

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ»
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И
БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ИССЛЕДОВАНИЙ И РАЗРАБОТКИ
ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
ИМ. М.П. ЧУМАКОВА РАН» (ИНСТИТУТ ПОЛИОМИЕЛИТА)

На правах рукописи

Колясникова Надежда Михайловна

**Совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и
бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами**

3.2.2. Эпидемиология

1.5.10. Вирусология

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН
Акимкин Василий Геннадьевич

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН
Ишмухаметов Айдар Айратович

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	18
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОСТИ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ (ЭТИОЛОГИЯ, ЭКОЛОГИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ, КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ, ДИАГНОСТИКА, СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ)	18
1.1. Клещевой энцефалит.....	18
1.2. Болезнь Лайма и боррелиоз, вызываемый <i>Borrelia miyamotoi</i>	57
1.3. Моноцитарный эрлихиоз и гранулоцитарный анаплазмоз человека	84
1.4. Микст-инфекции, передающиеся иксодовыми клещами	97
1.5. Эпидемиологический надзор за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами .	108
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	115
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	115
2.1. Дизайн и материалы исследования.....	115
2.2. Методы исследования.....	129
ГЛАВА 3. АНАЛИЗ ПРОЯВЛЕНИЙ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА, БОЛЕЗНИ ЛАЙМА, МОНОЦИТАРНОГО ЭРЛИХИОЗА И ГРАНУЛОЦИТАРНОГО АНАПЛАЗМОЗА ЧЕЛОВЕКА НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	146
3.1. Мониторинг обращаемости населения по поводу присасывания клещей на территории Российской Федерации в целом и по субъектам (2013-2021 гг.)	146
3.2. Динамика, территориальное распределение и структура заболеваемости клещевым энцефалитом на территории Российской Федерации в целом и по субъектам (2005-2021 гг.)	154
3.3. Динамика, территориальное распределение и структура заболеваемости болезнью Лайма на территории Российской Федерации в целом и по субъектам (2005-2021 гг.).....	167
3.4. Динамика, территориальное распределение и структура заболеваемости моноцитарным эрлихиозом и гранулоцитарным анаплазмозом человека на территории Российской Федерации и по субъектам (2013-2021 гг.).....	177
3.5. Сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса клещевого энцефалита и болезни Лайма (на примере Свердловской области) (2005-2021 гг.)	189

ГЛАВА 4. СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ БРЕМЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И БОЛЕЗНИ ЛАЙМА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	213
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА, ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ И АПРОБАЦИЯ ПЦР-МЕТОДИК В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ.....	232
5.1. Методика на основе ПЦР в режиме реального времени для одновременного выявления основных четырех патогенов (<i>Tick-borne encephalitis virus</i> , <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> , <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Ehrlichia chaffeensis/Ehrlichia muris</i>) в клещах и клиническом материале	232
5.2. Методика на основе ПЦР в режиме реального времени для выявления <i>Borrelia miyamotoi</i> в клещах и клиническом материале	237
5.3. Аprobация разработанных ПЦР-методик в режиме реального времени.....	240
ГЛАВА 6. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ.....	245
ГЛАВА 7. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ, КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ НА ЭНДЕМИЧНОЙ ТЕРРИТОРИИ (ПО МАТЕРИАЛАМ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ).....	266
7.1. Эпидемиологическая, клиничко-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика клещевого энцефалита	271
7.2. Эпидемиологическая, клиничко-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика болезни Лайма.....	288
7.3. Эпидемиологическая, клиничко-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика боррелиоза, вызываемого <i>Borrelia miyamotoi</i> , выделение и изучение клинических изолятов (штаммов)	304
7.4. Эпидемиологическая и клиничко-лабораторная характеристика моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека	321
7.5. Сравнительная характеристика эпидемиологических, клинических и лабораторных проявлений клещевого энцефалита (лихорадочная форма), болезни Лайма, боррелиоза, вызываемого <i>Borrelia miyamotoi</i> , моноцитарного эрлихиоза человека, гранулоцитарного анаплазмоза человека, микст-форм заболеваний.....	347

ГЛАВА 8. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ.....	358
8.1. Специфическая лабораторная диагностика клещевого энцефалита, болезни Лайма, моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека.....	358
8.2. Специфическая лабораторная диагностика боррелиоза, вызываемого <i>Borrelia miyamotoi</i>	363
8.3. Изучение вариантов динамики гуморального иммунитета у вакцинированных пациентов против клещевого энцефалита и разработка критериев специфической лабораторной диагностики	368
ГЛАВА 9. ИЗУЧЕНИЕ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ И ПАТОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА, ДОМИНИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ СИБИРСКОГО ПОДТИПА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ	383
9.1. Летальные исходы и морфологическая характеристика изменений в центральной нервной системе при клещевом энцефалите, вызванном сибирским подтипом возбудителя	383
9.2. Характеристика заболеваемости клещевым энцефалитом, вызванным сибирским подтипом возбудителя среди вакцинированного населения, некоторые механизмы развития патологического процесса	416
9.3. Изучение нейровирулентных и нейроинвазивных свойств современных штаммов вируса клещевого энцефалита сибирского подтипа.....	428
ГЛАВА 10. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ, ПЕРЕДАЮЩИМИСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ, НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И ВНЕДРЕНИЯ АЛГОРИТМА ИХ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ	433
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	443
ВЫВОДЫ.....	460
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	463
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	465
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	467
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	471
ПРИЛОЖЕНИЕ А. ФОРМУЛЫ ДЛЯ РАСЧЕТА ЗАТРАТ В МОДЕЛИ СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКОГО БРЕМЕНИ	555

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В структуре инфекционных заболеваний одно из ведущих мест занимают трансмиссивные вирусные и бактериальные природно-очаговые инфекции, переносчиками возбудителей которых являются клещи семейства Ixodidae. Среди трансмиссивных клещевых инфекций лидирующее положение по распространенности и значимости в инфекционной патологии человека, по-прежнему, принадлежит клещевому энцефалиту (КЭ или клещевой вирусный энцефалит, КВЭ) и болезни Лайма (БЛ или клещевой боррелиоз, КБ) из-за тяжести данных заболеваний и обширного нозоареала [87; 144]. Ежегодно в России регистрируется около 1000-2000 случаев КЭ и 4000-8000 случаев БЛ. С 2013 г. в Российской Федерации (РФ) ведется статистический учет случаев заболеваемости новыми трансмиссивными клещевыми инфекциями – моноцитарным эрлихиозом человека (МЭЧ) и гранулоцитарным анаплазмозом человека (ГАЧ). По данным официальной статистики МЭЧ и ГАЧ вносят незначительный вклад в заболеваемость инфекциями, передающимися иксодовыми клещами. С момента учета было зарегистрировано около 150 случаев заболевания МЭЧ и около 700 случаев заболевания ГАЧ. Согласно данным Роспотребнадзора в 2021 г. эндемичными территориями по КЭ признаны 48 из 85 субъектов РФ. Высоко эндемичными территориями являются Средний и Южный Урал, Западная и Восточная Сибирь. БЛ регистрируется в 72 субъектах РФ, при этом наибольшая заболеваемость отмечается в Центральном и Приволжском регионах, на Урале, Западной и Восточной Сибири. Наиболее эндемичными территориями с момента статистического учета для МЭЧ являются Урал, Западная и Восточная Сибирь, для ГАЧ – некоторые территории Центрального, Северо-Западного, Приволжского, Уральского и Сибирского федеральных округов. Основными переносчиками возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ являются клещи рода *Ixodes* видов *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus*, в ряде сибирских регионов – *Ixodes pavlovskyi*.

Генетическое разнообразие возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами, особенно КЭ и БЛ, обуславливает клинические и эпидемиологические особенности, вызываемых ими заболеваний. В настоящее время установлено существование трех наиболее распространенных подтипов вируса КЭ – дальневосточного, сибирского, европейского, различающихся генетическими и антигенными свойствами [190; 233; 279]. Описаны новые отдельные монофилетические группы штаммов вируса КЭ [4; 49; 78; 190]. На большей части территории России доминирует сибирский подтип вируса КЭ, однако причины его широкого распространения до сих пор неясны, а патогенный потенциал мало изучен.

Генетическое разнообразие возбудителей БЛ определяет полиморфную клиническую картину и прогноз вызываемых ими заболеваний [88; 143]. В клинической структуре БЛ выделяют эритемную и безэритемную формы болезни. В настоящее время известно, что БЛ вызывается основными четырьмя патогенными для человека геновидами боррелий, входящими в группу *Borrelia burgdorferi sensu lato*: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis* и *B. burgdorferi sensu stricto*. Клиническая картина эритемной формы БЛ определяется основным патогномичным симптомом – наличием мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща и только по данному клиническому признаку, учитывая эпидемиологический анамнез, врач может диагностировать заболевание и безотлагательно, не дожидаясь результатов специфического лабораторного исследования назначить антибактериальное лечение. Особую диагностическую сложность представляет безэритемная форма БЛ. В остром периоде заболевания серологические методы диагностики недостаточно информативны, что обусловлено слабой иммуногенностью боррелий комплекса *B. burgdorferi s.l.*, или тем, что заболевание может быть вызвано другими видами боррелий, в частности, *Borrelia miyamotoi* – возбудителем нового для РФ клещевого боррелиоза. ДНК данного возбудителя была впервые обнаружена в 2003 г. в городе Ижевск в крови 25 больных с диагнозом «Иксодовый клещевой боррелиоз, безэритемная форма» [242], однако патогенность для человека *B. miyamotoi* в мире до начала наших исследований была неизвестна. В условиях сочетанных природных очагов с другими клещевыми инфекциями, в частности, с КЭ клиническая диагностика заболевания, вызываемого *B. miyamotoi* (БМ), затруднена, а выявление антител методом иммуноферментного анализа (ИФА) недостаточно специфично вследствие перекрестного реагирования с антигенами боррелий комплекса *B. burgdorferi s.l.*, либо невозможно вследствие отсутствия специфических серологических тест-систем. Детальное изучение эпидемиологических и клинических проявлений БМ на всех эндемичных территориях необходимо для сопоставления результатов и формирования целостного представления о боррелиозе, вызываемом данным возбудителем. Своевременный выбор адекватной терапии в современных условиях должен основываться на комплексе лабораторных методов и методик, позволяющих обеспечить дифференциальную экспресс-диагностику при поступлении больного в стационар. Комплекс методик может и должен применяться для эпидемиологической характеристики территорий, степени инфицированности иксодовых клещей и спектра присутствующих в них патогенов с целью принятия необходимых профилактических мер.

Нередко на одних и тех же территориях одновременно существует несколько паразитарных систем с различными возбудителями, что определяет высокую степень существования сочетанных природных очагов КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ, а, следовательно, высокую частоту

возникновения, так называемых, микст-форм заболеваний. Возможно развитие микст-инфекций при заражении как боррелиями, анаплазмами и эрлихиями в ассоциации с вирусом КЭ, так и в любых других сочетаниях, в том числе при заражении несколькими генотипами или геновидами одного возбудителя, например, различными геновидами боррелий. В связи с этим изучение эпидемиологических и клинических проявлений как моно-, так и микст-инфекций, разработка алгоритмов ранней дифференциальной диагностики заболеваний является крайне актуальной задачей для современного здравоохранения и совершенствования эпидемиологического надзора.

Степень разработанности темы диссертационного исследования

Основанием для проведения диссертационного исследования послужила высокая актуальность проблемы трансмиссивных клещевых инфекций – КЭ, БЛ (эритемная и безэритемная формы), МЭЧ и ГАЧ как в России, так и за рубежом. В ряде эндемичных регионов России изучены некоторые аспекты эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики вышеперечисленных заболеваний [1; 24; 43; 44; 68; 69; 119; 128; 159; 202; 291; 296]. Показано доминирование сибирского подтипа вируса КЭ на большей части территории РФ [37; 49; 58; 120; 315], однако мало изучена его связь с клиническими формами и исходами заболевания. В нормативных документах совершенно не представлена информация о специфической лабораторной диагностике КЭ и постановке диагноза у привитых, в то время как программа вакцинопрофилактики КЭ в большей или меньшей степени внедрена на эндемичных территориях. Показано, что эффективность вакцинопрофилактики КЭ проявляется в изменении структуры клинических форм в сторону более легкого течения с увеличением преимущественно лихорадочных форм и снижением доли менингеальных и очаговых форм болезни [32; 42]. В связи с этим требуют уточнения стандарты специфической лабораторной диагностики заболевания, а также выяснение причин заболеваемости и летальных исходов среди вакцинированных лиц.

Дифференциальная диагностика лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей затруднена, так как в основном ограничивается тестированием сыворотки крови на наличие антител к возбудителям КЭ и БЛ. При этом могут встречаться как серонегативные формы данных заболеваний [52; 128; 287], так и другие этиологические агенты, в частности, *B. miyamotoi* – новый патоген безэритемных форм боррелиоза, возбудители других нозологических форм, например, МЭЧ и ГАЧ. В зарубежной и отечественной литературе широко представлена информация в отношении эпидемиологических и клинических особенностей эритемной формы

БЛ. Вопрос этиологии безэритемной формы заболевания и роли *B. miyamotoi* в структуре этих форм изучен мало. В настоящее время безэритемная форма боррелиоза, а также заболевания МЭЧ и ГАЧ могут протекать под диагнозами «Клещевой энцефалит, лихорадочная форма», «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими», «Острая респираторная вирусная инфекция» и другие, при этом терапия вирусных и бактериальных инфекций принципиально различна. К моменту наших исследований (2009 г.) в мире не было данных о клинико-лабораторных подтвержденных случаях БМ. На сегодняшний день в отечественной и зарубежной литературе появляется все больше и больше информации по этому вопросу. Необходима высокая степень настороженности врачей-клиницистов в отношении боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, а усилия по его культивированию и изучению патогенеза этой инфекции должны быть приоритетными. Трансмиссивные клещевые инфекции, особенно КЭ и БЛ, в т.ч. БМ наносят большой урон экономике РФ вследствие отсутствия в ряде случаев четких алгоритмов и методов ранней диагностики этих заболеваний, а их социально-экономический ущерб на территории РФ до сих пор не изучен. В свою очередь оценка социально-экономического бремени болезней позволяет сформировать основу для принятия управленческих решений и организационных мероприятий, направленных на его снижение.

Все вышеизложенное определило цель и задачи данного диссертационного исследования.

Цель диссертационного исследования

Совершенствование эпидемиологического надзора за клещевым энцефалитом и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами в условиях сочетанности природных очагов, на основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма их дифференциальной диагностики.

Задачи диссертационного исследования

1. Провести анализ проявлений эпидемического процесса КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ на территории РФ и отдельно – Свердловской области.
2. Оценить социально-экономическое бремя КЭ и БЛ в РФ.
3. Разработать, оптимизировать и апробировать ПЦР-методики в режиме реального времени для выявления вируса КЭ и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

4. Провести молекулярно-биологический мониторинг распространения вируса КЭ и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.
5. Выявить эпидемиологические, клинико-лабораторные и молекулярно-генетические особенности КЭ и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами в условиях сочетанности природных очагов на современном этапе.
6. Оценить возможности специфической лабораторной диагностики КЭ и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами.
7. Изучить этиологическую роль и патогенный потенциал доминирующего на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ.
8. Научно обосновать пути совершенствования эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, включающие молекулярно-биологический мониторинг и алгоритм дифференциальной диагностики.

Научная новизна исследования

В ходе проведенного исследования таких проявлений эпидемического процесса как обращаемость населения по поводу присасывания клещей, территориальное распределение, динамика уровня и структуры заболеваемости КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ в РФ и по субъектам на современном этапе определены вероятные причины снижения заболеваемости данными инфекциями в период пандемии COVID-19.

Впервые в РФ проведена оценка социально-экономического бремени КЭ и БЛ, определен ущерб в денежном эквиваленте и число потерянных лет трудоспособной жизни (DALY) за один календарный год.

Впервые разработаны, оптимизированы, апробированы и зарегистрированы ПЦР-методики в режиме реального времени для одновременного выявления 4 клещевых патогенов (вируса КЭ, боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*/*Ehrlichia muris*), а также *B. miyamotoi* в клещах и клиническом материале; проведено расширенное изучение распространения данных патогенов на территории РФ.

Впервые проведена комплексная дифференциальная диагностика КЭ и схожих с ним по эпидемиологическим, клинико-лабораторным проявлениям бактериальных клещевых инфекций, изучена этиология безэритемных форм боррелиоза на примере эндемичной территории – Свердловской области, дана молекулярно-генетическая характеристика возбудителей. Впервые на территории Свердловской области показано существование сочетанных очагов КЭ, БЛ, БМ, МЭЧ и ГАЧ.

Впервые разработан и оптимизирован протокол, позволивший изолировать новый возбудитель безэритемных форм боррелиоза – *B. miyamotoi* непосредственно из крови пациентов, а также впервые в мире выделены и закреплены в культуре *in vitro* российские клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*.

Определены возможности молекулярно-биологических и серологических методов специфической лабораторной диагностики БМ.

Впервые выявлены три варианта динамики гуморального иммунитета (по IgG): сероконверсия, стабильные титры антител, обратная (негативная) динамика антител при остром и хроническом КЭ у вакцинированных пациентов, и определены критерии специфической лабораторной диагностики КЭ у привитых.

Проведена оценка этиологической роли и патогенного потенциала, доминирующего на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ на современном этапе. Впервые описана морфологическая картина поражений в центральной нервной системе, вызванных данным подтипом возбудителя, а также изучены нейровирулентные и нейроинвазивные свойства современных штаммов вируса КЭ сибирского подтипа.

Научно обоснован и усовершенствован алгоритм дифференциальной диагностики КЭ и бактериальных инфекций, передающихся клещами рода *Ixodes*, с целью оптимизации системы профилактических мероприятий после присасывания клеща и оказания медицинской помощи населению с клещевыми инфекциями в РФ на современном этапе.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Проведенная оценка современной эпидемиологической ситуации по КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ, включая период пандемии COVID-19, позволила выявить признаки эпидемиологического неблагополучия и необходимость совершенствования диагностики и мер профилактики данных инфекций.

2. Рассчитанный социально-экономический ущерб от КЭ и БЛ обусловлен как числом заболевших, так и стоимостью медицинской помощи в регионах РФ, поэтому величина и направленность средств, вкладываемых в профилактические, противоэпидемические и лечебные мероприятия, должна определяться дифференцировано, а применение предлагаемой медико-экономической методологии должно предоставить фактическую основу для принятия управленческих решений.

3. Разработанный и внедренный в практику работы учреждений различных ведомств диагностический комплекс ПЦР-методик в режиме реального времени позволяет усилить

микробиологический мониторинг (включая вирусологический и бактериологический) в системе эпидемиологического надзора и существенно повысить эффективность специфической лабораторной диагностики трансмиссивных клещевых инфекций, что, в свою очередь, способствует своевременному выбору правильной тактики ведения и лечения больных, а также своевременному проведению противоэпидемических мероприятий в природных очагах инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

4. Представлены эпидемиологические, клинико-лабораторные и молекулярно-генетические характеристики КЭ, БЛ, БМ, МЭЧ, ГАЧ на современном этапе. Результаты сравнительной оценки эпидемиологических особенностей, клинической и специфической лабораторной диагностики данных клещевых инфекций позволяют установить этиологию, расширить представление о характере эпидемиологических и клинико-лабораторных особенностях инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

5. Впервые в мире разработана технология культивирования нового возбудителя боррелиоза – *B. miyamotoi*, получены и закреплены российские клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*. Выделенные штаммы *B. miyamotoi* депонированы в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» (В-8814, В-8810, В-8813, В-8811, В-8812, В-8809).

6. Нуклеотидные последовательности полноразмерного гена белка E изолятов РНК и штаммов вируса КЭ (49 последовательностей), 5S-23S 16S рРНК и флагеллина *Borrelia* spp., включая *B. miyamotoi* (22 последовательности), полногеномные сиквенсы хромосом и плазмид штаммов *B. miyamotoi* (более 20 последовательностей), выделенные от больных данными инфекциями и из клещей депонированы в международный компьютерный банк данных GenBank.

7. Усовершенствованы информационная и диагностическая подсистемы эпидемиологического надзора на основе молекулярно-биологического мониторинга, включающего лабораторное подтверждение каждого случая заболевания КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ, МЭЧ, а также научно обоснован и внедрен алгоритм их дифференциальной диагностики.

Методология и методы исследования

Исследование носило многолетний и комплексный характер. В работе применены общенаучные подходы, специальные методы научного познания классической эпидемиологии (описательные и аналитические методы), классические вирусологические методы, а также микробиологические, иммунологические (серологические), иммуногистохимические, молекулярно-биологические, статистические и математические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Современная эпидемиологическая ситуация по КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ в РФ характеризуется сохранением эпидемиологического неблагополучия, несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости данными инфекционными заболеваниями.

2. Расчетное социально-экономическое бремя КЭ и БЛ в РФ, обусловленное заболеваемостью за один календарный год, составляет более 2 млрд. рублей и приводит к потере более 20,5 тыс. лет трудоспособной жизни, при этом различия социально-экономического бремени между регионами обусловлены как числом заболевших, так и стоимостью медицинской помощи.

3. Внедрение в практику разработанных и оптимизированных методик на основе ПЦР в режиме реального времени способствует совершенствованию эпидемиологического мониторинга природных очагов и повышает чувствительность специфической лабораторной диагностики заболеваний, экологически связанных с иксодовыми клещами.

4. Возбудители КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ широко распространены на территории РФ и за ее пределами; выявлена высокая частота микст-инфицирования клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*.

5. Дифференциальную диагностику лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей в пределах ареала *I. persulcatus* и *I. ricinus* на эндемичных территориях (в частности, на территории Свердловской области) следует проводить между КЭ, БЛ (эритемная и безэритемная формы), БМ, МЭЧ и ГАЧ; этиологическим агентом КЭ на территории Свердловской области является сибирский подтип вируса, БЛ – *B. garinii*, БМ – азиатский геновариант *B. myiamotoi*.

6. Специфическая лабораторная диагностика инфекций, передающихся иксодовыми клещами должна основываться на комплексном применении современных молекулярно-биологических и серологических методов исследования.

7. Сибирский подтип вируса КЭ, доминирующий на территории РФ, вызывает весь спектр клинических форм заболевания – от инapparантной до очаговых форм с летальным исходом, а современные изоляты (штаммы) вируса данного подтипа являются высоконейроинвазивными и нейровирулентными для лабораторных животных.

8. На основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма дифференциальной диагностики усовершенствованы информационная и диагностическая

подсистемы эпидемиологического надзора за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

Личное участие автора в получении результатов

Автором осуществлено планирование этапов исследования, проведен анализ данных отечественной и зарубежной литературы, а также лично или при его участии выполнены эпидемиологические, вирусологические, микробиологические, молекулярно-биологические исследования, статистический анализ. Проведена оптимизация условий и апробация разработанных ПЦР-методик в режиме реального времени для проведения молекулярно-биологического мониторинга иксодовых клещей и диагностики трансмиссивных клещевых инфекций. Автором лично проведены систематизация, анализ и обобщение полученных результатов проведенных исследований. Вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: постановка задач, экспериментальная работа, включая экспедиции в эндемичные очаги по клещевым инфекциям, обсуждение результатов, публикации, в том числе в международных базах данных, внедрение результатов работы в практическое здравоохранение.

