данные позволяют рекомендовать использование РНИФ с антигенами различных видов риккетсий, циркуляция которых доказана или предполагается на территориях природных очагов клещевых риккетсиозов.

Ключевые слова: риккетсии, серологические исследования, *Rickettsia sibirica*, *Rickettsia conorii*

Results of Detection Antibodies against *Rickettsiae* in the Blood Sera at the Omsk Region of Russia and the West-Kazakhstan Region of Republic Kazakhstan

I.E. Samoylenko¹, N.V. Rudakov^{1,2} (rickettsia@mail.ru), T.A. Reshetnikova¹, R.A. Egemberdyeva³, E.V. Shalamova⁴, S.V. Shtreck^{1,2}, L.V. Kumpan^{1,2}

¹Federal Budgetary Institution of Science «Omsk Research Institute of Natural Foci Infections» Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-Being Surveillance, Omsk

²State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Training «Omsk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

³Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, Alma-Ata, Kazakhstan

⁴Medical Healthcare Institution «Central District Hospital of Nazivaevskaya», Omsk region, Nazyvaevsk

Abstract

Previously, we found high species- and antigenic heterogeneity of spotted fever group rickettsiae circulating in the territories of the Russian Federation. This paper presents the results of the detection of antibodies to *R. sibirica* and *R. conorii* by using of complement fixation test and indirect immunofluorescent test (IFT) in the sera of patients after tick bites in tick-borne rickettsioses foci in border areas of Russia and Kazakhstan. The results of the study allow us to recommend carrying out the serological study of the blood sera of patients after tick's bites using IFT with antigens of *Rickettsia* species, which circulation is proved or suspected in the area.

Key words: rickettsia, serological tests, *Rickettsia sibirica*, *Rickettsia conorii*

Введение

В настоящее время на территории РФ установлена циркуляция не менее восьми патогенных для человека видов риккетсий – *R. sibirica* (subsp. *sibirica* и subsp. BG-90), *R. slovaca*, *R. aeschlimannii*, *R. tarasevichiae*, *R. heilongjiangensis*, *R. raoultii* (генотипы RpA4, DnS14, DnS28), *R. conorii* (subsp. *conorii* и subsp. *caspiensis*), *R. helvetica*. Доказана высокая видовая и антигенная гетерогенность риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ), причем выявленное биологическое разнообразие имеет

определенные географические «привязки» [1, 2]. В то же время, официально в РФ регистрируют заболевания только двумя риккетсиозами группы КПЛ – сибирским клещевым тифом (СКТ), вызываемым *R. sibirica*, и астраханской пятнистой лихорадкой (АПЛ) с этиологическим агентом *R. conorii* subs. *caspiensis* (форма № 1 Росстата «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»). За последние пять лет, по данным официальной регистрации в России, выявлено около 10 тыс. случаев заболевания риккетсиозами, из них 82% приходится на СКТ.

Регламентированными серологическими методами для верификации диагноза служат реакция связывания комплемента (РСК) и реакция непрямой иммуофлуоресценции (РНИФ). Серологические реакции, направленные на выявление антител к риккетсиям группы КПЛ, обладают различной степенью видоспецифичности. В большинстве серологических реакций (РА, РСК, ИФА) при использовании цельнорастворимых антигенов из штаммов различных видов риккетсий отмечается выраженная перекрестная реактивность внутри групп сыпного тифа и КПЛ. В течение многих десятилетий РСК была базовым методом серологической диагностики риккетсиозов. Метод недостаточно чувствителен в ранней фазе заболевания: даже на гиперэндемичных территориях лабораторное подтверждение диагноза СКТ не превышает 26,8% [3].

Исследование иммунных сывороток белых мышей показало, что наибольшей видоспецифичностью обладает РНИФ с корпускулярными антигенами соответствующих видов риккетсий [4]. В Европе РНИФ считается «золотым стандартом» серодиагностики риккетсиозов [5]. При проведении процедуры описания нового вида риккетсий в части характеристики его антигенных свойств рекомендуется серотипирование именно в РНИФ с гомологичными и гетерологичными антигенами [6]. Однако степень видоспецифичности РНИФ для выявления антител при различных риккетсиозах группы КПЛ у людей требует дополнительного изучения.

Цель работы – выявление антител к *R. sibirica* и *R. conorii* в РСК и РНИФ в сыворотках крови больных после присасывания клещей в очагах клещевых риккетсиозов на приграничных территориях России и Казахстана.

Материалы и методы

В работе использовано 112 сывороток крови жителей Омской области (преимущественно от пациентов Называевской ЦРБ), собранных в 2013 – 2014 годах, и 12 сывороток пациентов из Западно-Казахстанской области Республики Казахстан, собранных в 2014 году.