Внедрение результатов исследования

В ходе проведенных исследований разработаны и зарегистрированы на территории РФ наборы реагентов на основе ПЦР в режиме реального времени для диагностики возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ – «АмплиСенс® *TBEV, B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum, E. chaffeensis/E. muris*-FL» (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/09026 от 22.02.2019 г.), и боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* – «АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL» (регистрационное удостоверение № РЗН/7316 от 11.04.2019 г.). Данные наборы реагентов широко внедрены в практику работы учреждений Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения, научно-исследовательских институтов.

Материалы работы использованы при составлении Санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3310-15 «Профилактика инфекций, передающихся иксодовыми клещами», Санитарных правил и норм СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Результаты исследований внедрены в практику работы ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга (Городской центр природно-очаговых инфекций), на базе которой проходила, в том числе, апробация разработанных ПЦР-методик в режиме реального времени.

Апробированные при проведении исследования методические подходы внедрены в научную и педагогическую работу в аспирантуре по специальности «Вирусология» в ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), используются в лекционном материале сертификационных курсов усовершенствования специалистов различного профиля «ПЦР-диагностика инфекционных заболеваний», проводимых на базе ФБУН «Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии» Роспотребнадзора, а также при чтении лекций врачам-эпидемиологам, инфекционистам, педиатрам, неврологам и другим специалистам, занимающимся проблемой природно-очаговых инфекций.

Материалы диссертации использованы при разработке:

1. Учебного пособия «Клещевой энцефалит» / Н. М. Колясникова, Н. А. Алешо, Н. Г. Политова. – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. – 2022. – 138 с.
2. Монографии «Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время)» / под ред. В. В. Погодина, А. А. Ишмухаметов. – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – 344 с. (Главы 1.1, 2.1, 4.6, 4.7, 4.9, 5.1, 5.3, 5.4, 5.5).
3. Монографии «Клещевой энцефалит в XXI веке» / под ред. В. И. Злобина. – М.: Наука, 2021. – 471 с. (Глава 7).
4. Монографии «Патология нейроинфекций, вызываемых вирусами комплекса клещевого энцефалита» (монография-атлас) / под ред. А. А. Ишмухаметова. – М.: Синтерия. – 2018. – 360 с. (Глава 4.1).
5. Kolyasnikova N. M. Insights from experience in the treatment of tick-borne bacterial coinfections with tick-borne encephalitis (Chapter 4) / N. M. Kolyasnikova, J. P. Sanchez-Pimentel, N. B. Pestov // Annual reports in Medicinal Chemistry (Medicinal chemistry of tick-borne encephalitis / Editor Dmitry I. Osolodkin). – 2022. – P. 157-242.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов определяется репрезентативным объемом проанализированных данных и их адекватным статистическим анализом. Материалы диссертационного исследования были доложены, обсуждены и рекомендованы к защите на заседании Апробационного Совета ФБУН «Центрального НИИ эпидемиологии»

Роспотребнадзора 27 декабря 2022 г. и на заседании Научной экспертной комиссии ФГАНУ «Федерального научного центра исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) 13 января 2023 г.

Результаты проведенных исследований представлены на следующих научно-практических мероприятиях: XVI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» (Москва, 2009); Научно-практическая конференция молодых ученых ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН (Москва, 2009); Научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов научно-исследовательских учреждений Роспотребнадзора. Биологическая безопасность в современном мире (Оболensk, 2009); 12th SAC Seminar. Combating Global Infections (Иркутск, 2009); Научно-практическая конференция, посвященная столетию со дня рождения основателя Института полиомиелита и вирусных энцефалитов Михаила Петровича Чумакова. Актуальные проблемы вирусологии (Москва, 2009); Научно-практическая конференция молодых ученых. Диагностика, профилактика и лечение инфекционных болезней (Москва, 2009); Научно-практический семинар Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, 2010); II Национальная конференция с международным участием. Нейроинфекции. Современные аспекты клещевых инфекций (Екатеринбург, 2010); II Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням (Москва, 2010); Научно-практическая конференция молодых ученых ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН (Москва, 2010); Научно-практическая конференция. Молекулярная диагностика инфекционных болезней (Москва, 2010); Научно-практическая конференция, проведенная по приказу «О проведении областного совещания инфекционистов» в соответствии с планом организационных мероприятий департамента здравоохранения администрации Тюменской области на 2010 г. (Тюмень, 2010); XV Научно-практическая конференция врачей-интернов медико-профилактического факультета послевузовского профессионального образования ММА им. И. М. Сеченова (Москва, 2010); VII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Молекулярная диагностика – 2010 (Москва, 2010); III Ежегодный всероссийский конгресс по инфекционным болезням (Москва, 2011); Научно-практическая конференция молодых ученых ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН (Москва, 2011); Научно-практический семинар, Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, 2011); IV Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням (Москва, 2012); Конференция молодых ученых ИПВЭ им. М. П. Чумакова РАМН (Москва, 2013); Российская научная конференция с международным участием. Актуальные проблемы клещевого энцефалита (Москва, 2013); Конференция молодых ученых и специалистов, посвященная 50-летию ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. Новые научные достижения молодых ученых в эпидемиологии, клинике, диагностике, лечении и профилактике инфекционных болезней (Москва, 2013); Научно-

практическая конференция молодых ученых и специалистов, посвященная 170-летию И. И. Мечникова (Москва, 2015); Научно-практический семинар, Детский медицинский центр Управления Делами Президента (Москва, 2015); 115th General meeting of the American Society for Microbiology (New Orleans, Louisiana, 2015); 49th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America (Boston, 2011); VIII Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2016); IX Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2017); XXII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Теория и практика клинической лабораторной диагностики (Москва, 2017); IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Молекулярная диагностика – 2017 (Москва, 2017); International symposium on tick-borne pathogens and disease ITPD 2017 (Vienna, Austria, 2017); Международная научно-практическая конференция. Молекулярная диагностика – 2018 (Минск, 2018); Третья Байкальская международная научная конференция по природно-очаговым трансмиссивным инфекциям, посвященная 100-летию образования Иркутского государственного медицинского университета (Иркутск, 2018); Научно-практическая конференция. Актуальные вопросы диагностики и клиники социально-значимых заболеваний (Иркутск, 2018); XI Ежегодный Всероссийский Конгресс по инфекционным болезням с международным участием. Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы (Москва, 2019); International symposium on tick-borne pathogens and disease ITPD 2019 (Vienna, Austria, 2019); 29th European congress of Clinical microbiology and Infectious diseases 2019 (Amsterdam, 2019); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020 (Москва, 2020); XII Ежегодный Всероссийский интернет-конгресс по инфекционным болезням с международным участием. Инфекционные болезни в современном мире: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика (Москва, 2020); VI Российский конгресс лабораторной медицины (Москва, 2020); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Эпидемиологический надзор за актуальными инфекциями: новые угрозы и вызовы, посвященной 100-летию со дня рождения академика И.Н. Блохиной (Москва, 2021); XIII Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены (Екатеринбург, 2021); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Актуальные вопросы профилактики инфекционных и неинфекционных болезней: эпидемиологические, организационные и гигиенические аспекты (Москва, 2021).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспортам специальностей 3.2.2. – Эпидемиология и 1.5.10 – Вирусология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, пунктам 2, 4, 5 паспорта специальности эпидемиология и пунктам 6, 7, 8, 10 паспорта специальности вирусология.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 77 печатных работ, в том числе научных статей отражающих основные результаты диссертации – 25 статей, из них: в изданиях из перечня ВАК при Минобрнауке – 18 статей, в журналах, включенных в международные базы (Web of Science, Scopus, PubMed) – 7 статей; 12 глав в четырех монографиях (3 – в отечественных и 1 – в зарубежной) и 1 учебное пособие.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 560 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 9 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспективы дальнейшей разработки темы, списка сокращений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 108 таблицами и 156 рисунками. Список цитируемой литературы включает 325 отечественных и 663 зарубежных источников.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОСТИ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ (ЭТИОЛОГИЯ, ЭКОЛОГИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ, КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ, ДИАГНОСТИКА, СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ)

1.1. Клещевой энцефалит

Клещевой энцефалит (КЭ) (синонимы: клещевой вирусный энцефалит (КВЭ), весенне-летний энцефалит, русский энцефалит, дальневосточный эндемический клещевой энцефалит, клещевой энцефаломиелит; Tick-borne encephalitis (TBE) – англ.) – природно-очаговая трансмиссивная вирусная инфекция с выраженной сезонностью, зависящей от периода активности иксодовых клещей, характеризуется преимущественным поражением центральной нервной системы (ЦНС) и отличается полиморфизмом клинического течения, с высокой частотой остаточных явлений в виде параличей, а также летальностью. В соответствии с «Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем» (МКБ-10) (1995 г.) КЭ представлен в рубрике А84 «Клещевой вирусный энцефалит» и включает коды: А84.0 «Дальневосточный клещевой энцефалит [русский весенне-летний энцефалит]»; А84.1 «Центральноевропейский клещевой энцефалит»; А84.8 «Другие клещевые вирусные энцефалиты»; А84.9 «Клещевой вирусный энцефалит неуточненный». Использование такой классификации в практике врача затруднительно, т.к. методы лабораторной диагностики, имеющиеся в арсенале врача, не позволяют проводить генотипирование вируса КЭ, которое в настоящий момент осуществляется, в основном, только в научных целях [78]. Кроме того, на сегодняшний день показано доминирование сибирского подтипа вируса КЭ на территории России [80; 190; 120; 315]. В этом случае, согласно выделению в МКБ-10 Дальневосточного и Центральноевропейского КЭ, необходимо включение и Сибирского КЭ с соответствующим кодом.

Первые упоминания о КЭ встречаются в записях церковных приходов XVIII века в Финляндии (Аландские острова), в которых были приведены описания болезни, сходной с КЭ. В XIX веке русскими врачами были также описаны случаи «таежного энцефалита» или

«двухфазного» менингоэнцефалита (регион Востока Российской империи), который встречался среди солдат, железнодорожных рабочих и лесорубов в период начала освоения и развития этого региона [78].

В Европе выявление случаев болезни среди населения началось с клинико-эпидемиологического описания Н. Schneider (1931 г.) 24 случаев асептического менингита в районе Neunkirchen (Нижняя Австрия), которые ретроспективно были расценены как КЭ. Несмотря на то, что исход заболевания был благоприятным, выздоровление многих пациентов оказалось длительным. Таким образом, Н. Schneider был первым, кто дал медицинское описание «эпидемическому острому серозному менингиту» (также известному как «Schneidersche Krankheit» в Австрии), который фактически являлся КЭ [78].

Однако приоритет в открытии вируса КЭ принадлежит российским ученым, которые под руководством профессора Л. А. Зильбера в 1937 г., работая в тяжелых условиях дальневосточной тайги открыли возбудитель, выделили многочисленные штаммы вируса КЭ, установили трансмиссивный механизм передачи возбудителя, описали основные черты эпидемиологии, клиники, патоморфологии болезни, испытали серотерапию и в дальнейшем разработали первую инактивированную «мозговую» вакцину против КЭ и доказали ее эффективность [78; 91]. История открытия и изучения КЭ отмечена героизмом исследователей и трагическими событиями – заболеванием и гибелью некоторых участников, а также арестом Л. А. Зильбера и двух исполнителей.

После открытия вируса КЭ на Дальнем Востоке СССР к исследованиям подключились специалисты из разных регионов, и оказалось, что патоген распространен на огромной территории России от восточных до западных границ, образуя природные очаги в разных ландшафтах, где обитают иксодовые клещи (*I. persulcatus* и *I. ricinus*). В 1948 г. возбудитель КЭ был впервые выделен за пределами СССР. Очаги этого заболевания были обнаружены в странах Северной (Финляндия, Норвегия, Швеция, Дания), Центральной (Чехословакия, Венгрия, Польша, Австрия, Словакия, Германия), Южной (Словения) и Западной Европы (Франция), а также странах Азии (Китае и Японии) [78; 680; 821; 874; 875; 910; 926].

Этиология

Согласно современной классификации вирусов, семейство флавивирусов (Flaviviridae) разделяют на 4 рода: флавивирусы (*Flavivirus*), пестивирусы (*Pestivirus*), пегивирусы (*Pegivirus*) и гепацивирусы (*Hepacivirus*), которые включают в себя 89 различных видов вирусов [78]. Род флавивирусы – самый многочисленный, в него входит более 50 видов вирусов. Флавивирусы

способны инфицировать широкий круг организмов, в том числе млекопитающих, членистоногих, птиц и рептилий. В большинстве случаев передача вирусной инфекции осуществляется вектором: через укус переносчика – комара или клеща, однако для некоторых флавивирусов вектор неизвестен. Это позволило условно разделить флавивирусы на несколько групп: вызывающие клещевые и комариные инфекции, а также вирусы, для которых вектор неизвестен. Многие флавивирусы способны вызывать заболевания человека, например, вирусы денге, желтой лихорадки, японского энцефалита, Западного Нила и клещевого энцефалита [78].

Вирус КЭ является наиболее важным с медицинской точки зрения представителем рода *Flavivirus* (от латинского слова «flavus» – желтый, относящийся к типовому вирусу семейства – вирусу желтой лихорадки). Вирусы семейства *Flaviviridae*, к которым относится вирус КЭ, включают в себя относительно просто устроенные РНК-содержащие сферические оболочечные вирусы, процесс их внутриклеточного развития протекает в цитоплазме зараженных клеток с участием вирусных и клеточных ферментов [78]. Вирион вируса КЭ имеет сферическую форму, 45-50 нм в диаметре. Несегментированный одноцепочечный РНК-геном вируса КЭ положительной полярности длиной около 11 000 нуклеотидов кодирует 3 структурных (С, рМ, Е) и 7 неструктурных генов (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) [611; 797]. Главным структурным белком вириона определен белок Е, который отвечает за такие важные биологические функции вируса, как сборка вириона, слияние мембран и рецепторное связывание. Он участвует в различных серологических реакциях и в стимуляции синтеза вируснейтрализующих антител и антигемагглютининов у иммунизированных животных. На основании нуклеотидной последовательности гена, кодирующего белок Е, в настоящее время выделяют 4 подтипа вируса КЭ: дальневосточный (подтип 1, прототипный штамм *Софьин*, выделен из мозга погибшего больного в 1937 г. в Приморском крае), европейский (центрально-европейский или западный, подтип 2, прототипный штамм *Neudoerfl*, выделен из клеща *I. ricinus* в 1971 г. в Австрии), сибирский (урало-сибирский, подтип 3, прототипные штаммы – *Васильченко* (выделен от больного с лихорадочной формой КЭ, в Новосибирской области) [480; 778], *Заусаев* (выделен от больного с хронической формой КЭ в Томской области) [190; 453; 577; 776; 855] и сравнительно недавно описанный байкальский (прототипный штамм 886-84) [77]. В литературе данный подтип именуется как подтип 5, изолирован от красно-серой полевки (*Clethrionomys rufocanus*) на территории Иркутской области в 1984 г. [55; 93; 105; 126; 502] (Рисунок 1). Каждый из подтипов вируса КЭ обладает собственным ареалом, в пределах которого отмечается его доминирование, ассоциирован с определенным видом клеща-переносчика и кругом позвоночных хозяев, обладает разным патогенным потенциалом для человека.

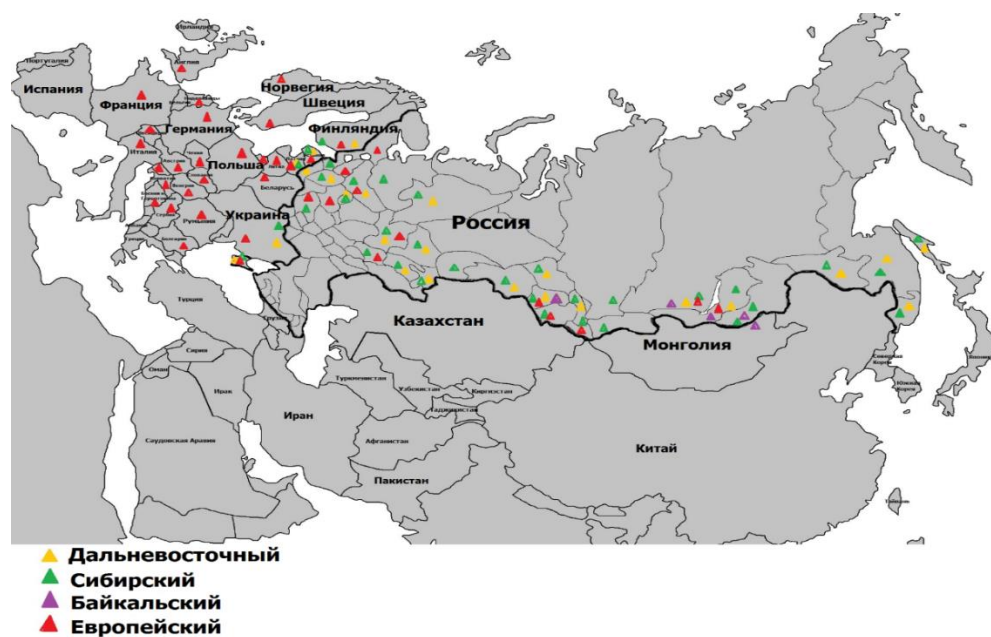
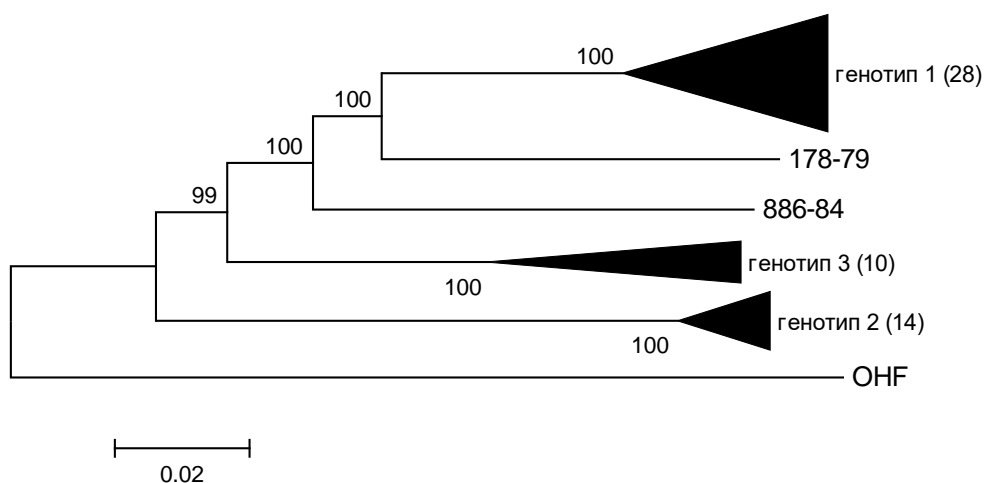


Рисунок 1 – Географическое распространение подтипов вируса КЭ на территории России [255]

В настоящее время выделяют еще два подтипа (генетические линии): 178-79 (изолирован от клещей *I. persulcatus* в 1979 г. в Иркутской области, в литературе именуется как подтип 4) [57; 93] и «гималайский» (изолирован от гималайского сурка *Marmota himalayana* на тибетском плато в Китае в 2018 г.) [357].

В. В. Погодиной с соавт. ранее были сформулированы ряд критериев, которые необходимо учитывать при выделении генетической линии как самостоятельного субтипа (подтипа или генотипа) вируса КЭ: 1) существенные отличия от известных серотипов вируса, обусловленные типоспецифическими антигенными детерминантами; 2) широта ареала; 3) стабильность циркуляции вируса, подтвержденная повторным выделением штаммов из природных резервуаров; 4) установление роли в этиологии манифестных форм заболевания; 5) влияние штаммов на формирование популяционного иммунитета населения; 6) недостаточная эффективность стандартных диагностических препаратов и, возможно, вакцин [84]. Ряду критериев из последних открытых трех подтипов: байкальский (включающий штаммы группы 886-84), 178-79 и гималайский соответствует в настоящее время только байкальский. Критериями выделения в отдельный подтип послужили 12% и более различий нуклеотидных последовательностей исследуемого фрагмента гена E при попарном сравнении штаммов вируса КЭ между подтипами, 9% и менее различий – внутри подтипов. Было установлено, что аминокислотная последовательность штамма 886-84 (фрагмент белка E длиной 53 аминокислотных остатков) имеет лейцин (Leu) в положении 204 а.о. как у подтипа 3 (сибирского) и аспарагин (Asp) в положении 234 а.о., как у подтипа 1 (дальневосточного) и 2 (европейского) [4; 67] (Рисунок 2, Таблица 1).

178-79 и «гималайский» подтипы пока могут быть определены как кандидаты в подтипы вируса КЭ.



Состав кластеров: подтип 1 (генотип 1) - X07755, AV022703, AV001026, DQ989336, AY182009, AY217093, JF316707, JF316708, FJ997899, EU816450-EU816455, AY169390, FJ906622, GQ228395, FJ402885, FJ402886, DQ862460, GU121642, HQ201303, HQ901367, HQ901366, HM859894, HM859895, JN003205, Sofjin [94]; подтип 2 (генотип 2) - TEU27495, TEU27491, TEU39292, AF091010, EU106868, DQ401140, GV266392, HM535610, HM535611, HM120875, GU183379- GU183381, GU183383; подтип 3 (генотип 3) - L40361, AF527415, DQ486861, FJ968751, JN003206- JN003209, GU183382, GU183384 [78]

Рисунок 2 – Филогенетическое древо, демонстрирующее уровень генетического родства 54 штаммов вируса КЭ, полученное на основании расшифровки кодирующей области полипротеина (10242 нуклеотидных пар) [78]

Таблица 1 – Уровень нуклеотидных и аминокислотных замен между подтипами вируса КЭ и штаммом 886-84 (%) (кодирующая область полипротеина, длина 10242 н.п.) [255]

Уровень нуклеотидных замен (%) (кодирующая область полипротеина, длина 10242 н.п.)			
	подтип 1	подтип 2	подтип 3
подтип 1	4,3		
подтип 2	16,4	2,3	
подтип 3	14,4	15,2	5,4
178-79	11,0	16,0	14,1
886-84	12,5	15,6	13,7
Уровень аминокислотных замен (%) (полная аминокислотная последовательность полипротеина, длина 3414 а.о.)			
	подтип 1	подтип 2	подтип 3
подтип 1	1,3		
подтип 2	6,9	0,9	
подтип 3	5,3	6,2	1,9
178-79	3,1	6,1	5,2
886-84	3,9	6,0	4,2

Примечание: серым цветом выделен уровень нуклеотидных и аминокислотных замен внутри каждого подтипа.

Несмотря на появление новых подтипов или кандидатов в подтипы на сегодняшний день среди всех подтипов вируса КЭ сибирский является наиболее генетически гетерогенным и

географически распространенным [76]. Сибирский подтип вируса КЭ отличается от дальневосточного и европейского наличием аминокислоты лейцин (Leu или L) в позиции 206 гена E. В позиции 234 гена E штаммы сибирского подтипа также имеют маркерные аминокислоты: гистидин (His или H) или глутамин (Gln или Q), что делит их на две подгруппы (азиатскую и восточно-европейскую) с прототипными штаммами *Васильченко* и *Зайсаев* [54]. В европейской популяции сибирского подтипа помимо восточноевропейского топоварианта выделяется балтийская ветвь [303; 458]. Недавно внутри сибирского подтипа была открыта Обская генетическая линия, найденная в Новосибирской и Кемеровской областях [598; 775] (Рисунок 3).

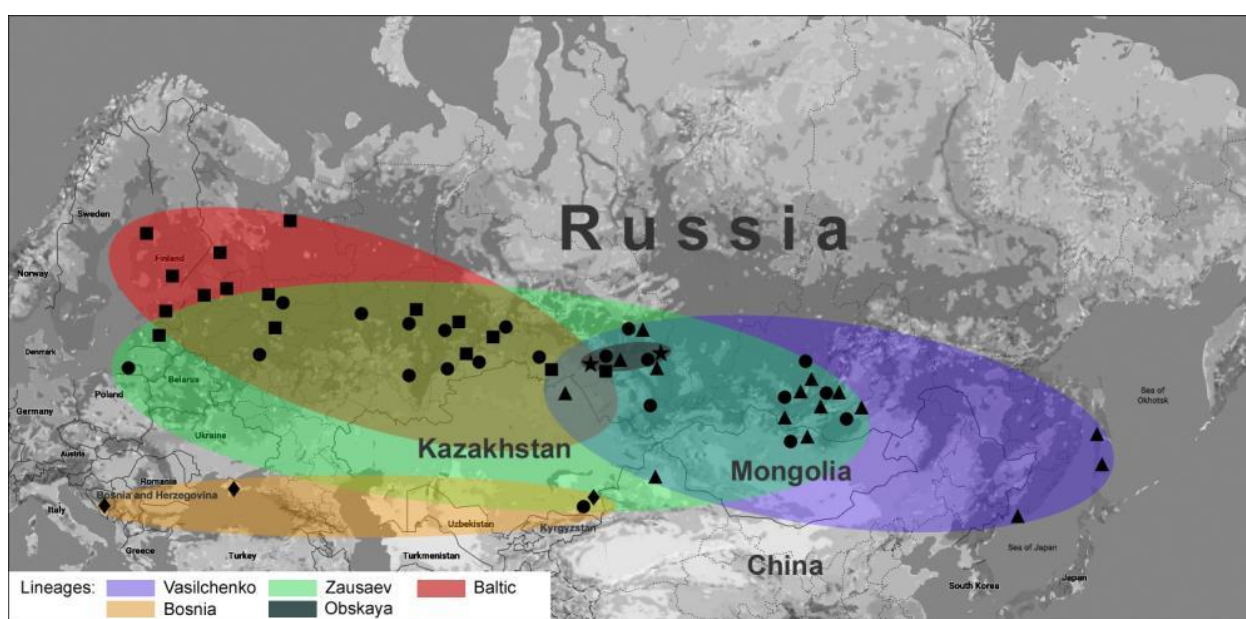


Рисунок 3 – Области распространения различных генетических линий сибирского подтипа вируса КЭ [598]

Экология

Для природных очагов трансмиссивных клещевых инфекций, в том числе КЭ, характерна трехчленная паразитарная система – возбудитель, переносчик и резервуар. По современным представлениям, иксодовые клещи являются не только основными переносчиками, но и могут служить резервуаром вируса КЭ, поскольку для них характерны длительная продолжительность жизни и пожизненное сохранение возбудителя [78; 144]. Арал вируса КЭ в значительной степени совпадает с ареалами основных переносчиков – клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*, в сибирских регионах также с *I. pavlovskyi* (Рисунок 4).



Рисунок 4 – Ареал обитания клещей *Ixodes persulcatus* и *Ixodes ricinus* на территории Евразии [144]

Основные переносчики, благодаря особенностям биологии, высокой численности и специфике взаимоотношений с возбудителем, обеспечивают его устойчивую циркуляцию в природном очаге [35]. Переносчиками вируса КЭ, играющими менее выраженную эпидемиологическую роль, могут быть клещи *I. trianguliceps*, *I. apronophorus*, *I. crenulatus* и др. [78; 144]. Накопленные к настоящему времени сведения позволяют говорить также о значительной роли в передаче вируса КЭ на некоторых участках ареала, где отсутствуют основные переносчики, второстепенных (факультативных) переносчиков – клещей *Dermacentor marginatus*, *D. silvarum*, *D. nuttalli*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis concinna*, *H. japonica* и др. Второстепенные переносчики более или менее регулярно участвуют в циркуляции возбудителя, но не способны длительно поддерживать ее самостоятельно. Их значение может повышаться при падении численности основных переносчиков [35].

Резервуаром, кроме клещей, являются животные – прокормители клещей, носители возбудителей инфекции и хранители их в межэпизоотический период. К настоящему времени вирус КЭ выделен или обнаружен более чем в 130 видах позвоночных животных из классов млекопитающих, птиц и рептилий [78; 144]. К естественным резервуарным хозяевам патогена относят тех животных, которые многочисленны, обладают высокой скоростью обновления популяции, восприимчивы к вирусу, в их организме может развиваться длительная вирусемия, являются прокормителями различных фаз развития клещей. В эту группу входит широкий спектр мышевидных грызунов (рода *Clethrionomys* или *Myodes*, *Apodemus*, *Mus*, *Microtus*, *Micromys*,

Pitymys, *Arvicola*, *Glis*, *Sciurus* и *Citellus*), насекомоядных (рода *Sorex*, *Talpa*, *Erinaceus*) [78; 144]. Экологическая коадаптация вируса КЭ и его естественных хозяев настолько сильна, что инфекция, как правило, протекает без клинических проявлений и не приводит к ослаблению или гибели животного. Многие резервуарные хозяева обладают врожденной резистентностью к вирусу КЭ [78].

Роль птиц в поддержании природных очагов вируса КЭ неоднозначна. большей частью они являются дополнительными хозяевами вируса, но в ряде случаев, особенно в диссеминации возбудителя, роль их может быть довольно существенной. Приводятся данные об изоляции штаммов вируса КЭ от рябчика, серой утки, широконоски, конька лесного, овсянки обыкновенной, дрозда-рябинника, зяблика, юрка, скворца обыкновенного, также приводится информация об обнаружении РНК вируса не только среди лесных, но также и синантропных птиц (сизый голубь, полевой воробей), в том числе видов, принадлежащих к водной и околоводной группам (гусеобразные, кулики, ласточка-береговушка). Всего на настоящий момент описано порядка 150 видов птиц, от которых был изолирован вирус КЭ или у которых обнаруживались антитела к этому возбудителю [78].

Случайными хозяевами обычно считают животных, которые могут быть инфицированы вирусом КЭ в природе или в лабораторных условиях, однако в силу физиологических или экологических особенностей являются тупиком для вируса и не принимают существенного участия в его циркуляции. По всей видимости, случайными хозяевами являются рукокрылые и пресмыкающиеся, которые поддерживают репродукцию возбудителя в лабораторных экспериментах, однако в природе не являются ни основными прокормителями клещей, ни естественными хозяевами патогена. Человек также является типичным примером случайного хозяина вируса КЭ [78].

Зоной доминирования дальневосточного подтипа (генотип 1) вируса КЭ является дальневосточная часть Евразии [4; 156; 279; 477; 791; 926]. Также данный подтип был обнаружен в других регионах Евразии, включая страны Балтии, Республику Молдову, территории Республик Коми, Башкортостан, Урала, Сибири и европейской части России [191; 506; 601; 631; 967], а также страны Азии – Китай [477], Монголию [53; 332] и Японию [791]. Основным переносчиком дальневосточного подтипа вируса КЭ являются клещи *I. persulcatus*, дополнительными – *H. japonica*, *H. concinna*, *D. silvarum*, а также *I. nipponensis*, *I. pavlovskiyi*, *H. longicornis* и др. [19; 40]. В северо-восточных эндемичных районах Китая помимо основного вектора *I. persulcatus*, вирус КЭ может переноситься клещами *D. silvarum*, *H. concinna* и *H. japonica* [943], а также *H. longicornis* [970]. На острове Сахалин зарегистрировано три вида иксодовых клещей, которые являются переносчиками вируса КЭ – *I. persulcatus*, *H. concinna* и *I.*

angustus, собранные с диких мелких млекопитающих [40]. В Южной Корее потенциальными переносчиками вируса КЭ рассматриваются – клещи *H. longicornis*, *H. flava*, *H. japonica* и *I. nipponensis* [586]. В природных очагах о. Хоккайдо основным переносчиком возбудителя КЭ является клещ *I. ovatus*, а его прокормителями – красно-серая полевка (*Clethrionomys rufocanus*) и большая японская полевая мышь (*Apodemus speciosus*) [677, 876], а также сторожевые собаки, из которых были выделены первые штаммы вируса в Японии [333]. На территории всех ландшафтов дальневосточного региона доминирующими видами мышевидных грызунов – резервуара вируса КЭ – являются восточно-азиатская мышь (*Apodemus peninsulae*), красно-серая полевка (*Myodes rufocanus*), красная полевка (*Myodes rutilus*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*) [78]. В европейских странах – рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus*), обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus*), желтогорлая мышь (*Apodemus flavicollis*) [915].

Дальневосточный подтип вируса КЭ может вызывать различные формы заболевания – от субклинических до очаговых с летальным исходом [481; 824]. Сложилось стойкое представление о том, что на Дальнем Востоке КЭ характеризуется особой тяжестью инфекционного процесса с высокими показателями неблагоприятных исходов [154; 274; 309]. Подобная картина наблюдается на территории прилегающего Китая [893]. За 80-летний период изучения КЭ на Дальнем Востоке показатель летальности в Приморском крае составил 17%, в Хабаровском крае – 10,9% [75; 156]. В 2012 г. летальность снизилась до 3,4%, а в 2015 г. составила 0% [155]. Динамика снижения заболеваемости и летальности прослеживается и в Китае [926]. В Западной Сибири (в Новосибирской области) зарегистрированы случаи геморрагических форм КЭ дальневосточного подтипа с летальным исходом [937].

Установлено, что зоной абсолютного доминирования европейского подтипа (генотип 2) вируса КЭ являются Центральная и Северная Европа. Однако его распространение простирается от Франции и Нидерландов на западной границе до Южной Кореи – самого восточного региона [636; 678; 942]. Более 80% выявленных штаммов в странах Балтии принадлежат к европейскому подтипу [501; 765]. В Западной и Восточной Сибири лишь небольшой процент (менее 10%) идентифицированных штаммов вируса КЭ характеризуется как европейский подтип [473].

Основным переносчиком и резервуарным хозяином европейского подтипа вируса КЭ в Европе является клещ *I. ricinus*. На территории Восточной и Западной Сибири, за пределами основного ареала, штаммы вируса КЭ европейского подтипа были изолированы от таежных клещей *I. persulcatus*. В таежных клещах вирус КЭ европейского подтипа был также обнаружен на территории Финляндии [922]. Кроме того, данный подтип вируса был обнаружен и в других видах клещей родов *Ixodes* (*I. trianguliceps*, *I. gibbosus*, *I. pavlovskiyi*, *I. nipponensis*), *Dermacentor* (*D. marginatus*, *D. reticulatus*, *D. pictus*), *Haemaphysalis* (*H. concinna*, *H. longicornis*, *H. flava*) и

Hyalomma (H. marginatum) [350; 462; 491; 809; 814]. Например, в восточной Польше вирус КЭ европейского подтипа был обнаружен в клещах *D. reticulatus* [813]. Имеются сообщения об изоляции штаммов вируса КЭ европейского подтипа из клещей *D. marginatus* на территории Угловского района Алтайского края, в Крыму, в Карагандинской области Республики Казахстан [205; 809].

Резервуарными хозяевами, играющими основную роль в передаче вируса КЭ, в том числе европейского подтипа, являются представители отрядов грызуны (*Rodentia*) и насекомоядные (*Eulipotyphla*). На территории Европы европейский подтип выделяли от рыжей полевки (*Myodes glareolus*), лесной мыши (*Apodemus uralensis*), обыкновенной белки (*Sciurus vulgaris*), желтогорлой мыши (*Apodemus flavicollis*), бурозубки (*Sorex*) и др. [307]. На территории Южной Кореи – от полевой мыши (*Apodemus agrarius*) [350; 678]. В Восточной Сибири штаммы европейского подтипа были изолированы от суслика длиннохвостого, узкочерепной полевки, лесной мыши, красной полевки [189], бурозубки [479]. На территории Западной Сибири данный подтип был выделен от красно-серой полевки (*Myodes rufocanus*), красной полевки (*M. rutilus*), плоскочерепной полевки (*Alticola strelzovi*), большеухой полевки (*A. macrotis*), узкочерепной полевки (*Microtus gregalis*), полевки экономки (*M. oeconomus*), а также от зайцеобразных – алтайской пищухи (*Ochotona alpina*) [205]. Европейский подтип вируса КЭ также выделяли от более крупных животных – представителей отрядов Зайцеобразные (*Lagomorpha*), Плотоядные (*Carnivore*) и Парнокопытные (*Artiodactyla*). Важную роль в резервации вируса КЭ, а также в его переносе на дальние расстояния играют птицы. Вирус КЭ европейского подтипа был изолирован от многих видов птиц, главным образом, из отряда Воробьинообразных (*Passeriformes*). Вирус выделяли от дрозда-рябинника (*Turdus pilaris*), дрозда-белобровика (*Turdus iliacus*) и других *Turdus spp.*, галки (*Corvus monedula*), черной вороны (*Corvus corone*), сороки (*Pica pica*), обыкновенного скворца (*Sturnus vulgaris*), обыкновенного жулана (*Lanius collurio*), юрка (*Fringilla montifringilla*), зяблика (*Fringilla coelebs*), обыкновенного клеста (*Loxia curvirostra*), чечетки (*Carduelis flammea*), лесного конька (*Anthus trivialis*), белой и желтой трясогузок (*Motacilla alba*, *Motacilla flava*), овсянковых (*Emberiza spp.*), обыкновенной вертишейки (*Jynx torquilla*), рябчика (*Bonasa Bonasia*), каростели (*Crex Crex*), вальдшнепа (*Scolopax rusticola*), морянки (*Clangula hyemalis*), турпана (*Melanitta fusca*), чирка трескунка (*Anas querquedula*), лысухи (*Fulica atra*) [621], от сороки (*Pica pica*) и сизого голубя (*Columba livia*), от горного конька (*Anthus spinoletta*) [205].

Европейский подтип вируса КЭ, как правило, вызывает заболевание с более мягким течением и благоприятным исходом, по сравнению с КЭ, вызванным дальневосточным или сибирским подтипами, и в основном ассоциируется с двухволновым течением КЭ, которое

наблюдается у 74-85% пациентов [48; 76; 411, 941; 986]. До настоящего времени не сообщалось о хронических формах заболевания, вызванных данным подтипом. Клиническая картина инфекции варьирует от субклинических форм до случаев КЭ с поражением ЦНС с тяжелыми и сохраняющимися после заболевания неврологическими последствиями (до 10% случаев). Уровень летальности колеблется от 1% до 2% [413; 610; 685; 723]. Смертельные случаи в основном наблюдаются у пожилых или иммунокомпromетированных пациентов [531]. Описанная в Иркутской области клиника КЭ, вызванная штаммом вируса европейского подтипа (IG-98) у больного человека, не отличалась от таковой в Европе и характеризовалась умеренной лихорадкой и двухфазным течением, без каких-либо остаточных явлений [78].

Сибирский подтип (генотип 3) вируса КЭ является наиболее распространенным и встречается в большинстве регионов России – Восточной и Западной Сибири, Урала, европейской части, в том числе на Крымском полуострове, Дальнем Востоке [76; 191; 233; 598; 599; 601; 783; 809; 936], а также в Монголии [679], Казахстане, Кыргызстане [328; 556; 702; 917], Финляндии, странах Балтии [458; 783], Украине [191; 775] и Балканском полуострове [779]. Основным переносчиком и резервуарным хозяином сибирского подтипа вируса КЭ в Европе является клещ *I. ricinus* [120; 868], также показано, что на севере Финляндии сибирский подтип вируса передается и таежным клещом *I. persulcatus* [869]. На территории России штаммы вируса КЭ сибирского подтипа изолируют как от клещей *I. persulcatus*, так и *I. ricinus* [96; 190; 120; 151]. Резервуарными хозяевами сибирского подтипа вируса КЭ являются темная полевка (*Microtus agrestis*), рыжая полевка (*Myodes glareolus*), обыкновенная бурозубка (*Sorex araneus*), желтогорлая мышь (*Apodemus flavicollis*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*) [915; 933].

Сибирский подтип вируса КЭ вызывает весь спектр клинических проявлений – от субклинических до очаговых с летальным исходом [123]. Также данный подтип связан с хроническими формами заболевания [147; 232; 453]. Ранее сформированные представления о легком и доброкачественном течении КЭ, вызванного сибирским подтипом вируса пересматриваются.

Байкальский подтип (генотип 5) вируса КЭ был найден в Республике Бурятия, в Иркутской и Читинской областях Восточной Сибири, Новосибирской области и в Северной Монголии [4; 303; 502; 595; 601]. Основным переносчиком и резервуарным хозяевом является клещ *I. persulcatus* [55; 78; 105; 502]. А резервуаром среди мелких млекопитающих – красно-серая полевка (*Clethrionomys rufocanus*), красная полевка (*Myodes rutilus*), полевка экономка (*Microtus oeconomus*), азиатская лесная мышь (*Apodemus peninsulae*), полевка узкочерепная (*Microtus gregalis*), домовая мышь (*Mus musculus*), серая полевка (*Microtus arvalis*), даурский хомячок (*Cricetulus barabensis*), суслик длиннохвостый (*Urocyon undulatus*), из крупных рогатых

животных – корова, т.к. из молока коровы был выделен штамм данного подтипа вируса [55; 78; 105].

В настоящее время имеется мало информации о спектре клинических форм и исходов, которые связывают с байкальским подтипом вируса КЭ. Однако имеется информация о выделении данного подтипа от больных людей КЭ [78], а также в 2008 г. на территории Булганского аймака был зарегистрирован летальный исход, этиологическим агентом которого явился байкальский подтип вируса КЭ [53; 78; 690].

Подтип 178-79 (генотип 4) – единственный штамм, который был выделен в 1979 г. из клеща *I. persulcatus* на территории Иркутской области. Филогенетический анализ показал, что данный штамм ближе к дальневосточному подтипу, а чередование аминокислот в структуре полипротеина характерно для двух или трех подтипов в пределах одного гена [57; 93; 601]. В настоящее время информация о резервуарных хозяевах для данного подтипа отсутствует. Учитывая, что штамм 178-79 известен только один, на сегодняшний день он может быть определен только как кандидат в подтипы вируса КЭ.

Гималайский подтип (вирусная РНК) был выделен в Китае из дыхательных путей дикого грызуна гималайского сурка (*Marmota himalayana*), который обитает на тибетском плато в Китае [357]. При филогенетическом анализе гена Е и полного генома обнаружилось, что штаммы Him-TBEV образуют отдельные ветви, независимые от ветвей четырех общепризнанных подтипов вируса КЭ. Информация о переносчиках данного подтипа отсутствует. В настоящее время этот подтип, как и подтип 178-79 может быть определен только как кандидат в подтипы вируса КЭ.

В настоящее время широта ареала, роль в патологии человека, стабильность циркуляции и другие характеристики для кандидатов в подтипы – 178-79 и гималайского пока неизвестны.

Таким образом, европейский подтип распространен по всей Европе, включая европейскую часть России, в то время как сибирский и дальневосточный подтипы присутствуют в основном в азиатской части России и Азии. В некоторых регионах сосуществуют два или все три основных подтипа вируса КЭ (например, страны Балтии, Сибирь, Украина). В Европе КЭ, вызванный европейским подтипом вируса КЭ, обычно приводит к довольно легкой форме заболевания с летальностью менее 2%. КЭ, вызванный сибирским подтипом вируса КЭ, часто связан с непаралитической лихорадочной формой заболевания, хотя существует тенденция к персистенции вируса, т.е. хроническому течению болезни [453]. Хронические формы КЭ практически не встречаются в Европе [453; 610; 925]. Считается, что КЭ, вызванный дальневосточным подтипом вируса имеет наиболее тяжелое течение и связан с высокими показателями летальности [610]. Сообщалось о геморрагических формах КЭ в России, вызванных дальневосточным подтипом возбудителя, которые обычно не встречаются в Европе

[937]. Необходимо отметить, однако, что подтип вируса КЭ не является единственным фактором, определяющим тяжесть заболевания. Как легкое, так и тяжелое течение КЭ могут быть связаны с любым из подтипов вируса. Другие факторы, которые могут оказывать влияние на развитие КЭ включают дозу вируса, возраст, генетическую предрасположенность, состояние иммунитета (включая вакцинальный статус против КЭ) и наличие сопутствующих заболеваний у человека [347; 377; 398; 685; 801; 873; 966].

Эпидемиология

КЭ является эндемичным для центральных регионов Европы и Азии, простираясь от восточной Франции до северной Японии и от севера России до Албании. Ежегодно в мире регистрируется до 12000 случаев заболевания КЭ [915]. В настоящее время случаи КЭ официально зарегистрированы в 29 европейских странах: Австрии, Беларуси, Бельгии, Болгарии, Боснии и Герцеговине, Великобритании, Венгрии, Германии, Греции, Дании, Италии, Латвии, Литве, Нидерландах, Норвегии, Польше, Румынии, России, Сербии, Словакии, Словении, Финляндии, Франции, Хорватии, Чехии, Швейцарии, Швеции, Эстонии, Украине. К азиатским странам с зарегистрированными случаями КЭ или вирусной активностью относятся Китай, Япония, Казахстан, Кыргызстан, Монголия и Южная Корея [915] (Рисунок 5).



Розовый цвет – страны с подтвержденными случаями КЭ, желтый цвет – страны без статистики по заболеваемости КЭ, но где отмечается вирусная активность.

Рисунок 5 – Распространение КЭ в мире

Заболеваемость КЭ на территории Европы распределена крайне неравномерно. Максимальное среднегодовое число случаев заболевания за период 1991-2021 гг. отмечено в Чехии (около 610 случаев), в Латвии и Литве (около 390 случаев на каждой территории), в Германии (около 300 случаев), в Польше и Словении (около 200 случаев на каждой территории), в Швеции (около 180 случаев) и Швейцарии (около 150 случаев).

В Азии наиболее эндемичной территорией является Казахстан, хотя среднегодовое число случаев КЭ в этой стране не велико и составляет 35.

На территории Евразии основным природным очагом КЭ является Россия, где за 31 год наблюдения (1991-2021 гг.) среднегодовое число случаев заболевания составило 4356. За всю историю изучения КЭ в России самый высокий уровень заболеваемости был зарегистрирован в 1996 г. (7,0 на 100 тыс. населения), самый низкий в 2020 г., когда показатель инцидентности составил 0,66 на 100 тыс. населения и было зарегистрировано 967 случаев заболевания, из которых 18 (1,9%) закончились летальным исходом. В 2021 г. было зарегистрировано 1010 случаев заболевания (0,69 на 100 тыс. населения), умерли от КЭ 17 человек (1,7%). При этом в первый год пандемии COVID-19 (в 2020 г.) в ряде стран Европы был отмечен рост заболеваемости КЭ. Так, например, в Австрии (216 случаев), Чехии (853 случая), Германии (708 случаев) и Швейцарии (455 случаев) количество зарегистрированных случаев КЭ превысило средний многолетний уровень заболеваемости (Таблица 2) [915].

Очевидно, что неблагоприятная эпидемиологическая обстановка, связанная с новой коронавирусной инфекцией, по-разному отразилась на заболеваемости КЭ на территории эндемичных по этой инфекции стран. Вероятные причины резкого снижения заболеваемости КЭ в РФ будут рассмотрены в главе 3 настоящего диссертационного исследования.