Все сыворотки исследовали на наличие антител к *R. sibirica* в РСК и РНИФ, сыворотки пациентов

из Западно-Казахстанской области исследовали также в РНИФ на наличие антител к *R. conorii*, к генокомплексу которой относится этиологический агент астраханской пятнистой лихорадки, выявляемый на смежных территориях РФ. РСК выполняли микрометодом в соответствии с инструкцией к коммерческому «Диагностикуму риккетсиозному «Сибирика» сухому для РСК» (ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ). Исследования в РСК выполняли только с антигеном *R. sibirica*, так как стандартный коммерческий антиген *R. conorii* не производится. РНИФ осуществляли по стандартной методике, для выполнения были использованы корпускулярные антигены *R. sibirica* (штамм 105/87-Баево) и *R. conorii* (штамм М-1), приготовленные из овокультур, хранящихся в рабочей коллекции Омского НИИ природно-очаговых инфекций; иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие антивидовые против иммуноглобулинов человека, сухие (ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи), с контрастированием препаратов альбумином бычьим, меченным родамином, сухим (ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи).

Статистический анализ проводили при помощи пакета статистических программ Statistika 6.0 для Windows (StatSoft, США) с представлением данных в виде средних величин и стандартного отклонения. Для оценки значимости различий между группами использовали критерий Стьюдента (t). Различия считали достоверными при вероятности безошибочного суждения $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты выявления антител к антигенам *R. sibirica* и *R. conorii* в сыворотках крови пациентов при исследовании в РСК и РНИФ представлены в таблице 1.

Установлено, что в Омской области у пациентов с различными клиническими проявлениями, обратившихся за медицинской помощью после присасывания клещей, антитела к *R. sibirica* выявляли в РСК в 21,4% и в РНИФ – в 25,0% случаев. Примерно у половины из них отмечалась типичная клиническая картина КСТ. Случаи заболеваний с характерными для КСТ клинико-эпидемиологиче-

Таблица 1.
Результаты исследования сывороток крови в РСК и РНИФ с антигенами *R. sibirica* и *R. conorii*

Обследованный контингент	Кол-во проб	Из них положительных в РСК с антигеном <i>R. sibirica</i>		Кол-во проб	Из них положительных в РНИФ с антигеном <i>R. sibirica</i>		Из них положительных в РНИФ с антигеном <i>R. conorii</i>	
		абс.	%		абс.	%	абс.	%
Омская область	112	24	21,4 ± 3,9*	68	17	25,0 ± 5,2*	–	–
Западно-Казахстанская область	12	0	0	12	0	0	6	50,0 ± 14,4**

Примечание: * $P < 0,05$, ** $P < 0,001$.

скими данными выявляют в Называевском районе с 2003 года. С момента наблюдения в очаге описано более 120 случаев. У взрослых пациентов преобладала среднетяжелая форма заболевания, у детей и молодых людей – легкая. Инкубационный период составил в среднем от 2 до 5 дней, длительность лихорадки – до 10 дней, розеолезные высыпания в 70% случаев появлялись на 3-й день болезни, при позднем обращении (на 5 – 7-е сутки лихорадки) сыпь имела розеолезно-петехиальный характер. Практически у всех пациентов обнаружен первичный аффект с регионарным лимфаденитом.

В 12 сыворотках больных из Западно-Казахстанской области в РНИФ с антигеном *R. conorii* положительные результаты выявлены в шести случаях, исследований в РСК для выявления антител к антигену *R. conorii* не проводили из-за отсутствия стандартного коммерческого антигена. В РНИФ с антигеном *R. sibirica* положительных результатов не выявлено; в РСК с антигеном *R. sibirica* также получены отрицательные результаты во всех исследуемых сыворотках.

Преимущества РНИФ в сравнении с РСК ранее были установлены при исследовании сывороток крови людей и животных [7 – 9]. Отмечались более

высокая чувствительность и производительность, меньшая трудоемкость, возможность использовать РНИФ как для ранней, так и для ретроспективной диагностики клещевых риккетсиозов.

Выводы

1. В результате проведенных исследований отмечается достаточно выраженная корреляция результатов в РСК и РНИФ при использовании гомологичных антигенов.
2. Установлена разница между результатами в РНИФ на территориях Омской и Западно-Казахстанской областей, различающихся по спектру выявленных видов патогенных риккетсий. Это позволяет рекомендовать в природных очагах клещевых риккетсиозов исследования сывороток крови больных после присасывания иксодовых клещей в РНИФ с антигенами соответствующих видов риккетсий, циркуляция которых доказана или предполагается на данной территории.

Полученные данные косвенно подтверждают циркуляцию риккетсий *R. conorii*-комплекса на территориях Западного Казахстана, граничащих с очаговыми по астраханской пятнистой лихорадке территориями РФ.

Литература

1. Абрамова Н.В., Рудаков Н.В., Пеньевская Н.А., Седых Н.Н., Кумпан Л.В., Самойленко И.Е. и др. Апробация иммуноферментного анализа для серологической диагностики инфекций, вызываемых риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2010; 1 (50): 17 – 21.
2. Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Абрамова Н.В., Рудакова С.А., Коломенский А.П. Клинико-эпидемиологический анализ результатов выявления антител к различным видам риккетсий у больных с подозрением на клещевую нейроинфекцию в северных районах Омской области. Сибирский медицинский журнал. 2009; 8: 48 – 53.
3. Анализ деятельности центров Госсанэпиднадзора России по лабораторной диагностике риккетсиозов: Информационный сборник статистических и аналитических материалов. Москва; 2001.
4. Pickens E.G., Bell E.J., Lackman D.B., Burgdorfer W. Use of serum in identification and serologic classification of *Rickettsia acari* and *Rickettsia australis*. J. Immunol. 1965; 94: 883 – 889.
5. Brouqui P., Bacellar F., Baranton G., Birtles R.J., Bjorsdorff A., Blanco J.R. et al. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. Clin. Microbiol. Infect. 2004; 10: 1108 – 1132.
6. Raoult D., Fournier P.E., Ereemeeva M., Graves S., Kelly P.J., Oteo J.A. et al. Naming of *Rickettsiae* and rickettsial diseases. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 1 – 12.
7. Яблонская В.А. Новое в серодиагностике риккетсиозов. Вопросы риккетсиологии: Матер. Всесоюз. конф. «Эпидемиология, диагностика и профилактика риккетсиозов». Москва; 1985: 80 – 84.
8. Решетникова Т.А. Изучение динамики образования антител при экспериментальном клещевом риккетсиозе. Вопросы риккетсиологии: Материалы IV Всесоюз. конф. «Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики риккетсиозов». Москва; 1989: 112 – 114.
9. Тарасевич И.В. Астраханская пятнистая лихорадка. Москва: Медицина; 2002: 1 – 171.

References

1. Abramova N.V., Rudakov N.V., Pen'evskaya N.A., Sedich N.N., Kumpan L.V., Samojlenko I.E. et al. Approbation of immunosorbent assay for the serological diagnosis of infections caused by tick-borne rickettsiae of spotted fever group. Epidemiology and Vaccination. 2010; 1 (50): 17 – 21 (in Russian).
2. Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Abramova N.V., Rudakova S.A., Kolomensky A.P. Clinic-epidemiological analysis of the results of the detection of antibodies to the different types of rickettsiae in patients with suspected tick-borne neuroinfection in the northern districts of Omsk region. Siberian Medical Journal. 2009; 8: 48 – 53 (in Russian).
3. Analysis of the activity of the centers of Sanitary Inspection of the Russian Federation for the laboratory diagnosis of rickettsial diseases: Information compilation of statistical and analytical materials. Moscow; 2001 (in Russian).
4. Pickens E.G., Bell E.J., Lackman D. B., Burgdorfer W. Use of serum in identification and serologic classification of *Rickettsia acari* and *Rickettsia australis*. J. Immunol. 1965; 94: 883 – 889.
5. Brouqui P., Bacellar F., Baranton G., Birtles R.J., Bjorsdorff A., Blanco J.R. et al. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. Clin. Microbiol. Infect. 2004; 10: 1108 – 1132.
6. Raoult D., Fournier P.E., Ereemeeva M., Graves S., Kelly P.J., Oteo J.A. et al. Naming of *Rickettsiae* and rickettsial diseases. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2005; 1063: 1 – 12.
7. Yablonskaya V.A. New in serodiagnosis of rickettsial diseases. Questions of rickettsiology: Proceedings of Conf. «Epidemiology, diagnosis and prevention of rickettsial diseases». Moscow; 1985: 80 – 84 (in Russian).
8. Reshetnikova T.A. Studying the dynamics of the formation of antibodies in experimental tick-borne rickettsiosis. Questions of rickettsiology. Proceedings of the IV All-Union conf. «Actual problems of epidemiology, diagnosis, treatment and prevention of rickettsial diseases». Moscow 1989: 112 – 114 (in Russian).
9. Tarasevich I.V. Astrakhan spotted fever. Moscow: Medicine; 2002. 1 – 171 (in Russian).