В России заболеваемость КЭ характеризуется неравномерным распределением по территории с периодическими несинхронными подъемами и спадами заболеваемости, в различных регионах страны. Неравномерность территориального распределения заболеваемости обусловлена сочетанным действием природно-климатических и социальных факторов. В РФ эндемичными по КЭ является большинство Федеральных округов (ФО). На их территории в пределах распространения вируса КЭ и клещей-переносчиков существует более 30 тысяч природных очагов, каждый из которых функционирует как автономная паразитарная система [144]. Начиная с 1990-х гг. XX века свыше 90% случаев заболевания регистрируется на территориях трех ФО – Сибирского, Уральского и Приволжского, при этом традиционно наибольшее количество случаев КЭ отмечается в Сибирском ФО.

Сочетание следующих условий свидетельствуют о том, что территория считается эндемичной по КЭ: регистрация лабораторно подтвержденных случаев КЭ, наличие

подтвержденных случаев заболевания при активном лабораторном обследовании лихорадящих больных с неустановленным диагнозом, больных с менингеальными симптомами и очаговыми поражениями головного и спинного мозга, наличие антител к вирусу КЭ среди непривитого населения и у животных-прокормителей клещей при условии распространения иксодовых клещей на территории в течение 5-летнего периода, наличие в клещах возбудителя [256]. Заболевание людей считается одним из значимых показателей активности природного очага КЭ.

Характерной особенностью КЭ в РФ является наличие периодических подъемов заболеваемости с интервалом в 3 года, которые обусловлены экологией возбудителя и его переносчиков (иксодовых клещей) и периодов высокой активности природных очагов с интервалом в 10-11 лет, связанных с биологией основных прокормителей клещей (теплокровных животных).

Наблюдается увеличение географического распространения зон риска КЭ, а также общее увеличение числа зарегистрированных случаев КЭ в Европе. В последние годы сообщалось об эндемичных по КЭ территориях на высоте до 2100 метров над уровнем моря [730; 924; 934], новых эндемичных зонах в ранее незатронутых альпийских регионах западной Австрии [558] и Швейцарии. Впервые было отмечено распространение вируса КЭ на северных территориях России и Норвегии в районах выше 65⁰ северной широты [529], что обусловлено адаптацией некоторых разновидностей клещей к новым ландшафтно-климатическим условиям и наблюдающейся общей мезофилизацией климата. Недавно вирус КЭ, а также один автохтонный случай КЭ у человека был выявлен в Великобритании [935]. Заметный ежегодный рост числа случаев заболевания КЭ за последние годы наблюдается в странах Центральной Европы, таких как Австрии (КЭ наиболее часто встречается у непривитых лиц), Чехии, Германии, Швейцарии, а также странах Северной Европы – Швеции, Финляндии, Норвегии, Латвии. Количество эндемичных территорий по КЭ, а также общее число зарегистрированных случаев заболевания КЭ за последние несколько десятилетий увеличилось [897; 915].

В России официальная регистрация и учет случаев заболевания КЭ ведется с 1944 г., с тех пор и до настоящего времени было зарегистрировано два больших подъема заболеваемости. Первая волна достигла своего пика в середине 1950-х гг., когда было выявлено более 5 тыс. случаев в течение одного сезона. Затем отмечался длительный постепенный спад заболеваемости до середины 1970-х гг. Следующий подъем достиг максимума в 1996 и 1999 гг., при этом цифры заболеваемости достигли небывало высокого уровня: 7,0 на 100 тыс. населения, или более 10 000 случаев в абсолютном выражении (Рисунок 6).

Таблица 2 – Случаи КЭ в Европе и России

Страны	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Албания	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Австрия	128	84	102	178	109	128	99	62	41	60	54	60	82	54	100	84
Беларусь	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	61	18	53	44	46	108
Бельгия	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Босния и Герцеговина	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Болгария	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Китай	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Хорватия	60	27	76	87	59	57	25	24	26	18	27	30	36	38	28	20
Чехия	356	337	618	619	727	571	412	422	490	709	633	647	606	507	642	1028
Дания	-	-	-	2	-	-	2	3	4	3	3	1	4	8	2	2
Эстония	68	163	166	177	175	177	404	387	185	272	215	90	237	182	164	171
Финляндия	-	14	25	16	23	8	19	16	22	42	33	38	16	29	16	18
Франция	1	1	4	3	4	1	2	2	5	5	8	4	3	8	4	10
Германия	44	142	118	306	226	114	211	148	115	133	255	239	277	274	432	544
Греция	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Венгрия	299	190	339	264	234	246	102	74	69	54	55	80	114	89	54	57
Италия	0	2	2	8	6	8	8	11	5	15	19	6	14	23	22	14
Япония	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Казахстан	20	19	12	17	22	30	43	38	60	44	35	55	30	50	49	33
Кыргызстан	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Латвия	227	287	791	1366	1341	736	874	1029	350	544	303	153	365	251	142	170
Литва	14	17	198	284	427	310	645	548	171	419	298	168	763	425	243	462
Молдова	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Монголия	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	6
Недерланды	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Норвегия	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	0	2	1	4	4	5
Польша	4	8	241	181	267	259	201	208	208	170	210	126	339	262	177	317
Румыния	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Россия	5194	6239	7571	5640	5935	10371	6804	7531	10011	6010	6569	5231	4773	4178	4551	3494
Сербия	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	6	1
Словакия	24	16	51	60	89	82	76	54	63	92	75	62	74	70	50	91
Словения	118	80	197	531	157	406	274	127	150	196	260	262	282	199	197	372
Южная Корея	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Швеция	68	84	48	116	68	45	74	65	53	133	128	104	101	174	126	161
Швейцария	37	66	44	97	60	62	123	68	112	89	96	52	114	131	204	238
Тунис	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Украина	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	28	4	8	7
Великобритания	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: «-» – информация не представлена.

Продолжение Таблицы 2

Страны	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Албания	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Австрия	45	87	79	62	113	52	98	80	64	89	116	154	108	216	128
Беларусь	82	66	88	91	108	122	109	119	77	141	142	135	171	108	102
Бельгия	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Босния и Герцеговина	-	-	-	2	-	-	-	5	-	-	-	-	-	0	-
Болгария	-	-	2	0	0	1	0	0	2	0	1	0	1	2	1
Китай	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
Хорватия	12	20	44	36	26	45	44	42	25	6	10	24	14	15	-
Чехия	546	633	816	589	861	573	625	410	355	565	687	715	774	854	587
Дания	1	2	2	4	1	1	3	1	1	1	0	4	5	5	7
Эстония	140	90	179	201	250	178	113	84	116	81	87	85	83	70	80
Финляндия	20	23	25	38	43	39	38	47	68	61	82	79	69	91	151
Франция	6	6	2	3	8	4	4	10	11	29	18	24	24	68	-
Германия	239	289	313	260	424	195	420	264	221	353	485	582	444	713	418
Греция	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-
Венгрия	63	55	70	50	43	44	53	31	24	19	16	32	18	18	6
Италия	4	34	32	21	26	34	42	22	14	53	24	40	37	55	-
Япония	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1	0	0	0
Казахстан	32	34	49	30	40	33	27	28	49	48	34	46	35	31	24
Кыргызстан	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Латвия	129	125	210	306	280	232	207	139	132	213	176	152	211	216	249
Литва	234	220	605	612	365	495	501	353	336	633	474	384	711	679	365
Молдова	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
Монголия	52	12	8	9	13	6	15	7	40	52	62	32	19	20	5
Недерланды	-	-	-	-	-	-	0	0	0	2	1	2	2	5	2
Норвегия	13	11	10	11	14	7	6	13	9	12	16	26	35	41	72
Польша	233	202	351	294	221	190	227	195	149	284	283	197	265	159	211
Румыния	-	8	4	3	3	3	1	-	-	-	-	-	-	0	-
Россия	3138	2796	3720	3094	3533	2716	2236	1978	2304	2035	1934	1727	1775	967	1015
Сербия	-	-	-	-	-	4	-	-	4	1	5	13	-	0	-
Словакия	57	79	76	90	108	107	162	117	88	174	75	156	161	185	96
Словения	199	251	304	166	247	164	309	100	62	83	102	153	111	187	52
Южная Корея	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Швеция	181	224	210	174	284	287	209	178	268	238	391	385	358	274	533
Швейцария	105	119	112	96	170	96	202	108	122	200	273	369	259	448	285
Тунис	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Украина	4	7	8	3	10	3	6	3	3	6	4	5	2	2	-
Великобритания	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0

Примечание: «-» – информация не представлена.

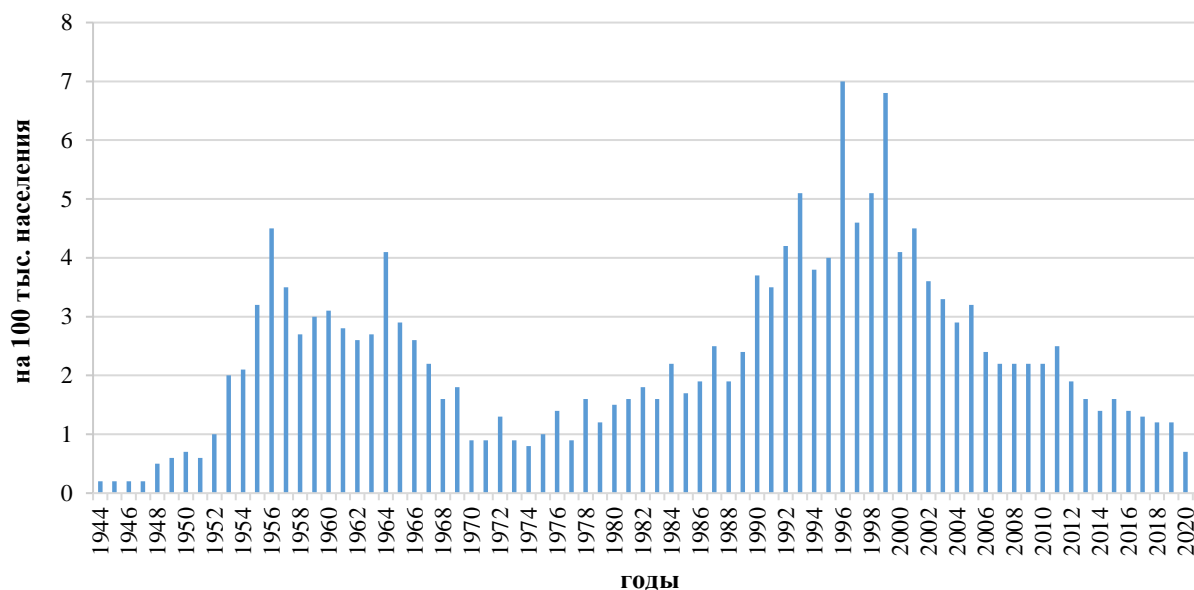


Рисунок 6 – Заболеваемость КЭ в России в период 1944-2021 гг. (на 100 тыс. населения) ([915] и по данным Роспотребнадзора 2000-2021 гг.)

Периодичность подъемов и спадов заболеваемости была обусловлена не только природно-климатическими факторами, но и изменением социально-экономической ситуации в регионах, что в последние годы привело к формированию абсолютно новых по своим зоо-эпидемиологическим и эпидемиологическим характеристикам природно-антропогенных и синантропно-урбанистических очагов и росту заболеваемости с активным вовлечением в эпидемический процесс жителей крупных городов, профессионально не связанных с лесом, а также повышению активности клещей – резервуара и переносчиков вируса. Рядом авторов описаны случаи формирования так называемых городских очагов КЭ, активность клещей в которых связана с домашними и бродячими животными, синантропными грызунами и птицами [304]. Такие очаги могут существовать довольно длительное время.

Все вышеупомянутые факторы приводят к сложным взаимодействиям, которые могут объяснить наблюдаемые изменения в эпидемиологии КЭ. Жертвами нападения клещей становятся люди, находящиеся на территории природного или антропогенного очага, независимо от их деятельности, будь то профессиональная или хозяйственная деятельность, посещение леса, парка с целью отдыха, сбора грибов, растений в природных лесных массивах [78]. Высокая мобильность населения, благодаря всеобщей «автомобилизации» и загородному строительству привела с начала 90-х гг. XX века к активизации ранее дремлющих природных очагов и росту заболеваемости КЭ, который пришелся на середину 1990-х гг.

Таким образом, на заболеваемость КЭ могут влиять многие факторы: вторжение человека на территорию природного очага КЭ и продолжительность времени пребывания в нем

(профессиональная, хозяйственная деятельность, проведение досуга), длительность присасывания клеща, а также экологические факторы (изменение климата), технологические (расширение методов диагностики, повышение медицинских знаний).

За последние годы значительно улучшилась система регистрации КЭ в странах Европы, где с 2012 г. КЭ является заболеванием, подлежащим обязательному уведомлению [915; 941]. И все же, несмотря на улучшение эпидемиологического надзора за КЭ на территории эндемичных стран, истинная заболеваемость КЭ остается выше официально регистрируемой, так как часть легко протекающих лихорадочных и субклинических форм этого заболевания могут учитываться под другими диагнозами, что вероятно имело место в период пандемии COVID-19 (2020-2021 гг.) в РФ.

Для КЭ характерна строгая сезонность, что было установлено в самом начале его изучения и что нашло отражение в первом названии заболевания – весенне-летний энцефалит. Начало сезонного подъема связано с повышением активности клещей и биоритмом жизни теплокровных животных – их прокормителей. Человек в этой экологической цепи является случайным звеном (экологический тупик), так как он не может передать возбудителя другим лицам. Первые случаи заболевания людей выявляют ранней весной, как правило, во второй половине апреля. Однако в последние годы начало сезона активности клещей и их нападение на людей сместились на более ранний период времени, первые случаи присасывания клещей стали регистрировать со второй половины марта, когда начинается хозяйственная деятельность на приусадебных участках в садово-огородных товариществах. Пик активности клещей обычно приходится на вторую половину мая – начало июня, а наиболее высокую заболеваемость КЭ в России наблюдают в конце июня – первой половине июля, что обусловлено продолжительностью инкубационного периода при этой инфекции (14-21 день). Средняя продолжительность периода активности клещей составляет от 60-65 до 120-140 дней [144].

Человек обычно заражается вирусом КЭ через присасывание клеща (трансмиссивный механизм), либо при деструкции и попадании гемолимфы раздавленного инфицированного клеща в ранку. Также возможно заражение алиментарным (пищевым) путем через употребление непастеризованного молока, полученного от инфицированных вирусом КЭ коз и крупного рогатого скота или через молочные продукты, приготовленные из такого молока, что нередко сопровождается локальными вспышками среди населения, употребивших эти продукты [867; 924].

Наибольшее эпидемиологическое значение имеет «классический» – трансмиссивный механизм передачи возбудителя. Зараженный клещ инокулирует вирус со слюной в организм животного/человека в процессе кровососания. Поэтому даже непродолжительное присасывание

может оказаться достаточным для заражения человека. Считается, что в России КЭ из каждых 100 пострадавших от присасывания клеща заболевает 1 человек, в Западной Европе риск заражения составляет от 1:200 до 1:900 случаев присасывания клеща [78; 144]. Другие пути инфицирования крайне редки и могут быть связаны с нештатными ситуациями, такими, как внутрилабораторное заражение при несоблюдении противоэпидемического режима, нарушении работы системы вентиляции [706], переливании крови [866] и даже описаны случаи заражения через грудное молоко инфицированной матери [961]. Описаны случаи КЭ и с неустановленным путем передачи, когда в анамнезе имеются указания о нападении клещей на одежду или кожу, снятие их с домашних животных и просто о посещении территории природного очага КЭ [144].

Возрастная структура больных КЭ в ряде стран варьирует, но в основном большая часть заболевших приходится на трудоспособный возраст (40-59 лет), однако в Австрии, Италии, Голландии, Сербии, Эстонии количество больных КЭ преобладает в группе старше 60 лет. В азиатских странах – Казахстане, Монголии – основная группа заболевших это лица 20-29 лет. При этом гендерный состав в разных странах может различаться, но в основном преобладают мужчины [915].

В России в последние годы увеличилось количество случаев заболеваний среди лиц старше 50-и летнего возраста. Так, например, в 2020 г. среди заболевших КЭ в РФ наибольшая доля приходилась на возраст старше 60 лет, на втором месте были лица от 40 до 60 лет. Мужчины чаще вовлекаются в эпидемический процесс и составляют более 65% от числа заболевших, что связано с их более активным участием в производственной деятельности и фактом пребывания в природных очагах. Неблагоприятной тенденцией эпидемического процесса КЭ в нашей стране является активное вовлечение в эпидемический процесс детей школьного и старшего дошкольного возраста. На отдельных территориях показатели инцидентности КЭ среди этих контингентов превышают таковые среди взрослых [78].

Патогенетические закономерности

Взаимодействие вируса КЭ с организмом человека определяется свойством, дозой и путем его проникновения. В естественных условиях основными механизмом и путем инфицирования человека являются трансмиссивный и алиментарный. При экспериментальном моделировании указанных путей заражения показано, что первоначальным субстратом, в котором происходит размножение вируса, является кожа и подкожная клетчатка, где через 12-18 часов обнаруживается специфическая флуоресценция макрофагов и фибробластов, а при алиментарном заражении – клеток эпителия слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта

(ЖКТ), преимущественно кишечника [78; 232]. В последнем случае существенное значение имеет способность некоторых штаммов вируса проникать через барьеры ЖКТ, такая возможность создается в связи с устойчивостью возбудителя в кислой среде и особенностями физиологии пищеварения при употреблении молока. В окружающих тканях в месте проникновения вируса развиваются неспецифические дегенеративно-воспалительные изменения. Также входными воротами могут быть конъюнктивы и слизистая оболочка верхних дыхательных путей [78; 232].

Первым этапом взаимодействия вируса и клетки является его связывание с соответствующим рецептором с последующим проникновением внутрь клетки. После прикрепления к клетке возбудитель локализуется во впячивании клеточной мембраны, после чего подвергается эндоцитозу с образованием внутриклеточных везикул [78].

После стадий связывания с клеткой, эндоцитоза вирионов, слияния и расплавления мембран происходит «раздевание» нуклеокапсида и освобождение геномной РНК в цитоплазме. Далее следуют сложные процессы трансляции и процессинга полипротеина, ассоциированные с репликацией вирусной РНК. Затем вновь синтезированная цепь вирусной РНК с белками собирается в вирусный нуклеокапсид. Вирионы созревают по мере продвижения по шероховатому эндоплазматическому ретикулуму (ЭПР) в гладкий ЭПР, в аппарат Гольджи и, затем, в плазматическую мембрану клетки [941].

Генерализация инфекции происходит лимфогенным и гематогенным путями, инвазия нервной системы возможна гематогенным и невральным путями посредством прямого центростремительного распространения патогена по нервам и посредством трансмиграции через обонятельный тракт [224; 263; 264; 269; 299; 316; 343; 771]. Начиная с первых этапов болезни, вирус проникает из подкожной клетчатки в регионарные, затем в коллатеральные лимфатические узлы, а затем во внутренние органы, одновременно проникая в костный мозг [78]. Большинство исследователей признают ведущее значение гематогенного пути проникновения вируса в мозг, тогда как невральные пути инфицирования рассматриваются как второстепенные, действующие лишь при определенных условиях заражения, например, при аэрозольном [78].

От вирулентности вируса, видовой и индивидуальной восприимчивости организма, способа инфицирования, заражающей дозы зависят сроки развития, интенсивность и продолжительность вирусемии. Вирусемия при КЭ имеет двухволновый характер [78].

Первая волна вирусемии (транзиторная, резорбтивная) обусловлена проникновением вируса в кровь из мест первичной локализации. Большинство авторов отмечают быстрое развитие резорбтивной вирусемии, хотя конкретные сроки, по данным отдельных исследователей, варьируют от 2 до 60 минут [261; 312; 719]. В конце инкубационного периода

возникает вторая волна вирусемии, совпадающая по времени с началом размножения вируса во внутренних органах, внедрением и репликацией его в центральной и периферической нервных системах [261]. Повторный контакт сенсibilизированных лимфоцитов с вирусным антигеном сопровождается гиперергической реакцией с альтерацией нервных клеток и местным нарушением кровообращения (принцип феномена Шварцмана - Санарелли). Патоморфологически этому соответствуют множественные очаги некроза, обнаруживаемые в разных отделах ЦНС в раннем периоде болезни [30; 71; 74; 101].

Диффузное распространение вируса приводит к выраженному воспалительному процессу в органах нервной системы с преимущественным поражением стволовой части и шейного отдела спинного мозга. Выраженный тропизм вируса к двигательным нейронам продолговатого и спинного мозга предопределяет характер клинических проявлений болезни. В тяжелых случаях воспалительные и дегенеративные изменения нервной ткани могут захватывать обширные зоны [100; 152; 250].

Важную роль в прекращении вирусемии играют специфические антитела, преимущественно IgG, однако циркулирующий вирус может быть связан с антителами, но не нейтрализован ими [79].

Патогенез прогрессивного (хронического) течения КЭ изучен недостаточно. Возможно длительное вирусоносительство, которое может быть латентным или сопровождаться клиническими проявлениями. При прогрессивном течении КЭ наблюдается образование дефектных вирусных частиц с делециями и транспозициями в геномной РНК [266]. Синтез пула дефектных интерферирующих вирусных частиц характерен для персистирующей инфекции. В большинстве случаев такая инфекция протекает с неуклонным прогрессированием, приводящим к смерти больного [23; 30; 71; 74].

Однако, следует иметь в виду, что в высокоэндемичных зонах большинство заражений приводит к инаппарантному течению инфекции (на 60 инаппарантных приходится 1 клинический случай) [1; 26; 79].

Патологоанатомически КЭ характеризуется диффузным воспалительным поражением головного и спинного мозга (полиэнцефаломиелит). Поражается преимущественно серое и в меньшей степени – белое вещество. Наиболее распространенные и интенсивные изменения отмечаются в ядрах продолговатого мозга и шейно-плечевого отдела спинного мозга, в нейронах аммонова рога, реже - в других отделах нервной системы. На первый план выступают повреждения сосудов микроциркуляторного русла и двигательных нейронов. Твердая и мягкая мозговые оболочки, вещество мозга отечны, полнокровны с точечными кровоизлияниями. Выявляются множественные мелкие очаги расплавления серого вещества мозга, диффузное

воспаление околопозвоночных симпатических узлов, периферических нервов. Наблюдаются дистрофические изменения, кровоизлияния в миокарде, почках, печени, селезенке. Прогрессирующие формы КЭ связывают с длительным сохранением вируса в репликативной форме в клетках ЦНС [170; 268].

Детальный анализ патологии ЦНС в настоящее время представлен только для КЭ, вызванного дальневосточным подтипом вируса [274].

Клинические проявления

В клинике КЭ остаются актуальными данные, полученные на начальном этапе изучения заболевания [215; 216; 309]. Некоторые особенности клинической симптоматики, наблюдаемой в настоящее время, обусловлены новыми данными о генетическом разнообразии возбудителя, ареале обитания его переносчиков с охватом новых географических территорий.

Клинические проявления КЭ достаточно разнообразны и во многом определяются свойствами возбудителя и особенностями реагирования иммунной системы человека. Как правило, клиника складывается из сочетания общеинфекционного синдрома и симптоматики поражения периферической и центральной нервной систем.

Единой классификации КЭ к настоящему времени не разработано. В клинической практике наиболее часто используют классификацию А.П. Иерусалимского и ее модификацию, приведенную в методических указаниях по клинике, диагностике и лечению КЭ (приложение №1 к приказу Минздрава СССР от 09.04.1990 № 141 «О дальнейшем совершенствовании мероприятий по профилактике КЭ»). Классификация основана на определении клинической формы, тяжести и характера течения заболевания (Таблица 3). Вместе с тем эта классификация не предусматривает редкие тяжелые формы с вовлечением стволовых структур мозга и многоуровневым поражением ЦНС.

Таблица 3 – Классификация клещевого энцефалита [116]

Клиническая форма	Тяжесть заболевания	Течение заболевания	Исходы
Инаппарантная	-	-	Выздоровление
Манифестные (неочаговые)			
Лихорадочная	Легкая Среднетяжелая	Острое	Выздоровление (полное; с неврологическим дефицитом) Хронизация
Менингеальная	Среднетяжелая Тяжелая	Острое	

Продолжение Таблицы 3

Манифестные (очаговые)			
Энцефалитическая	Тяжелая	Острое Хроническое (первично- хроническое; вторично- хроническое) Прогрессирующее	Выздоровление (полное; с неврологическим дефицитом) Хронизация Летальный исход
Менингоэнцефалитическая	Тяжелая		
Полиоэнцефалитическая	Тяжелая		
Полиоэнцефаломиелитическая	Тяжелая		
Полиомиелитическая	Тяжелая		

В среде специалистов до сих пор нет единого подхода к целесообразности выделения отдельных форм КЭ и к толкованию терминологии [1; 22-24; 26; 74; 215; 266; 288]. Некоторые клиницисты выделяют стертую форму КЭ. По определению в методических указаниях Минздрава СССР клинические проявления стертой формы КЭ ограничиваются общеинфекционным синдромом. В таком случае эта клиническая форма ничем не отличается от лихорадочной формы. Другие авторы к проявлениям стертой формы относят симптомы инфекционного токсикоза с незначительной рассеянной неврологической симптоматикой: анизорефлексией, гиперрефлексией и кратковременными менингеальными симптомами. Однако, учитывая, что менингеальные симптомы обусловлены не только воспалительными изменениями в оболочках мозга, но и внутричерепной гипертензией, развивающейся на фоне инфекционного токсикоза, они могут встречаться и при лихорадочной форме. В связи с вышеизложенным некоторые авторы полагают, что выделение стертой формы КЭ недостаточно обосновано [101; 253]. Тем не менее данная форма учитывается в официальной статистике.

Н. В. Скрипченко и соавт. [78] считают, что выделение таких клинических форм КЭ, как лихорадочная или менингеальная, не является корректным, поскольку при них отсутствует основной синдромокомплекс, позволяющий поставить диагноз энцефалита, т.е. очаговый синдромокомплекс. В этой связи, авторы считают, что речь должна идти о многообразии клинических проявлений, вызываемых вирусом КЭ. В частности, при наличии лихорадки – о лихорадке, вызванной вирусом КЭ (при подтверждении) или о вирусном менингите, вызванном вирусом КЭ (при подтверждении). Однако в нашей стране до настоящего времени в общероссийскую регистрацию случаев КЭ включаются лихорадочная, стертая, менингеальная и очаговые формы, в то время как в Европе учитываются только менингеальная и очаговые формы заболевания.

В ряде случаев трудно оценить инкубационный период при КЭ, поскольку факт присасывания клеща (или клещей) может оставаться незамеченным. Имеется мало данных и лишь приблизительная оценка процента инфицированных лиц, у которых развиваются симптомы заболевания [411]. Тем не менее, согласно опубликованным данным, инкубационный период при КЭ в среднем составляет 7-14 дней (в диапазоне 4-28 дней) после присасывания

инфицированного клеща [104; 684; 925]. В недавно проведенном польскими учеными исследовании сообщалось о среднем инкубационном периоде 22 дня (в диапазоне 4-34 дня) [927]. Однако при алиментарном пути заражения инкубационный период может быть короче и зависит от количества жизнеспособных вирусных частиц, попавших в организм с пищей. Обычно речь идет о 2-4 днях [78; 536; 922]. В Австрии при вспышке алиментарного КЭ продолжительность инкубационного периода варьировала от 9 до 14 дней [924].

Заболевание, независимо от формы, в подавляющем большинстве случаев начинается остро (84,3%). Редко возникает период продромы длительностью 1-3 дня [236].

Как ранее уже было сказано, не исключается, что каждый из подтипов вируса КЭ может вызывать разные по течению и тяжести клинические формы заболевания.

Для клинической картины КЭ, вызванной европейским подтипом вируса характерна двухфазная (бифазная) лихорадка или двухфазное течение, при котором первая (виремическая) фаза переходит во вторую (неврологическую) фазу заболевания. Иногда прогрессирование заболевания прекращается после первой фазы, тогда такая клиническая картина называется «абортивной» [722; 803]. В некоторых европейских исследованиях сообщается об abortивном течении КЭ, проявляющемся исключительно лихорадкой без поражения ЦНС [685]. Подобное течение является редким клиническим проявлением и составляет около 1,8% всех случаев инфицирования вирусом КЭ в Европе [615].

Первая фаза двухфазного течения длится 2-4 дня (в диапазоне 1-8 дней), она соответствует виремической фазе [238; 924]. Во время этой фазы вирус инфицирует экстраневральные ткани, включая ретикулоэндотелиальную систему (селезенку, печень, костный мозг). Вирусемия длится несколько дней и способствует проникновению вируса в ЦНС [536]. Исход на этой стадии зависит от первоначального иммунного ответа организма. Продолжающаяся вирусемия и проникновение вируса КЭ в ЦНС являются результатом недостаточного гуморального ответа на ранних стадиях инфекции [932]. Этот этап (виремическая фаза) сопровождается неспецифической симптоматикой (гриппоподобными симптомами), включая лихорадку, головную боль, усталость, миалгию, анорексию, тошноту, рвоту. Однако лихорадка и головная боль являются основными жалобами пациентов, обращающихся за медицинской помощью.

По оценкам, у 30% пациентов с КЭ, прошедших первую фазу, разовьется вторая фаза с вовлечением ЦНС, включая менингит (лихорадка, сильная головная боль, ригидность затылочных мышц) и/или энцефалит (различные нарушения сознания, расстройства чувствительности, моторные нарушения вплоть до паралича) или даже развитие смешанных форм. Бессимптомный период между первой и второй фазами длится около 8 (1-20) дней [802; 924].

Двухфазное течение наблюдается у 74-85% пациентов с КЭ, вызванным европейским подтипом вируса [238]. До 46% пациентов со второй фазой КЭ развивают долгосрочные последствия.

Монофазное течение заболевания, как правило, встречается при инфицировании сибирским или дальневосточным подтипами вируса КЭ. Лишь у небольшой части пациентов наблюдается двухфазное течение. Также сибирский подтип вируса, как уже ранее было сказано, может вызывать хроническое течение заболевания [610; 925; 931].

Точное соотношение abortивных форм и клинических форм с поражением ЦНС все еще остается неизвестным и зависит от множества факторов, связанных как с возбудителем, так и индивидуальными особенностями макроорганизма. Сероконверсия без каких-либо явных клинических проявлений является распространенным явлением и хорошо документирована, особенно в популяциях, которые проживают на высокоэндемичных территориях и регулярно подвергаются воздействию вируса [683]. В исследовании, проведенном в Швеции [928] у 25% инфицированных людей развилось заболевание ЦНС. Эта доля, по-видимому, ниже для сибирского и дальневосточного подтипов, где, как сообщается, 70-95% инфицированных вирусом КЭ протекают бессимптомно [802].

Для клинической картины КЭ, вызванной дальневосточным подтипом вируса характерно часто бурное начало с более высокой летальностью. Заболевание начинается с резкого повышения температуры тела до 38-39⁰С, начинаются сильные головные боли распирающего характера преимущественно в лобно-височной области, нарушение сна, тошнота. Через 3-5 дней развиваются симптомы поражения нервной системы [78]. Вирус КЭ может быть обнаружен в крови, начиная с первой фазы заболевания. На практике диагноз подтверждается обнаружением специфических IgM в крови или СМЖ, которые выявляются во второй фазе.

На любом этапе развития инфекции у больных может наблюдаться гиперкинетический и эпилептиформный синдромы.

Хроническое (прогредиентное) течение наблюдают у 1-3% больных. Хронические формы возникают спустя несколько месяцев, а иногда и лет после острого периода болезни, преимущественно при менингоэнцефалитической, реже менингеальной формах болезни [232]. В этих случаях инфекционный процесс не завершается, а переходит в фазу хронической (прогредиентной) инфекции [215; 232]. Прогредиентный КЭ возникает без отчетливого острого периода, как при инфицировании через укус клеща, так и при алиментарном заражении. Однако при трансмиссивном механизме заражения прогредиентный КЭ возникает значительно чаще [227].

В литературе имеется мало информации о вирулентности и патогенности относительно недавно описанного сибирского подтипа вируса КЭ в отношении течения заболевания. Клинические проявления, вызванные сибирским подтипом возбудителя на современном этапе описаны лишь в некоторых регионах азиатской и европейской части РФ [128; 168]. В связи с тем, что сибирский подтип вируса КЭ является доминирующим на территории России, изучение клинических проявлений, вызванных данным подтипом вируса, с позиции клинической эпидемиологии является крайне актуальной задачей.

Летальность при КЭ связывают с развитием бульбарного и судорожно-комагиозного синдромов, а также с подтипами циркулирующего вируса. Она варьирует от единичных случаев в Европе и европейской части России до 10-20% на Дальнем Востоке [207; 227].

Диагностика

Диагностика КЭ включает данные эпидемиологического анамнеза, клиническую симптоматику и результаты лабораторной диагностики.

Диагноз КЭ можно считать обоснованным в случаях имеющих эпидемиологических данных, таких как факт присасывания или "наползания" клеща, контакт с клещом (снятие с животного или другого человека), проживание или пребывание в эндемичном очаге КЭ в период активности клещей (посещение леса, парков, дачных участков, кладбищ и др.), употребление сырого козьего, реже коровьего молока или изготовленных из них продуктов, а также особенностей клинической картины и динамики развития, свойственной для этой нейроинфекции. Клинические проявления при КЭ описаны выше. Облегчает диагностику и прогноз заболевания, сведения о проведенной до заболевания специфической профилактике и сроках ее проведения (вакцинация или применение иммуноглобулина человека против КЭ) [116; 256; 257; 294].

В периферической крови у больных КЭ обнаруживают умеренный лимфоцитарный лейкоцитоз, иногда сдвиг влево с увеличением количества палочкоядерных лейкоцитов, повышение СОЭ. При двухволновом течении заболевания на первой волне у большинства больных наблюдается лейкопения с относительным лимфоцитозом, во время второй волны – лейкоцитоз с нейтрофильным сдвигом и повышение СОЭ. Возможно умеренное повышение печеночных ферментов (АСТ, АЛТ). При менингеальной и очаговых формах заболевания в СМЖ обнаруживают лимфоцитарный плеоцитоз от нескольких десятков до нескольких сотен клеток в 1 мкл [78].

Специфическая лабораторная диагностика включает изоляцию вируса с использованием культуры клеток либо лабораторных животных, обнаружение РНК вируса КЭ методом ПЦР, его антигена и специфических IgM и IgG к возбудителю в сыворотке крови и СМЖ методом ИФА во второй фазе заболевания [148; 256; 257].

При подозрении на КЭ кровь и СМЖ следует забирать в первые дни заболевания до начала лечения специфическим иммуноглобулином против КЭ. Для серологического исследования вторую сыворотку крови получают через 10-14 дней после взятия первой. В некоторых случаях требуется исследование трех или четырех сывороток крови для подтверждения диагноза. В случае летального исхода исследуют ткани мозга, взятые из различных участков головного, а также шейного и грудного отделов спинного мозга. Вскрытие проводится не позднее 6-12 часов после смерти больного [256; 257].

Вирусологический метод основан на изоляции вируса КЭ из цельной крови, сыворотки крови, СМЖ, тканей мозга в культуре клеток (СПЭВ, Vero, клещевых клеточных культурах) и с использованием чувствительных лабораторных животных (белые мыши, сирийские хомяки). Этот метод является наиболее достоверным, но достаточно трудоемким, в связи с чем его выполнение проводится в вирусологических лабораториях крупных научно-исследовательских учреждений, так как он требует соблюдения мер биологической безопасности при работе, связанной с накоплением вируса, относящегося ко II группе патогенности [116; 148; 256; 257].

Определение специфических IgM и IgG в сыворотке крови и/или в СМЖ выполняют преимущественно методом ИФА. Также для изучения в динамике титров нарастания гемагглютинирующих антител в остром периоде заболевания используют метод РТГА (реакция торможения гемагглютинации). Антитела IgM к вирусу КЭ появляются с 3-4-го дня от начала заболевания, IgG – в среднем на 10-14-й дни. Согласно Клиническим рекомендациям у взрослых (2014 г.) критерием лабораторного подтверждения диагноза КЭ является нарастание титра IgG в парных сыворотках крови, а также повышение уровня IgG и IgM; выявление РНК вируса КЭ в крови и/или в СМЖ; выявление антигена вируса в крови и/или в СМЖ [116]. Данные лабораторные критерии предусматривают постановку диагноза у невакцинированных пациентов, хотя у данной группы больных показаны три возможные типа динамики IgG: сероконверсия (нарастание титра специфических антител), стабильные титры и обратная (негативная) динамика [234; 313]. Негативная динамика антител была ранее описана клиницистами из Томской и Свердловской областей [73; 182]. В настоящее время при постановке диагноза учитывается только сероконверсия. Определенные сложности при лабораторном подтверждении диагноза, основанном на выявлении специфических IgM и динамическом изменении титра IgG в парных сыворотках, возникают в случае заболевания

вакцинированных лиц. Следует отметить, что на сегодняшний день не разработаны критерии постановки диагноза КЭ у вакцинированных пациентов. Как правило, критерием постановки диагноза является четырехкратное нарастание титра IgG в парных сыворотках крови, взятых в динамике заболевания. Антитела IgM после вакцинации могут выявляться в течение нескольких месяцев [624]. В этом случае целесообразно использовать методы прямого обнаружения возбудителя: изоляция вируса, обнаружение РНК вируса КЭ или его антигена [148].

Метод ПЦР, основанный на выявлении РНК возбудителя в крови или СМЖ, обладает высокой диагностической специфичностью, но недостаточной чувствительностью, которая не превышает 50% (относительно обнаружения специфических антител методом ИФА). Недостаточная чувствительность метода обусловлена как патогенезом заболевания – вирус короткое время циркулирует в крови, так и бесконтрольным применением иммуноглобулина человека против КЭ с целью экстренной профилактики на эндемичных территориях. Исследование проводят в комплексе с выявлением специфических антител. Для обнаружения РНК вируса КЭ используют пробы крови и СМЖ, взятые в первую неделю острой стадии заболевания или в случае уточнения развития персистенции вируса. При расшифровке летальных исходов от КЭ методом выбора является ПЦР, который обладает высокой чувствительностью и специфичностью при исследовании тканей мозга от погибших пациентов [148].

Таким образом, при лабораторной диагностике КЭ методы ИФА и ПЦР являются взаимодополняющими, т.к. ПЦР позволяет выявить вирусную РНК в самом начале заболевания, когда антитела к вирусу КЭ еще не успели выработаться. По этой причине в самый ранний период болезни метод ИФА может быть неэффективен.

Методы ИФА на антиген и ПЦР на РНК вируса КЭ широко используются для определения инфицированности клещей, что позволяет проводить раннюю специфическую и неспецифическую профилактику заболевания.

Реакция нейтрализации (РН) является наиболее специфичной реакцией для обнаружения антител. Ограничением для использования этого метода является необходимость работы с живым вирусом и соблюдения соответствующих мер биологической безопасности.

Как ранее было сказано, в Европе КЭ подлежит обязательному уведомлению и учету начиная с 2012 г. Тогда же было впервые предоставлено единое определение случая заболевания и разработаны критерии постановки диагноза, подтвержденного и вероятного случаев КЭ (Таблица 4) [541].

Данные о бремени болезни в разных странах трудно сравнивать, поскольку до этого периода определение и отчетность по случаям заболевания КЭ согласно данным Европейского центра по контролю заболеваний (ECDC) должным образом не были реализованы. Кроме того,

между странами существуют различия в классификации клинических случаев заболевания КЭ. Например, Австрия сообщает только о серологически подтвержденных случаях госпитализации КЭ, в то время как Чехия сообщает о любом случае с клиническими и лабораторными признаками асептического менингита или менингоэнцефалита, не обязательно связанного с госпитализацией [828; 915].

В странах Европы в дополнение к использованию различных определений случаев и классификаций КЭ, отсутствует система внедрения рутинной лабораторной диагностики для пациентов с энцефалитом, особенно в отношении выявления вируса КЭ. Примером этого является опыт Польши: в период с 2004 по 2008 гг. только 39% больниц страны имели доступ к серологическому исследованию на специфические антитела к вирусу КЭ. В 2009 г. был реализован пилотный проект по усилению эпидемиологического надзора за КЭ [969]. Количество тестирований на антитела к вирусу КЭ у пациентов с признаками менингита или энцефалита в 2009 г. по всей стране удвоилось по сравнению с предыдущими годами. В ходе исследования были выявлены 38 новых эндемичных районов, 7 из которых были расположены далеко от ранее известных эндемичных зон КЭ, особенно на северо-западе страны.

Таблица 4 – Определение критериев диагностики клинических случаев КЭ в Европе [541]

Критерии	Подтвержденный случай КЭ	Вероятный случай КЭ	
		Симптомы поражения ЦНС: менингит, менингоэнцефалит или энцефаломиелит	Симптомы поражения ЦНС: менингит, менингоэнцефалит или энцефаломиелит
Клинический	Симптомы поражения ЦНС: менингит, менингоэнцефалит или энцефаломиелит	Симптомы поражения ЦНС: менингит, менингоэнцефалит или энцефаломиелит	Симптомы поражения ЦНС: менингит, менингоэнцефалит или энцефаломиелит
Эпидемиологический	Есть	Есть/Нет	Нет
Показатели СМЖ	Плеоцитоз более 5×10^6 клеток/л	Плеоцитоз более 5×10^6 клеток/л	Плеоцитоз более 5×10^6 клеток/л
Серологический/ молекулярно- биологический	Выявление специфических IgM и IgG* в сыворотке крови; или специфических IgM в СМЖ; или сероконверсия или четырехкратное увеличение специфичных IgG в парных образцах сыворотки крови; или обнаружение РНК вируса КЭ в клиническом образце	Нет	Выявление специфических IgM в единственном образце сыворотки крови

* Результаты серологического исследования следует интерпретировать в соответствии с вакцинальным статусом пациента. Поскольку антитела, используемые в методах ИФА, могут перекрестно реагировать с другими флавивирусами, то у пациентов, вакцинированных против КЭ, должен быть показан интратекальный синтез специфических к вирусу КЭ антител в СМЖ, либо диагноз должен быть подтвержден в реакции нейтрализации (РН) сыворотки крови или другими эквивалентными методами лабораторных исследований.

Специфическая профилактика (вакцинопрофилактика)

Вакцинопрофилактика является наиболее эффективным и надежным способом профилактики КЭ [412; 585; 684; 703; 722; 955; 959]. В России на сегодняшний день разрешено к применению для специфической профилактики КЭ несколько отечественных и зарубежных вакцин: «Вакцина клещевого энцефалита культуральная очищенная концентрированная инактивированная сухая» и «Клещ-Э-Вак» производства ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) (Москва, Россия), «ЭнцеВир[®]» и «ЭнцеВир[®] Нео детский» производства ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России (Россия), «ФСМЕ-Иммун[®]» и «ФСМЕ-Иммун[®] Джуниор» производства Пфайзер Инк (Австрия), «Энцепур[®]» и «Энцепур[®] детский» производства ГСК Вакцинс ГмбХ (Германия). В Китае создана вакцина для профилактики КЭ «SenTaiBao» (Changchun, Китай), которая в России не зарегистрирована [412; 887]. Все вакцины являются инактивированными.

Отечественные вакцины против КЭ производят на основе штаммов дальневосточного подтипа (Софьин и 205), а зарубежные – на основе штаммов европейского подтипа: Neudoerfl и Karlsruhe (K-23). Сравнительные исследования показали, что все вакцины, используемые в России, по профилю иммуногенности, безопасности и схемам вакцинации взаимозаменяемы [8; 92; 625; 941].

Курс вакцинации состоит из двух внутримышечных инъекций с интервалом 1-7 месяцев. Наиболее оптимальным является интервал между первой и второй прививками 5-7 месяцев (осень – весна) (стандартная схема). Курс вакцинации можно проводить в течение всего года, в том числе и в летний период (эпидемический сезон), но не позднее, чем за 2 недели до посещения очага КЭ. Человеку, не получившему очередную дозу вакцины через рекомендованный интервал, не нужно начинать вакцинацию заново с самого начала, а следует продолжать введение недостающих доз. Более длительные интервалы между дозами обычно не снижают концентрацию антител после завершения вакцинации против КЭ, но защита в период до отсроченной дозы менее надежна [835].

Для всех отечественных вакцин разработаны три схемы первичной иммунизации: стандартная (плановая), ускоренная и экстренная. Ускоренная схема используется для сокращения временного интервала между первым и вторым применением, который составляет 1-2 месяца (например, в летние месяцы). Стандартная и ускоренная схемы демонстрируют одинаково высокий уровень сероконверсии и титров антител у взрослых и детей после третьей дозы вакцины. Экстренная схема вакцинации идеальна для путешественников и лиц, выезжающих в командировки в эндемичные по КЭ регионы. Во время экстренной схемы две дозы вводят с

интервалом 14 дней. Ревакцинацию при применении любой схемы вакцинации проводят однократно через 1 год после завершения курса вакцинации. Однако после второй дозы показатели иммуногенности экстренной схемы ниже, чем при стандартной или ускоренной, и титры антител снижаются быстрее [476; 566; 585; 815; 930; 941; 982; 983]. Последующие отдаленные ревакцинации проводят каждые три года однократно.

Стандартная схема зарубежных вакцин рекомендует введение первых двух доз с интервалом 1-3 месяца и третьей дозы – через 5-12 месяцев («ФСМЕ-Иммун[®]» и «ФСМЕ-Иммун[®] Джуниор») или через 9-12 месяцев («Энцекур[®]» и «Энцекур[®] детский»). В соответствии с экстренной схемой «ФСМЕ-Иммун[®]» и «ФСМЕ-Иммун[®] Джуниор» первые две дозы назначают с интервалом 14 дней, а третью дозу – через 5-12 месяцев, а «Энцекур[®]» и «Энцекур[®] детский» – первые две дозы через 7 дней, третью дозу – через 14 дней после второй, четвертую дозу (1-я ревакцинация) – через 12-18 месяцев. Последующие ревакцинации для «ФСМЕ-Иммун[®]» и «ФСМЕ-Иммун[®] Джуниор» – через 3 года, для «Энцекур[®]» и «Энцекур[®] детский» – через 5 лет для детей и взрослых до 49 лет, через 3 года – для взрослых старше 49 лет.

Учитывая, что частота возникновения случаев КЭ варьирует в пределах и между отдельными эндемичными районами, стратегии вакцинации должны включать оценки риска для конкретных территорий и групп населения. Согласно рекомендациям ВОЗ [960], в высоко эндемичных по КЭ регионах (≥ 5 случаев на 100 тыс. населения в год) вакцинацией должно быть охвачено все население, включая детей, в то время как в регионах с умеренной или низкой заболеваемостью КЭ (< 5 случаев на 100 тыс. населения в год) – только группы повышенного риска (часто контактирующие с природными очагами по профессиональным и другим причинам). Путешествующие из неэндемичных в эндемичные районы должны быть вакцинированы, если ожидается активная деятельность на природе [614; 827; 959; 981].

Центрально-европейская группа по повышению осведомленности о вакцинации (Central European Vaccination Awareness Group - CEVAG) настоятельно рекомендует ввести всеобщую вакцинацию против КЭ для лиц старше 1 года во всех странах с высоким риском заболевания КЭ. Люди, переболевшие КЭ, не нуждаются в вакцинации в связи с длительным сохранением иммунологической защиты от этой инфекции [827].

Показатели охвата вакцинацией в большинстве европейских стран, эндемичных по КЭ, относительно низки и практически не влияют на заболеваемость. Кроме Австрии, где охват вакцинацией населения составляет более 80%, второй страной в Европе, в которой уровень вакцинации превышает 50%, является Латвия, где доля вакцинированных детей в высокоэндемичных районах достигает 77%. Активная иммунизация против КЭ в Латвии является частью национальной программы вакцинации с 2007 г., благодаря чему в высокоэндемичных

районах отмечено снижение заболеваемости детей на 12,5% [827]. Аландские острова в Финляндии также имеют высокий уровень охвата вакцинацией (71%). В других эндемичных европейских странах уровень вакцинации составляет от 0 до 33% (Чехия – 23%, Германия – 13-27%, Эстония – 10%, Венгрия – 5-15%, Литва – неопределенно низкая, Польша – 0,34%, Словакия – 0,25% у взрослых и 0,4% у детей, Словения – 12,4%, Швеция – 11% и Швейцария – 25-33%) [960,711]. В большинстве европейских стран доступны вакцины ФСМЕ-Иммун (Австрия) и Энцепур (Германия), за исключением Болгарии, где ни одна из вакцин против КЭ на территории страны не зарегистрирована. В Румынии доступна только немецкая вакцина. Помимо Австрии, Латвии и Чехии, вакцинация против КЭ в других европейских странах не является частью национальной программы вакцинопрофилактики [958], но настоятельно рекомендована CEVAG в районах высокого риска и для групп высокого риска, таких как работники лесного хозяйства, фермеры и военнослужащие [827].

В странах Евросоюза существуют большие различия в отношении рекомендаций по вакцинации детей против КЭ даже среди высоко эндемичных стран, поскольку среди исследователей нет единого мнения о том, следует ли рекомендовать вакцинацию детей против КЭ или нет, и, если следует, в каком возрасте следует начинать первичную иммунизацию [723]. Это связано с утвердившимся мнением о том, что у детей чаще встречается инapparантная инфекция, течение болезни обычно протекает легче, а исходы заболевания более благоприятны, чем у взрослых [625]. Тем не менее, имеются отдельные сообщения о тяжелых, даже смертельных случаях у очень маленьких детей [48; 802; 937; 959]. Рядом исследователей установлено, что от 35 до 58% госпитализированных пациентов в возрасте до 15 лет имеют длительные когнитивные или психоневрологические последствия, включая сенсорные нарушения, атаксию, дисфазию, потерю слуха, трудности с концентрацией внимания, ухудшение памяти и эмоциональную нестабильность [723; 925; 928]. Систематический обзор публикаций и анализ данных ECDC, выполненный Steffen R., позволил автору заключить, что, несмотря на менее тяжелое клиническое течение КЭ и меньшее количество неврологических осложнений у детей по сравнению со взрослыми, высокий риск долгосрочных когнитивных последствий дает основание рекомендовать в высоко эндемичных регионах вакцинацию детей против КЭ в возрасте от 1 до 3 лет [887]. Многие зарубежные исследователи делают вывод о необходимости массовой вакцинации детского населения [887]. Тем не менее, из 14 эндемичных по КЭ стран Европы [921] только в Австрии, Чехии и Латвии вакцинация детей против КЭ включена в национальный календарь профилактических прививок [958].

В России, согласно СП 3.1.3.2352-08 (в ред. Постановления Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 20.12.2013 № 69) [256], на административных

территориях эндемичных по КЭ должна быть проведена вакцинация против КЭ с охватом не менее 95% взрослого и детского населения. Профилактические прививки должны быть проведены населению, выезжающему в эндемичные по КЭ территории, всем лицам, относящимся к профессиональным группам риска, которые работают или направляются на сезонные работы в эндемичные районы по КЭ, а также лицам, работающим с живым вирусом, и другим лицам, выполняющим работы, связанные с угрозой заражения.

Привитым против КЭ считается лицо, получившее законченный курс вакцинации и одну или более ревакцинаций.

В России охват населения вакцинацией против КЭ вырос с 1,7 млн. человек в 2002 г. до 3,2 млн. человек в 2018 г. (почти в 2 раза). Однако на протяжении последних 7 лет планируемые ежегодные объемы иммунизации не превышают 3,3 млн. человек в год, что примерно в 4 раза ниже необходимого уровня. Иммунизация против КЭ осуществляется за счет региональных бюджетов, обуславливая зависимость этих объемов от выделенных финансовых средств на местном уровне [61]. Наибольший охват вакцинацией достигнут в Свердловской области (более 80%), Республике Алтай (более 40%), Курганской, Челябинской, Кемеровской и некоторых других областях (более 30%) [272].

Современные вакцины не обеспечивают 100% защиты от вируса КЭ. Ежегодно среди вакцинированных лиц регистрируют заболевания КЭ. Например, в 2000-2006 гг. в Свердловской области показатель заболеваемости КЭ среди вакцинированных составлял 2,5-6,2 на 100 тыс. привитых, а после 2007 г. – около 0,5 на 100 тыс. привитых [220]; в Омской области в 1999-2009 гг. – в среднем 6,1 на 100 тыс. привитых [219]. В 2002-2008 гг. в Австрии было зарегистрировано 25 случаев заболевания КЭ среди вакцинированных [888], в 2000-2008 гг. в Швеции – 27 [956], а за последние 15 лет в Словении – 39, что составляет 1,7% от всех лабораторно подтвержденных случаев КЭ [941].

В 2017 г. по данным ECDC из 1418 подтвержденных случаев КЭ, по которым имелась информация о вакцинации, в 24 случаях (1,6%) у пациентов в анамнезе была предшествующая вакцинация против КЭ. Из них 16 человек сообщили о получении не менее 3-х доз вакцины, но последняя введенная доза была в среднем за 6,5 лет до развития заболевания (медиана: 4,5 года) [921].

Даже при высоком уровне вакцинального иммунитета у привитых могут развиваться тяжелые формы КЭ с хроническим течением [267] и даже с летальным исходом [107; 196].

Причины неэффективности любого лекарственного средства и, в том числе вакцинных препаратов, могут быть обусловлены факторами, относящимся не только к свойствам самого препарата, но и к особенностям этиологического агента или восприимчивого организма [221]. В

ходе исследований, проведенных Н. А. Пеньевской по определению концентрации вируса в клещах, снятых с людей после присасывания, установлено, что защитная эффективность противовирусных антител была наименьшей при высокой заражающей дозе вируса ($\geq 3 \lg \text{КИД}_{50}$ в снятом после присасывания клеще) [217].

Вопрос о влиянии генетических различий вакцинных и природных штаммов вируса КЭ на уровень защиты от заболевания КЭ давно обсуждается в литературе. В нескольких работах было показано, что вакцины на основе штаммов европейского подтипа обеспечивают одинаково выраженную перекрестную защиту против основных подтипов вируса КЭ – европейского, дальневосточного и сибирского [556; 601; 702; 853]. В сыворотках крови людей после иммунизации вакциной «ФСМЕ-Иммун[®]» из штамма европейского подтипа (Neudoerfl) выявляли сопоставимые титры нейтрализующих антител против трех основных подтипов вируса КЭ. Кроме того, обнаружена, хотя и менее выраженная, нейтрализующая активность против родственного вируса Омской геморрагической лихорадки. В клинических исследованиях и экспериментах на мышах установлено, что вакцины из штаммов вируса КЭ европейского подтипа обеспечивают высокую перекрестную защиту против нескольких вирусов комплекса КЭ: Омской геморрагической лихорадки, киасанурской лесной болезни и Алкурма [461; 486; 941].

Тем не менее в ряде работ имеются указания на различия защитного действия поствакцинальных антител в отношении вируса КЭ гетерологичного подтипа. В частности, отмечена более низкая протективная активность вакцины Энцепур (штамм К23) против вирусов дальневосточного и сибирского подтипов [82; 576] и даже против штамма Neudoerfl европейского подтипа [761].

М. С. Воробьевой и соавт. были проведены в эксперименте исследования по определению показателей гуморального ответа и защитных свойств современных вакцин КЭ против штаммов вируса КЭ сибирского подтипа. После двукратной или трехкратной иммунизации мышей линии BALB/c отечественными или зарубежными вакцинами КЭ наблюдали гуморальный ответ в РТГА и ИФА к антигенам штаммов трех подтипов: европейского, дальневосточного и сибирского. После трехкратной иммунизации наиболее высокие титры антител выявлялись после иммунизации мышей отечественными вакцинами КЭ или австрийской вакциной «ФСМЕ-Иммун», тогда как иммунный ответ на вакцину «Энцепур» (Германия) был снижен, особенно к антигену сибирского подтипа вируса КЭ. Такие же данные были получены к сибирскому подтипу вируса КЭ (прототипный штамм «Лесопарк-11») при перекрестной постановке теста определения иммуногенности вакцин КЭ по МИД₅₀ (минимальная иммунизирующая доза вакцины, защищающая 50% животных) [6; 82].

На основании результатов мутационного анализа и трехмерного компьютерного моделирования Векс У. и соавт. делают вывод, что различия в способности двух европейских вакцин индуцировать нейтрализующие антитела к гетерологичному штамму обусловлены мутациями в шарнирной области DI-DII белка Е вакцинного штамма K23, используемого для производства вакцины «Энцеппур». Такая мутация отсутствует в штамме Neudoerfl, используемом для производства «ФСМЕ-Иммун», и в любом другом известном природном штамме вируса КЭ [761].

Группой российских исследователей [578] в эксперименте на мышах и *in vitro* проведена оценка защитного действия всех сертифицированных в РФ вакцин в отношении большого числа филогенетически различных штаммов вируса КЭ, выделенных в разные годы на разных территориях. Показано, что все вакцины индуцируют нейтрализующие антитела против всех штаммов вируса КЭ, использованных в исследовании, после двойной иммунизации у мышей. Однако уровень защитного действия вакцин против некоторых штаммов вируса КЭ различается, что, по мнению авторов, зависит не столько от подтипа вируса, сколько от индивидуальных свойств вакцинного и заражающего штаммов вируса. Нейтрализующая активность иммуноглобулинов, индуцированных инактивированной вакциной, по-видимому, зависит не только от наличия антител к определенным эпитопам белка Е заражающего вируса, но и, менее непосредственно, от внутренних свойств структуры белка Е. В определенных случаях уникальные точечные замены переменных аминокислотных остатков в структуре белка Е могут влиять на защитную эффективность вакцин [578].

Учитывая различные данные, полученные разными исследователями возникает вопрос – при сложившейся эпидемиологической ситуации (преобладание в циркуляции в большинстве природных очагов КЭ на территории РФ штаммов сибирского подтипа – до 100% вирусной популяции) необходима ли замена действующих производственных вакцинных штаммов на штаммы сибирского подтипа вируса КЭ? Практический опыт массовой иммунизации населения современными вакцинами в Свердловской области, где сибирский подтип составляет 100% вирусной популяции, показал, что при охвате прививками 78-80% населения может быть достигнута высокая эпидемиологическая эффективность – 98% [204]. Необходимо дальнейшее изучение данного вопроса.

Кроме того, высокий риск развития заболевания КЭ, несмотря на вакцинопрофилактику, может быть связан с наследственными (генетическими) особенностями пациентов. В частности, предрасположенность к заболеванию КЭ отмечена у лиц, имеющих мутацию в гене хемокинового рецептора CCR5 (CCR5Δ32) и гене рецептора TLR-3, который участвует в активации продукции интерферонов I типа [339; 340].

Установлено, что однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП, SNP – single nucleotide polymorphism) в регуляторном гене 2-5-олигоденилатсинтез (OAS2) ассоциированы с образованием противовирусных IgG и уровнем интерлейкина-4 после вакцинации против КЭ [11]. Продемонстрирована ассоциация ОНП, локализованных в генах ABCB9 и COL22A1, с развитием тяжелых форм КЭ среди русских [262]. Подтверждена связь ОНП rs10006630, расположенного на хромосоме 4 между генами FABP2 и LINC01061, с предрасположенностью к заболеванию КЭ [200].

Повышение осведомленности является ключевым элементом борьбы с КЭ в сочетании с вакцинацией населения в целом, начиная с конкретных групп риска, например, работников лесного хозяйства, охотников и военнослужащих. Результаты исследования с участием 11 европейских стран показали [567]:

- Общая осведомленность о КЭ (83%) была ниже, чем осведомленность о гриппе (98%) или кори (92%). Из всех респондентов 68% были осведомлены о вакцинации против КЭ, и 25% получили одну или более прививок.

- Показатели вакцинации против КЭ были самыми низкими в Финляндии и Словакии (до 10%). Значительно более высокие показатели вакцинации наблюдались в Латвии и Эстонии (53% и 31% соответственно), а самые высокие - в Австрии (85%). В эндемичных районах Германии показатели вакцинации сильно варьировали (20-80%), самыми высокими были показатели в нескольких регионах, таких как Оденвальд, где охват вакцинацией приближается к 100%.

- Число респондентов, получивших одну и более прививок против КЭ, составило 61%. Первую и вторую бустерные дозы получили 27% и 15% респондентов соответственно.

- Сильнейшими мотиваторами вакцинации были страх перед заболеванием КЭ (38%) и проживание или пребывание в районах повышенного риска (31-35%). Основными причинами отказа от вакцинации были убеждение в том, что вакцинация не нужна (33%) и что нет риска заразиться вирусом КЭ (23%).

Одним из основных аспектов для рекомендаций и повышения осведомленности является определение «зоны повышенного риска». Например, Институт Роберта Коха в Германии рекомендует вакцинацию везде, где заболеваемость КЭ в течение плавающего 5-летнего периода составляет выше, чем 1 случай на 100 тыс. населения [618]. Австрия, напротив, рекомендует вакцинацию любому человеку, проживающему в эндемичном районе или путешествующему на эндемичной территории.

Вакцинация может существенно повлиять на число случаев заболевания КЭ в зоне риска, о чем свидетельствует Австрия, где в последнее десятилетие ежегодно регистрируется немногим более 100 случаев заболевания. До введения программы вакцинации это число достигало 700

случаев ежегодно. Охват вакциной КЭ в Австрии составляет около 85%. В соседних странах с более низким уровнем охвата вакцинацией, по-прежнему, наблюдается рост числа случаев заболевания КЭ [827]. До 2018 г. только в Австрии действовали национальные рекомендации по всеобщей вакцинации населения, принятые много лет назад. Швейцария – вторая страна, которая пошла по тому же пути, и в феврале 2019 г. вся страна, за исключением кантонов Женева и Тичино, теперь определена Федеральным управлением по общественному здоровью и техническим комитетом по вакцинации как зона повышенного риска по КЭ. Вакцинация против КЭ рекомендуется для всех лиц в Швейцарии (с 6 лет), которые имеют контакт с клещами, либо живут в зоне риска, либо временно там находятся; для детей в возрасте от 1 до 5 лет ситуация должна оцениваться индивидуально. Все население Швейцарии подвержено потенциальному риску заражения, в зависимости от индивидуальной активности и мобильности [915].

В 2019 г. Национальный институт здравоохранения Словении решил частично профинансировать вакцинацию против КЭ для детей в возрасте 3 лет и взрослых 49 лет тремя дозами вакцины от КЭ (первичная вакцинация или бустерная вакцинация). В настоящее время не привитые взрослые в возрасте 49 лет и дети в возрасте 3 лет ежегодно включаются в программу вакцинациопрофилактики, тем самым постепенно повышая иммунную прослойку населения Словении от КЭ [915]. Рекомендации в других странах (при наличии) связаны с определенными условиями, например, заранее определенными зонами повышенного риска, возрастом, или возможным профессиональным риском [915].

В целом, эпидемиологический надзор за КЭ в Европе носит скорее спорадический, чем систематический характер. В конце концов, реальное бремя болезни остается неизвестным, и идентификация эндемичных по КЭ районов далека от совершенства. При наличии неполных научных баз данных справедливо сделать вывод, что истинное бремя КЭ в настоящее время значительно занижено [760; 960].

Экономическая оценка вакцинации против КЭ становится все более важным шагом в процессе включения вакцинации против КЭ в программы иммунизации и выработки рекомендаций. Однако существует лишь несколько оценок экономической эффективности вакцинации против КЭ. В 1981 г. в Австрии была проведена общая кампания вакцинации против КЭ [703], которая в конечном итоге привела к существенному сокращению случаев заболевания КЭ [618]. Экономическая выгода (снижение затрат на стационарное лечение, снижение производительности и преждевременный выход на пенсию) от этой кампании составила 24 миллиона евро за 1981-1990 гг. и 60 миллионов евро в период с 1991 по 2000 гг. [877].

Исследование, проведенное в Словении, показало экономическую эффективность вакцинации против КЭ при начале вакцинации в возрасте 18 лет и по достижению возраста 80 лет [877].

В Эстонии вакцинация лиц старше 50 лет также считается экономически эффективной. Однако авторы заявляют, что вакцинация пожилых людей оказывает лишь ограниченное влияние на снижение заболеваемости КЭ среди общей численности населения [915].

В 1996 г. была проведена приблизительная оценка экономической эффективности вакцинации против КЭ в районах Стокгольма, и было подсчитано, что, исходя из заболеваемости КЭ в то время, а также затрат на вакцинацию, массовая вакцинация была бы нереалистичной альтернативой [326]. Однако более чем 20 лет спустя сообщалось о гораздо более высоких показателях заболеваемости среди непривитого населения. Проведенный экономический анализ здравоохранения в Седерманлэнд, в высоко эндемичном районе по КЭ, прилегающему к Округу Стокгольм, показал, что бесплатная программа вакцинации против КЭ привела бы к значительному снижению затрат на QALY (год жизни с поправкой на качество). Поэтому авторы пришли к выводу, что внедрение рациональной программы вакцинопрофилактики будет экономически эффективным в любом возрасте, но было бы особенно экономически эффективным, если бы она начиналась в детском возрасте [929].

Специфическое лечение

На сегодняшний день специфической противовирусной терапии КЭ не существует. В России специфическое лечение включает введение иммуноглобулина человека против КЭ, хотя ряд исследователей оспаривают целесообразность его применения [689]. Также показано применение плазмы доноров. Хорошие результаты (при условии успешной ранней диагностики КЭ) достигаются с помощью противовирусных препаратов: рибонуклеазы, рибавирина; могут быть назначены препараты интерферона и индукторы интерферона. Для достижения максимальной эффективности требуется как можно более раннее введение этих препаратов.

В Европе лечение КЭ основано на поддерживающей и симптоматической терапии. Однако в Европе специфический иммуноглобулин против КЭ (Энцегам) ранее вводился для постконтактной профилактики и лечения заболевания, но больше не используется. Энцегам продемонстрировал терапевтический эффект, но опасения по поводу феномена антителозависимого усиления инфекции привели к приостановке его использования [866; 923]. Хотя не было описано ни одного клинического случая антителозависимого усиления инфекции после правильного и своевременного введения иммуноглобулина человека против КЭ [941].

Важно отметить, что данный феномен не наблюдался в экспериментах *in vivo* на мышах после введения специфических антител к вирусу КЭ до и после воздействия [369; 700; 957]. Тем не менее, некоторые исследователи предполагают, что терапия специфическим иммуноглобулином может быть причиной относительно высокой заболеваемости хроническими формами КЭ в России по сравнению с Европой. Однако в настоящее время нет данных, подтверждающих это предположение. С другой стороны, антителозависимое усиление инфекции наблюдалось в исследованиях на мышах с вирусом Langat и вирусом Louping ill, близкими родственниками вируса КЭ. Кроме того, наблюдения за подобными эффектами у мышей после введения вируса желтой лихорадки позволяют предположить, что опасения по поводу данного феномена при развитии энцефалита, не являются необоснованными [608; 711]. Требуется дальнейшее изучение данного вопроса.

В настоящее время все большее количество исследований посвящено поиску перспективных соединений, способных ингибировать репликацию вируса КЭ путем прямого блокирования вирусной полимеразы или других вирусных ферментов. Среди них – низкомолекулярные соединения нуклеозидной и нуклеозидной структуры, природные экстракты. Изучение подавляющего большинства из них находится на начальном этапе доклинических исследований, подробно рассмотренных в обзоре Ruzek D. et al. [941]. Очевидна необходимость дальнейшего изучения потенциальных лекарственных средств для лечения и профилактики КЭ.

1.2. Болезнь Лайма и боррелиоз, вызываемый *Borrelia miyamotoi*

Болезнь Лайма (БЛ) (синонимы: Лайм-боррелиоз (ЛБ); Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ); Lyme diseases (LD), Lyme borreliosis (LB) – англ.) – группа природноочаговых трансмиссивных спирохетозов, вызываемых определенными видами боррелий, передающихся человеку через присасывание иксодовых клещей и характеризующихся полиморфизмом клинической симптоматики с поражением кожи, опорно-двигательного аппарата, нервной, сердечно-сосудистой и других систем, а также возможностью затяжного хронического течения [144]. В соответствии с МКБ-10 болезнь Лайма (Хроническая мигрирующая эритема, вызванная *Borrelia burgdorferi*) имеет шифр А69.2. «Акродерматит хронический атрофический» проходит под кодом L90.4, «Артрит при болезни Лайма» имеет код M01.2. Кроме того, выделяют клещевые возвратные лихорадки (КВЛ) (Tick-borne relapsing fever (TBRF) – англ.), возбудителями которых также являются боррелии и согласно МКБ-10, они имеют шифр А68.1 «Эпидемический

возвратный тиф» (возвратные лихорадки, вызванные любым видом *Borrelia*, за исключением *Borrelia recurrentis*), А68.9 «Возвратная лихорадка неуточненная».

Анализ истории изучения БЛ в настоящее время позволяет утверждать, что типичные кожные проявления, являющиеся наиболее частыми признаками заболевания, были описаны в России и Европе еще в конце XIX – начале XX веков такими врачами как П. В. Никольским, А. Buchwald, J. Pick, K. Herxheimer, K. Hartmann, A. Afzelius, B. Lipschutz [198; 341; 621]. Взаимосвязь между появлением на коже кольцевидной мигрирующей эритемы и присасыванием клещей *I. ricinus* установил еще в начале XX века А. Афзелиус [341]. В это же время были описаны проявления хронического атрофического акродерматита и доброкачественной лимфоцитомы кожи [621; 978]. Некоторые ученые наблюдали больных с болями и парестезиями после присасывания иксодовых клещей с последующими неврологическими нарушениями в виде менингита, пареза лицевого нерва и радикулита [387; 593].

После открытия вируса КЭ многие авторы полагали, что заболевания, возникающие после присасывания клещей и протекающие с эритемой, представляют собой эритематозную (серонегативную) форму КЭ [34; 39; 117; 169; 311], а кожные проявления рассматривались как проявления аллергии [259]. В начале 1950-х гг. С. Н. Давиденков [62] отмечал случаи КЭ, отличающиеся благоприятным течением, с легко выраженными общелихорадочными явлениями. В дальнейшем было показано, что при клещевой эритеме, как правило, не наблюдается характерных для КЭ иммунно-биологических сдвигов в организме, а попытки выделить вирус КЭ были безуспешными [21; 290]. В середине 1960-х гг. А. Н. Шаповал, Р. И. Кузнецова, А. А. Чурилова в своей работе детально описали основные симптомы БЛ и сделали вывод, что клещевая эритема представляет собой самостоятельное заболевание, в распространении которого участвуют иксодовые клещи [131-133].

Изучение БЛ, как нозологической формы началось с 1975 г. в городе Лайм штата Коннектикут (США), где была зарегистрирована вспышка юношеского ревматоидного артрита с поражением сердца и нервной системы среди детей, отдыхавших в летнем лагере. Заболевание получило свое название – болезнь Лайма (Lyme disease) по названию места, где была зарегистрирована вспышка. Заболевание развивалось после присасывания клещей, в большинстве случаев артрит сочетался с клещевой мигрирующей эритемой [569]. Возбудитель был открыт только в 1982 г. швейцарским энтомологом W. Burgdorfer [440], который выделил неизвестные ранее спирохетоподобные микроорганизмы из голодных взрослых клещей *I. dammini* в Лонг-Айленд штата Нью-Йорк (США). Именно это открытие, а затем и идентификация эталонного штамма спирохет В-31 из клещей *I. scapularis* (прежнее название – *I. dammini*) по целому ряду современных иммунологических, микробиологических и клинических тестов с

выделением позднее боррелий от больных, животных и других видов клещей в США и Европе привели к заключению об этиологическом единстве БЛ и хронической мигрирующей эритемы [389; 880]. В октябре 1984 г. возбудитель получил официальное название *Borrelia burgdorferi* [418]. С 1991 г. БЛ включена в официальный государственный перечень заболеваний, регистрируемых на территории РФ [140].

Эритема в месте присасывания клеща всегда считалась характерным клиническим симптомом БЛ. Также не отрицалась, так называемая, безэритемная форма боррелиоза [736; 892]. Причины такого полиморфизма долгое время не находили объяснения. В 1991-1992 гг. два штамма *B. miyamotoi* (HT31 и FR64b) были впервые выделены от клещей *I. persulcatus* и полевой мыши *Apodemus argenteus* на острове Хоккайдо (Япония) и описаны как новый вид боррелий [596]. Молекулярно-генетический анализ показал принадлежность этого микроорганизма к группе боррелий – возбудителей КВЛ, встречавшихся на то время исключительно в аргасовых клещах. В 2001-2003 гг., по мере развития методов ПЦР для выявления боррелий, ДНК *B. miyamotoi* была найдена в клещах *I. ricinus*, собранных в Рейнской долине, в Швеции, Северной Америке [589; 838]. Американской группой под руководством D. Fish штамм *B. miyamotoi* (LB2001) был получен из клещей *I. pacificus*, для чего иммунодефицитных мышей линий SCID инфицировали путем кормления на них зараженных клещей, затем следующее поколение клещей инфицировали путем кормления на зараженных мышах и т.д. [370]. Этот процесс продолжался до 2015 г., поскольку роста в культуральной среде *B. miyamotoi* добиться не удалось. В России изучение ранее неизвестной инфекции было начато сотрудниками ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва). ДНК *B. miyamotoi* была обнаружена в крови 25 больных в г. Ижевске в 2003 г., которым на основании эпидемиологических, клинических и серологических данных был поставлен диагноз «Иксодовый клещевой боррелиоз, безэритемная форма». Анализ историй болезни показал характерную клиническую картину, типичную также для КВЛ, отсутствие эритемы у 21 из 25 больных, а также возможность, как минимум, 2-3 приступов лихорадки, разделенных афебрильным промежутком в 5-15 дней, что и наблюдалось у 4 больных. У одного пациента ДНК *B. miyamotoi* в крови была выявлена как во время первого, так и во время второго приступа лихорадки. Несмотря на то, что результаты исследования были опубликованы [242] отечественные и зарубежные исследователи продолжали рассматривать *B. miyamotoi* как непатогенный эндосимбионт клещей, который периодически в них выявляли в ходе скрининговых исследований в Америке и Европе.

Этиология

Возбудители клещевых боррелиозов относятся к порядку Spirochaetales, семейству Spirochetaceae, роду Borrelia. Некоторые спирохеты являются известными патогенами, вызывая лептоспирозы (представители рода Leptospira), сифилис (Treponema pallidum), вшивый (эпидемический) возвратный тиф (Borrelia recurrentis).

Род *Borrelia* является монофилетическим, но по генетическим, экологическим и эпидемиологическим признакам распадается, как минимум, на две большие ветви: 1) боррелии группы возбудителей БЛ, в которую входят четыре основных патогенных для человека представителя – *B. burgdorferi sensu stricto* (*B. burgdorferi*), *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. bavariensis*, а также некоторые другие возбудители, патогенность которых изучается – *B. lusitaniae*, *B. bissettiae*, *B. valasiana*, *B. spielmanii* и др.; 2) боррелии группы возбудителей КВЛ – *B. persica*, *B. duttoni*, *B. hermsii*, *B. turicatae*, *B. parkeri*, *B. miyamotoi* и др. Переносчиками боррелий первой группы являются «твердые» клещи рода *Ixodes* (иксодовые клещи), второй группы – как правило, «мягкие» клещи рода *Ornithodoros* (аргасовые клещи) [134; 139; 142; 228; 229; 240; 321; 697]. Боррелии первой группы составляют видовой комплекс *B. burgdorferi* s.l. В настоящее время насчитывается 23 геновида (Таблица 5). Эти возбудители распространены в странах умеренного климата Северного полушария, переносятся иксодовыми клещами, основными хозяевами их являются грызуны, птицы и ящерицы. Возбудители второй группы в основном встречаются в зоне тропического климата, но есть исключения. *B. miyamotoi* принадлежит ко второй группе, но переносится клещами рода *Ixodes* [228; 396; 790]. Другими известными исключениями из правила являются виды боррелий *B. lonestari* и *B. theileri*, переносимые иксодовыми клещами рода *Amblyomma* и *Rhipicephalus*, соответственно.

В соответствии с географическим распространением и видами клещей-переносчиков существует, как минимум, три геноварианта *B. miyamotoi* – азиатский, европейский и американский. Некоторые специалисты предлагают рассматривать их как отдельные геновиды, объединенные в группу *B. miyamotoi sensu lato*, закрепив название *B. miyamotoi sensu stricto* за азиатским геновариантом [423; 424].

Гомология геномной ДНК у боррелий – возбудителей БЛ и КВЛ – составляет 30-44%, а среди различных видов боррелий, входящих в комплекс *B. burgdorferi* s.l. – 48-70% [767].

Таблица 5 – Видовой комплекс боррелий *B. burgdorferi* s.l. [733]

Вид боррелии	Штамм	Резервуарные хозяева	Переносчики	Географическое распространение	Патогенность для человека
<i>B. afzelii</i>	VS461	Грызуны, насекомоядные	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i> , <i>I. hexagonus</i>	Азия, Европа, Россия	Да
<i>B. americana</i>	SCW-41	Птицы, грызуны	<i>I. minor</i> , <i>I. pacificus</i>	Северная Америка	Неизвестно
<i>B. andersonii</i>	21,038	Птицы, кролики	<i>I. dentatus</i>	Северная Америка	Неизвестно
<i>B. bavariensis</i>	PBi	Грызуны	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i>	Азия, Европа, Россия	Да
<i>B. bissettiae</i>	DN-127	Грызуны	<i>I. spinipalpis</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>I. ricinus</i>	Европа, Северная Америка	Вероятно
<i>B. burgdorferi sensu stricto</i>	B31	Птицы, грызуны, насекомоядные, плотоядные	<i>I. ricinus</i> , <i>I. scapularis</i> , <i>I. affinis</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>I. minor</i> , <i>I. hexagonus</i>	Европа, Россия, Северная Америка	Да
<i>B. californiensis</i>	CA446	Грызуны	<i>I. pacificus</i> , <i>I. spinipalpis</i> , <i>I. jellisoni</i>	Северная Америка	Неизвестно
<i>B. carolinensis</i>	SCW-22	Грызуны	<i>I. minor</i>	Северная Америка	Неизвестно
<i>B. chilensis</i>	VA1	Грызуны	<i>I. stilesi</i>	Южная Америка	Неизвестно
<i>B. garinii</i>	20047, NT29	Птицы (в т.ч. морские)	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i> , <i>I. uriae</i>	Азия, Европа, Россия	Да
<i>B. japonica</i>	HO14	Грызуны	<i>I. ovatus</i>	Азия	Неизвестно
<i>B. kurtenbachii</i>	25015	Грызуны	Неизвестно	Северная Америка	Вероятно
<i>B. lanei</i>	CA28-91	Зайцеобразные?	<i>I. spinipalpis</i> , <i>I. pacificus</i>	Северная Америка	Неизвестно
<i>B. lusitaniae</i>	PoTiB2	Ящерицы	<i>I. ricinus</i>	Европа	Вероятно
<i>B. maritima</i>	CA690	Неизвестно	Неизвестно	Северная Америка	Неизвестно
<i>B. mayonii</i>	M14-1420	Грызуны?	<i>I. scapularis</i>	Северная Америка	Да
<i>B. sinica</i>	CMN3	Грызуны	<i>I. ovatus</i>	Азия	Неизвестно
<i>B. spielmanii</i>	PC-Eq17	Грызуны	<i>I. ricinus</i> , <i>I. hexagonus</i>	Европа	Да
<i>B. tanukii</i>	Hk501	Грызуны	<i>I. tanuki</i>	Азия	Неизвестно
<i>B. turdi</i>	Ya501	Птицы	<i>I. turdus</i> , <i>I. frontalis</i> , <i>I. ricinus</i>	Азия, Европа	Неизвестно
<i>B. valaisiana</i>	VS116	Птицы	<i>I. ricinus</i>	Европа	Нет
<i>B. yangtzensis</i>	Okinawa CW62	Грызуны	<i>I. granulatus</i>	Азия	Вероятно
<i>Candidatus B. aligera</i>	нет	Птицы?	Неизвестно	Европа	Неизвестно

Боррелии являются анаэробами, крайне требовательными к условиям культивирования, что определяет необходимость использования обогащенных питательных сред (жидкая среда *Barbour-Stoenner-Kelly*). Оптимальная температура необходимая для роста боррелий составляет 33⁰С. *In vitro* они чувствительны к большинству антибиотиков, за исключением рифампицина и сульфаниламидов [390; 392; 620; 735].

Первое полногеномное секвенирование было проведено для *B. burgdorferi sensu stricto* (штамм В31) [600]. Геном оказался необычным для бактерий и состоит из большой линейной хромосомы (910725 п.о.), 12 линейных и 9 кольцевых плазмид (610694 п.о.) [448; 550; 600]. Количество и размеры плазмид варьируют у различных штаммов боррелий. Именно с изменением плазмидного генома связывают феномен избегания боррелий от иммунного ответа макроорганизма («иммунное избегание»). Установлено, что геном боррелий не содержит генов, позволяющих вырабатывать токсины как факторы вирулентности, а патогенность боррелий, по-видимому, обусловлена поверхностными белками и иммунопатологическими реакциями, которые запускаются в организме хозяина [447; 527; 916]. Уникальную структуру имеет набор генов рибосомальных РНК (рРНК), который состоит из одной копии гена 16S рРНК и двух копий каждого из генов 23S и 5S рРНК [735].

Боррелии имеют поверхностные, жгутиковые и цитоплазматические группы антигенов. Методом электрофореза в полиакриламидном геле при разделении цельноклеточных лизатов боррелий выявлено более 100 полос, соответствующих различным полипептидам [733; 735] (Таблица 6).

Таблица 6 – Перечень (неполный) поверхностных и трансмембранных белков боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. [733]

Название белка		Обозначение гена штамма В31	Предполагаемая биологическая роль	Размер
Наружные поверхностные белки (Osp)				
OspA/OspB	Наружные поверхностные белки А/В	BB_A15/BB_A16	Взаимодействие с рецепторами TROSPA, которые находятся в кишечнике клеща	31 kDa/34 kDa
OspC	Наружный поверхностный белок С	BB_B19	Раннее заражение позвоночного хозяина	22 kDa
OspD	Наружный поверхностный белок D	-	Неизвестно, вероятно отвечает за адгезию в средней кишке клеща	28 kDa
VprA	Белок персистенции боррелий А	BBE16	Вероятно отвечает за персистенцию боррелий	-
P35	-	BBA64	Неизвестно, Вероятно отвечает за передачу инфекции позвоночному животному или человеку	35 kDa
DbpA/DbpB	Декорин-связывающий белок А/В	BBA24/BBA25	Взаимодействие с коллагеновыми волокнами;	18 kDa/17 kDa
BVK32	-	BVK32	Связывание с фибронектином	47 kDa
OspF	Поверхностный наружный белок семейства белков F	BVM38/BBO39/ BBR42	Неизвестно, вероятно отвечает за адгезию	29 kDa/26 kDa/25 kDa
VLsE	Вариабельный подобный мажорным экспрессируемый белок	BB_F0041	Уклонение от иммунной системы	35 kDa
OspE	Поверхностный наружный белок семейства белков E	BBL39/BBN38, (BBP38 identical to BBL39)	Уклонение от лизирующего действия системы комплемента	-
ErpG, ErpL, ErpX, ErpY	Белки, связанные с OspE	-	Вероятно, уклонение от системы комплемента	-

Продолжение Таблицы 6

CspA	CRASP-1	BBA68	Уклонение от лизирующего действия системы комплемента	27 kDa
CspZ	CRASP-2	BBH06	Уклонение от лизирующего действия системы комплемента	27 kDa
BBA36	-	BBA36	Неизвестно	-
BBA65	-	BBA65	Неизвестно	-
BBA66	-	BBA66	Неизвестно	-
BBA69	-	BBA69	Неизвестно	-
BBA71	-	BBA71	Неизвестно	-
BBA73	-	BBA73	Неизвестно	-
BBI42	-	BBI42	Неизвестно	-
Наружные внутренние белки (OMP)				
P66	-	BB0603	Предположительно порин	66 kDa
P13	-	BB0034	Предположительно порин	13 kDa
Lmp1	Поверхностно-расположенный мембранный белок 1	BB0210	Защита от адаптивного иммунитета хозяина	128 kDa
BesA/BesB/ BesC	Белки системы выведения боррелий А, В, С	Bb0141/Bb0140/ Bb0142	Предположительно белки отвечают за резистентность боррелий	-
VamA	β -barrel белки	bb0795	Отвечают за сборку β -barrel	94 kDa
BB0405	-	BB0405	Неизвестно	22 kDa
Vgp	Гликозаминогликансвязывающий белок боррелий	bb0588	Гликозаминогликан (ГАГ) - связывающий белок; клеточная адгезия	-

Примечание: «-» - нет данных.

Из белков, входящих в состав наружной клеточной мембраны, наиболее хорошо визуализируются поверхностные липопротеиды (*Osp*), хотя их экспрессия варьирует в зависимости от штамма и вида боррелий [391; 395; 520; 820]. В настоящее время выделяют 6 *Osp* липопротеидов: А, В, С, D, Е, F. Антигенспецифическое типирование липопротеидов *OspA* и *OspC* применяется для внутривидовой дифференциации боррелий. В группе возбудителей КВЛ липопротеиды наружной мембраны получили название *Vmp* – variable major lipoproteins. Межгрупповая дифференциация производится по специфичному для КВЛ ферменту глицерофосфодиэстеразе (*glpQ*). Поскольку многие из антигенов боррелий разных видов сходны между собой, а также имеется сходство с антигенами других бактерий, в частности, спирохет (например, *Treponema pallidum*), возможны перекрестные реакции при использовании серологических методов диагностики [229; 650; 735; 767; 786; 857].

Экология

Клещи рода *Ixodes* являются основными переносчиками боррелий комплекса *B. burgdorferi s.l.* Наиболее важными переносчиками боррелий данного комплекса в Северной Америке

являются клещи *I. pacificus* (к западу от Скалистых Гор) и *I. scapularis* (к востоку от Скалистых гор, Северо-восток, Средний Запад и Юго-восток США, Канада), в Европе – *I. ricinus*, в Восточной Европе и Азии – *I. persulcatus* [446; 469; 561; 732]. Те же клещи являются переносчиками *B. miyamotoi* в Северной Америке, Европе и Азии [370; 596]. В генерациях этих клещей *B. miyamotoi* может передаваться трансвариально и трансстадиально, что повышает ее эпидемический потенциал [843]. Бывают заражены *B. miyamotoi* и являются переносчиками клещи *I. pavlovskiyi* [502]. Имеются единичные сообщения об обнаружении *B. miyamotoi* в клещах других родов – *Dermacentor*, *Haemaphysalis* и др., хотя роль их как переносчиков *B. miyamotoi*, незначительна. О роли других видов клещей рода *Ixodes*, как переносчиков *B. miyamotoi*, информация отсутствует.

Иксодовые клещи *I. uriae* [829], *I. hexagonus* [603], *I. frontalis* [371; 788] или *I. spinipalpis* редко нападают на людей и их роль в передаче боррелий человеку незначительна, однако они питаются на тех же хозяевах, что и клещи *I. pacificus*, *I. scapularis*, *I. ricinus*, *I. persulcatus* и могут передавать им боррелии горизонтальным путем [430; 735]. Более 100 видов позвоночных могут служить хозяевами для клещей рода *Ixodes*. Большинство из этих видов относятся к отрядам грызуны (*Rodentia*), насекомоядные (*Eulipotyphla*), плотоядные (*Carnivores*), зайцеобразные (*Lagomorpha*), а также к классам птицы (в основном воробьинообразные и морские птицы), рептилии. Многие из этих хозяев могут служить резервуаром для боррелий, среди которых различные виды мышей (роды *Apodemus*, *Peromyscus*, *Neotoma*), полевки (роды *Myodes*, *Microtus*), землеройки (род *Sorex*, *Blarina*), белки (роды *Tamias*, *Sciurus*), ящерицы, наземные пастушьи птицы (роды *Turdus*, *Parus*) [405-407; 431; 432; 436; 521; 573; 602; 630; 697; 708; 709; 748; 759; 796; 834; 882]. Показано, что миграция птиц влияет на распространение клещей, инфицированных боррелиями, в новые регионы [671]. Однако экспериментальные исследования показали, что не все хозяева, инфицированные различными видами боррелий являются их резервуаром [522; 710; 882]. Показано, что *B. garinii* могут переживать в птицах, но система комплемента грызунов их уничтожает, в то время как *B. afzelii* наоборот выживают в грызунах, но лизируются системой комплемента птиц. Так, например, комплемент-активная сыворотка оленя лизировала все протестированные виды боррелий, что позволяет предположить, что олени не могут быть их резервуарными хозяевами [628; 864; 911]. По определению Kahl et al. [542] и Martin et al. [629] только те хозяева считаются резервуарно-компетентными, которые способны заразиться возбудителем от компетентного клеща-переносчика, и что очень важно передать возбудитель обратно переносчику [591; 949]. Некоторые исследования показали, что хозяева, однажды инфицированные боррелиями, переносят инфекцию на протяжении всей жизни [415]. Однако экспериментальные исследования передачи инфекции с использованием различных

изолятов *B. burgdorferi sensu stricto* показали, что продолжительность заражения может различаться между штаммами боррелий [499; 588].

В России основными патогенными для человека геновидами боррелий, которые распространены повсеместно, являются *B. garinii* и *B. afzelii*, реже *B. burgdorferi sensu stricto* [128]. От клещей также выделяются изоляты *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. bavariensis*, *B. valaisiana* и *B. lusitaniae* [135; 140; 223]. Показано, что два и более генетических вариантов боррелий могут находиться в организме одного клеща. Возможно повторное инфицирование человека различными штаммами одного вида боррелий [489].

Эпидемиология

Заболевания людей БЛ чаще всего регистрируют в Северном полушарии – в странах Европы, Азии и Северной Америки, преимущественно в лесной ландшафтной зоне [735] (Рисунок 8).

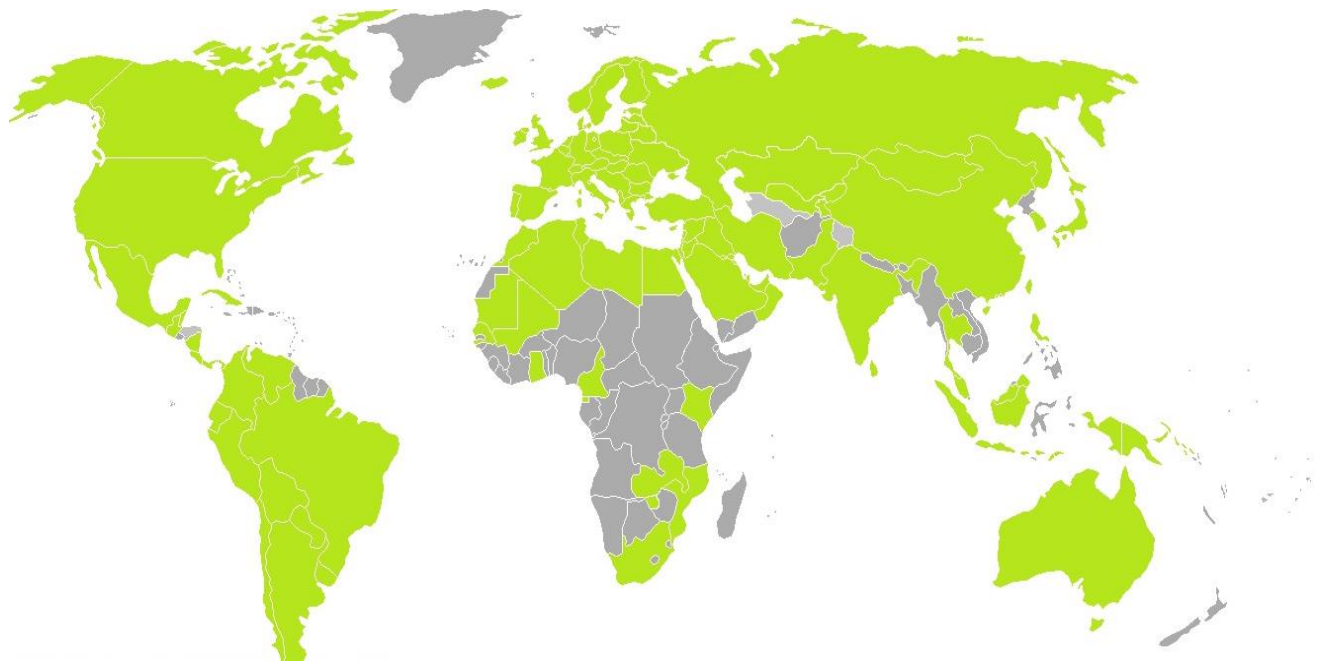
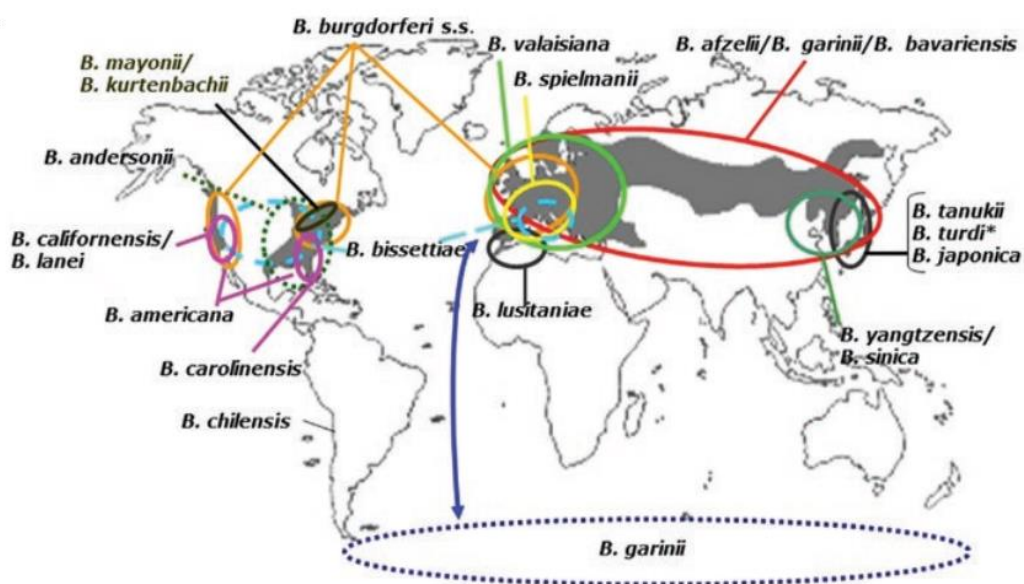


Рисунок 8 – Распространение болезни Лайма в мире

Основные патогенные для человека виды боррелий локализованы в определенных географических областях (Рисунок 9). *B. burgdorferi sensu stricto*, главным образом, распространена в Северной Америке, реже встречается в Европе. *B. garinii* и *B. afzelii* преобладают в Европе, в ряде регионов Азии и не встречаются в Северной Америке [735; 770; 792]. Географические ареалы различных видов боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в каждом случае

ограничены теми территориями, в которых как резервуарные хозяева, так и клещи-переносчики способны поддерживать естественные циклы передачи (Рисунок 9) [544; 591; 804; 805; 949].



*В последние годы *B. turdi* также был обнаружен в Европе в энзоотических циклах, вызванных клещами *I. frontalis* и видами воробьиных птиц [407].

Рисунок 9 – Распространение боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в мире [746]

Восприимчивость человека к боррелиям высокая [135]. Случаи заболевания регистрируются среди всех возрастных групп, чаще болеет взрослое трудоспособное население.

Ежегодно в США регистрируется более 30 000 случаев БЛ [754; 886]. По оценкам Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC), фактическое число случаев приближается к 300 000 в год [808; 886]. В последнее время в странах Западной Европы насчитывается порядка 230 000 случаев в год, хотя считается, что эта цифра занижена [898]. Только в Великобритании ежегодно регистрируется до 1000 серологически подтвержденных случаев заболевания [905]. Рассчитанный средний показатель заболеваемости БЛ в Западной Европе составляет 22 случая на 100 тыс. населения в год [898]. Так, например, во Франции в период 2000-2017 гг. среднегодовой показатель заболеваемости составил 53 случая на 100 тыс. населения [734]. В Северной Италии (Ломбардия) в период с 2000 по 2015 гг. было зарегистрировано всего 1,24 новых случая на 1 миллион жителей [738]. В Финляндии ежегодная заболеваемость составляет 61 на 100 тыс. населения [740], в Германии в 2013 г. – 41 на 100 тыс. населения [660], в Литве этот показатель составляет 99,9 случая на 100 тыс. населения [570]. Заболеваемость в некоторых странах достигает максимума в 350 случаев на 100 тыс. населения и за последние два десятилетия увеличилась [739; 895; 898].

На территории России располагается большая часть мирового ареала клещевых боррелиозов [135; 144]. По данным официальной статистики в последние годы количество заболевших БЛ в России колеблется в широких пределах от 4000 до 8000 случаев в год [203]. Анализ проявлений эпидемического процесса БЛ в РФ будет представлен в главе 3 диссертационного исследования.

Патогенетические закономерности

Путь заражения боррелиями включает в себя ряд этапов: 1. Передача патогена во время питания инфицированного клеща; 2. Адаптация к человеку-хозяину; 3. Распространение боррелий, как правило, гематогенным путем; 4. Колонизация тканей; 5. Установление органоспецифических проявлений [733; 741]. В отличие от других внеклеточных патогенов, боррелии не продуцируют свои собственные токсины или протеазы для проникновения в более глубокие ткани и органы, а поражение тканей и органов-мишеней достигается за счет функционирования различных регуляторных генов, изменяющих уровень экспрессии белков на протяжении жизненного цикла [358]. К классу таких генов относятся *s70*, *s54*, *sgp33-34*, *OspA*, *DbpA*, *OspC*, *BBK32*, *VlsE*, *OspE/F*, гены семейства *mlp*, *rev*, *bba64* и *vls*, чья активность изменяется в цепочке клещ-позвоночное животное-человек (Таблица 7) [579; 649; 662; 664; 718; 987]. Липопротеид *OspA*, выполняя функцию «якоря», принимает участие в колонизации боррелиями клещей, и таким образом, обеспечивает им возможность связаться с компонентами кишечника (*TROSPA*-рецептором) [649; 662; 664; 780]. Снижение уровня экспрессии белка *OspA* во время питания клеща на прокормителе позволяет боррелиям покинуть кишечник и переместиться в слюнные железы клеща, откуда они могут легко попасть в организм млекопитающего [358; 416]. Белок *OspC* экспрессируется на поверхности боррелий только после питания клещей и не обнаруживается на поверхности спирохет, выделенных от голодных клещей. Данный белок обеспечивает миграцию боррелий к слюнным железам клеща с последующим инфицированием и диссеминацией в организме млекопитающего [725; 735]. Белки *DbpA*, *DbpB*, *BbK32* экспрессируются на поверхности боррелий в течение всего инфекционного процесса, обеспечивая их связывание с экстрацеллюлярным матриксом кожи млекопитающего [609]. После инфицирования боррелии остаются в течение нескольких дней в месте проникновения (кожных покровах), вызывая сильные воспалительные реакции. На этой стадии инфекции подвижность спирохет играет важную роль. При диссеминации боррелий происходит колонизация различных органов и тканей, включая суставы, сердце, печень и другие органы, в которых боррелии вызывают воспалительную реакцию [604; 733; 735]. Взаимодействие с

сосудистой сетью хозяина и трансмиграция через эндотелий межклеточным (между соединениями соседних клеток) или внутриклеточным (через эндотелиальные клетки) путями [766; 825] позволяет боррелиям покидать кровотока и глубоко проникать в соединительные ткани и достигать компартментов, известных как иммунопривилегированные участки, где они защищены от врожденной иммунной системы хозяина. В частности, в аваскулярную соединительную ткань, по-видимому, не очень хорошо проникают компоненты системы комплемента, фагоциты, антитела или антибиотики [733].

Таблица 7 – Наружные поверхностные белки, участвующие в патогенезе БЛ

Описание	Синоним	Вид боррелии	Функции	Роль в патогенезе
ВВК32	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание с фибронектином, ГАГ, С1г	Адгезия, иммунное уклонение (прекращение классического пути системы комплемента)
BAD16	-	<i>B. afzelii</i>	Связывание с С1г	Прекращение классического пути системы комплемента
BGD19	-	<i>B. garinii</i>	Связывание с С1г	Прекращение классического пути системы комплемента (снижение способности ингибировать систему комплемента)
DbpA/DbpB	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i> , <i>B. afzelii</i>	Связывание с декорином, дерматансульфатом	Адгезия
Bgp	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание с ГАГ	Адгезия
P66	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Порин, связывающийся с интегрином $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ и $\alpha\text{V}\beta\text{3}$	Адгезия, развитие инфекции (у мышей)
RevA	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание с фибронектином	Адгезия
RevB	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание с фибронектином	Адгезия
ErpX	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание с ламинином	Адгезия
VmpA	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание с ламинином	Адгезия, потенциальная роль в развитии артрита (у мышей)
ВВ0406	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. bavariensis</i> , <i>B. garinii</i>	Связывание с ламинином	Адгезия, развитие инфекции (у мышей)
ВВ0347	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание с фибронектином	Адгезия

Продолжение Таблицы 7

OspC	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. garinii</i>	Связывание плазминогена, связывание с фибронектином, ограниченное связывание с дерматансульфатом	Адгезия, адаптация к хозяину и тропизм к тканям, уклонение от иммунитета (прекращение классического и лектинового путей системы комплемента)
VlsE	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Антигенное разнообразие	Иммунное уклонение, развитие инфекции
CspA	CRASP-1, BbCRASP-1, BBA68, ZS7.A68, FHBP	<i>B. burgdorferi s.s.</i> , <i>B. afzelii</i> , <i>B. spielmani</i> , <i>B. mayonii</i>	Связывание фактора Н, фактора Н-подобного белка 1, С7, С8, С9, терминального комплекса комплемента, плазминогена, коллагена, фибронектина	Иммунное уклонение, (прекращение альтернативного и терминального путей системы комплемента), адгезия, специфичность к хозяину
CspZ	CRASP-2 BbCRASP-2 BBH06	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание фактора Н, фактора Н-подобного белка 1, плазминогена, ламинина, коллагена, фибронектина	Иммунное уклонение, (прекращение альтернативного пути системы комплемента), адгезия, специфичность к хозяину
ErpA	CRASP-3, BbCRASP-3, BBN38	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание фактора Н, фактора Н-подобного белка 1, 2, 5, плазминогена	Иммунное уклонение, (прекращение альтернативного пути системы комплемента)
ErpC	CRASP-4, BbCRASP-4	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание фактора Н, фактора Н-подобного белка 1, 2, плазминогена	Иммунное уклонение, (прекращение альтернативного пути системы комплемента)
ErpP	CRASP-5, BbCRASP-5, ErpI, ErpN, BBP38, BBL39, OspE	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание фактора Н, фактора Н-подобного белка 1, 2, 5, плазминогена	Иммунное уклонение, (прекращение альтернативного пути системы комплемента)
Erp ortholog	Erp63	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	Связывание фактора Н, фактора Н-подобного белка 1, плазминогена	Иммунное уклонение, (прекращение альтернативного пути системы комплемента)
BGA66	-	<i>B. bavariensis</i>	Связывание С7, С8, С9, терминального комплекса комплемента	Иммунное уклонение, (прекращение терминального пути системы комплемента)
BGA71	-	<i>B. bavariensis</i>	Связывание С7, С8, С9, терминального комплекса комплемента	Иммунное уклонение, (прекращение терминального пути системы комплемента)
pncA	-	<i>B. burgdorferi s.s.</i>	-	Инфекционность

Примечание: «-» - нет данных.

Боррелии попадают в организм человека со слюной клеща. При проникновении боррелий комплекса *B. burgdorferi s.l.* на коже в месте присасывания клеща развивается мигрирующая кольцевидная эритема. Плазминоген, связываясь с боррелиями, активируется, образуется

плазмин, который способствует диссеминации боррелий из места внедрения. С током лимфы и крови возбудитель попадает во внутренние органы. Под воздействием факторов неспецифической защиты макроорганизма часть боррелий погибает, выделяя эндотоксин, который запускает каскад иммунопатологических реакций [735; 886].

Для адаптации и успешного выживания в организме человека, несмотря на выработку специфических антител и клеточных реакций, боррелии используют различные механизмы – антигенную вариабельность, иммунное избегание, секвестрацию, проникновение и укрытие в экстрацеллюлярном матриксе, подвижность, хемотаксис, а также модуляцию поверхностных белков, на которую влияет экспрессия генов в разные моменты времени в инфекционном цикле. За счет ряда своих поверхностных белков (*Fhbp*, *OspE/F*, *Erps*) спирохеты способны ингибировать комплементзависимый фагоцитоз, связывающий плазменный фактор Н – плазматический регуляторный белок системы комплемента, усиливать синтез противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10) и связывать на своей поверхности плазминоген. Механизмы патогенности отличаются у разных видов боррелий. Например, белок *Bbk32* встречается у боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. и отсутствует у возбудителей КВЛ. Данный белок обеспечивает адгезию возбудителя на поверхности эндотелия и способствует его выходу из кровотока [229; 592; 763; 766]. Вероятно, поэтому экстравакулярная локализация является редким событием для КВЛ, а их клиническая картина напоминает картину бактериемии. Одним из приспособительных механизмов боррелий является их способность к рекомбинационным перестройкам антигенной структуры поверхностных белков в процессе инфекционного цикла в организме человека. Такое изменение антигенных свойств в ходе инфекции позволяет боррелиям «укрываться» от гуморального иммунного ответа, формируя либо персистирующее при БЛ, либо рецидивирующее при КВЛ течение [579; 956; 987]. Ряд исследователей предполагают, что хроническое течение БЛ связано с, так называемыми, морфологическими вариантами боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., которые называются «псевдоцистами» (L-формы, сферопласты, морфологические варианты, круглые тельца) [346; 368; 580; 607; 694; 891; 900]. Однако проведенный систематический обзор литературы Lantos P.M et al. не показал данной связи [712]. В ряде работ показано, что определенный HLA-генотип хозяина может влиять на феномен антигенной мимикрии возбудителя. Данный феномен обусловлен схожестью антигенов боррелий с рядом аутоантигенов организма хозяина (антигены синовиальной оболочки суставов, кардиомиоцитов, нефроглиальных клеток), таким образом может запускаться аутоиммунный воспалительный процесс [592; 763; 766]. В качестве дополнительных механизмов персистенции боррелий на возможность внутриклеточного паразитирования указывает незавершенный фагоцитоз [718; 987].

Патогенетические аспекты боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* (БМ), в настоящее время не описаны. Но в связи с тем, что боррелии комплекса *B. miyamotoi* s.l. по своим генетическим характеристикам близки к группе боррелий – возбудителей КВЛ и, в меньшей степени, к группе боррелий – возбудителей БЛ, вероятно, патогенез БМ будет похож на патогенез при КВЛ. Наиболее интересным аспектом патогенеза КВЛ и, очевидно, БМ являются рецидивы лихорадки и изменения антигенов на поверхности спирохет. Во время периодов лихорадки боррелии быстро делятся, и их концентрация может достигать 100 000 и более микроорганизмов на мм³ в мазке крови [729; 883]. На доминирующие Vmp антигены в организме человека развивается специфический иммунный ответ, боррелии уходят из крови, и лихорадка прекращается, температура тела становится нормальной (наступает афебрильный период). Однако затем спирохеты экспрессируют другой Vmp, что приводит к повторной спирохетемии и лихорадке. Таким образом, периоды лихорадки и афебрильные периоды повторяются снова и снова [627]. Циклический процесс изменения антигенов, сопровождаемый выработкой специфических антител, ответственен за рецидивирующее течение болезни [392; 883]. При антигенном сдвиге антигены обычно встречаются в одной и той же последовательности [394]. При третьем эпизоде спирохетемии и, соответственно, лихорадки, в крови находится уже смесь серотипов спирохет. Гены Vmp находятся на линейных плаزمиде боррелий, и активация нового Vmp является результатом рекомбинации между различными плазмидами [394]. При патологоанатомическом вскрытии обнаруживают гепатит, милиарные абсцессы селезенки и кровоизлияния в ЦНС с периваскулярными инфильтратами. Были описаны геморрагические поражения ЖКТ и почек [883]. У возбудителей КВЛ от 26 и более вариантов генов Vmp, но в каждый отдельный момент активен только один ген, находящийся в специальном «месте экспрессии» на линейной плазмиде. Остальные варианты находятся на «молчащих» архивных плазмиде, но в процессе случайной рекомбинации могут заместить «работающий» ген. Таким образом, антигенный репертуар одного штамма боррелий насчитывает до 30 серотипов с разными Vmp [786; 836]. По мере того, как вырабатываются антитела к «первому» серотипу, количество боррелий в крови уменьшается. Предполагается, что между приступами боррелии «укрываются» от гуморального иммунитета в соединительной ткани, печени, селезенке, возможно в костном мозге и ЦНС. При возникновении удачного нового сероварианта боррелии вновь накапливаются в крови, вызывая повторный приступ лихорадки (возможно до 7 приступов) [442; 826; 844; 889].

Клинические проявления

При БЛ поражаются кожа, нервная и сердечно-сосудистая системы, опорно-двигательный аппарат, печень, глаза. На сегодняшний день единой общепринятой классификации БЛ в мире не существует [83]. Тем не менее в основу клинических классификаций положены признаки поражения органов и тканей организма человека, возникающие на определенных стадиях развития заболевания. Так, в США выделяют 3 стадии течения БЛ: I – локализованная (первые 5-6 недель от начала заболевания), II – ранняя диссеминированная (до 22 недель), III – поздняя диссеминированная (стадия персистенции возбудителя, от нескольких месяцев и более) [490].

Согласно классификации БЛ в России выделяют [44; 162; 166; 374]: в зависимости от наличия или отсутствия эритемы – эритемную и безэритемную (при этом под эритмой понимается участок гиперемии более 5 см, возникший в месте присасывания клеща в срок инкубационного периода – до 35 дней); в зависимости от признаков диссеминации боррелий – раннюю локализованную (наличие эритемы), раннюю диссеминированную и позднюю стадии; по течению – острое (до 3 мес.), подострое (3-6 мес.), хроническое (более 6 мес.); по степени тяжести – легкая, среднетяжелая, тяжелая; в зависимости от иммунного ответа – серопозитивную (безэритемная форма), серонегативную (эритемная и безэритемная формы); в зависимости от ведущего клинического синдрома – с преимущественным поражением кожи, нервной системы, сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата и т.д. (наблюдается при ранней диссеминированной и поздней стадии БЛ).

Клиническая картина БЛ отличается в Северной Америке и в Европе, что является результатом генетических различий между видами боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. [770; 885]. Инкубационный период при БЛ обычно составляет 7-14 дней (диапазон может составлять от 1 до 180 дней) [44; 165; 735; 965]. На месте присасывания клеща появляется расширяющееся эритематозное пятно – мигрирующая эритема более 5 см в диаметре (поражение менее 5 см позволяет поставить диагноз мигрирующей эритемы только в том случае, если она развивается в месте присасывания клеща, возникает не менее, чем через 2 недели с момента инфицирования и размер эритемы постепенно увеличивается) [733]. Мигрирующая эритема, как правило, округлая, может быть однородной, кольцевой, и является патогномичным симптомом БЛ. В месте эритемы у ряда больных могут быть такие симптомы как зуд, жжение и боль. Нелеченная мигрирующая эритема может сохраняться неделями и месяцами, а может самопроизвольно исчезнуть в течение нескольких недель [965]. Инфекция также может протекать бессимптомно. Некоторые пациенты жалуются на гриппоподобные симптомы, такие как головная боль, артралгии, усталость, температура тела редко превышает 38⁰С. Эта стадия является ранней

локализованной стадией [965]. На этой стадии может возникнуть боррелиозная лимфоцитома – редкое кожное проявление БЛ, которое диагностируется у 3% пациентов с БЛ в Европе. Как правило, появляется через 3 недели (от 2 дней до 6 месяцев) рядом с местом присасывания клеща и проявляется в виде папулы или узелка от красного до синеватого цвета диаметром до нескольких сантиметров, обычно локализующегося на мочке уха у детей, в области сосков молочных желез у взрослых [881]. Боррелиозная лимфоцитома может появиться на любой стадии БЛ и быть единственным проявлением заболевания. Продолжительность течения нелеченной боррелиозной лимфоцитомы может занимать от нескольких месяцев до года и более [881].

Спустя 1-3 месяца от начала болезни у ряда больных (как правило, не получавших антибактериальной терапии) возникает ранняя диссеминированная стадия. Боррелии диссеминируют в организме, поражая различные органы (кожу – множественные эритемы, печень – Лайм-гепатит, глаза – офтальмоборрелиоз) и системы организма (нервную систему – нейроборрелиоз, сердечно-сосудистую систему – Лайм-кардит, опорно-двигательный аппарат – Лайм-артрит) [9; 17; 114; 158-161; 181; 965]. Множественные эритемы – это вторичные поражения кожи. Они меньше и, как правило, более однородны, по сравнению с мигрирующей эритемой. Неврологическое поражение включает паралич Белла – неврит, поражающий лицевой нерв, менингит, менингоградикулит. Артрит рассматривается как перемежающийся воспалительный моно- или олигоартрит, в основном крупных суставов. Поражение сердца проявляется нарушением атриовентрикулярной проводимости [965].

Поздняя стадия БЛ обычно проявляется через несколько месяцев и даже лет после контакта с инфекцией – присасывания инфицированного боррелиями клеща. Эта стадия характеризуется артритом и синовитом крупных суставов (например, коленных), хроническими неврологическими проявлениями с периферической невропатией и расстройствами ЦНС, такими как деменция или поперечный миелит. Некоторые изменения могут быть необратимыми [965]. При нелеченой БЛ кожные проявления распространяются от нескольких месяцев до нескольких лет. Хронический атрофический акродермит (ХААД), локализованный на конечностях, является типичным кожным проявлением поздней стадии у пациентов с БЛ в Европе, при этом случаи в Северной Америке очень редки [965]. Проявляется ХААД в виде синевато-красных изменений кожи на дистальной части верхних и нижних конечностей. Вначале возникает отек, а затем прогрессирует атрофия кожи. Фиброзные узелки могут развиваться над суставами [292; 438; 457; 653; 727; 736; 767; 920; 965].

Характер органных поражений у больного с БЛ может зависеть от вида боррелий. Например, ХААД и нейроборрелиоз более характерны для Европы, тогда как Лайм-артрит – для США. Получены данные о более частом выявлении *B. garinii* при нейроборрелиозе, *B. burgdorferi*

sensu stricto при Лайм-артрите, *B. afzelii* при ХААД [335; 336; 349; 364; 373; 376; 405; 407; 416; 417; 433; 444; 450; 454; 455; 457; 459; 466; 475; 483; 505; 511; 524; 545; 549; 559; 594; 622; 630; 653; 736; 766; 767; 769; 770; 771; 773; 785; 787; 788; 853; 862; 872; 896; 918; 920]. Спонтанное выздоровление при позднем боррелиозе не описано.

До момента наших исследований и нашей публикации в 2011 г. [644] патогенность *B. miyamotoi* была неизвестна. Клинические проявления острой стадии боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* в последние годы активно описываются [10; 28; 60; 89; 102; 112; 278; 305; 422; 426] и в целом напоминают клиническую картину при КВЛ [397; 421; 423], при которой инкубационный период в среднем составляет 7 дней (4-18 дней) и проявляется лихорадкой, головной болью, миалгией, артралгией, тошнотой, рвотой [883]. Температура тела, как правило, 38-40⁰С и может длиться 3 дня (от 12 часов до 17 дней), за которым следует афебрильный период продолжительностью 1 неделя [939]. При отсутствии антибактериального лечения лихорадка и другие симптомы могут повторяться до пяти раз и более. Во время периодов нормализации температуры боррелии из крови уходят во внутренние органы. Как ранее было сказано, спирохеты способны изменять поверхностные мембранные антигены, в частности, вариабельные главные белки (Vmp), что позволяет им ускользать от иммунной системы хозяина [806]. Они способны многократно изменять свои белки внешней поверхности мембраны (антигенная изменчивость). По мере того, как лихорадка отступает, может возникнуть макулярная сыпь, описываемая как 1-2-сантиметровые розовые или эритематозные пятна с неправильными границами (также могут быть круглыми и резко очерченными) или другие кожные проявления, такие как папулы, петехии, пурпурные поражения и покраснение лица могут появиться почти у 20% инфицированных людей [494; 753]. Другие симптомы могут быть неспецифическими и включать боль в животе, диарею, сухой кашель, боль в глазах, головокружение, светобоязнь, спутанность сознания, боль в шее. В общем анализе крови более чем у трети инфицированных людей выявляется тромбоцитопения. Могут наблюдаться гепатомегалия, спленомегалия, поражение глаз (увеит, эндофтальмит), миокардит, менингеальные симптомы [337; 443; 720; 755; 883]. В некоторых случаях у пациента может развиваться реакция Яриша-Герксгеймера после приема антибиотиков, таких как ципрофлоксацин или амоксициллин, по поводу предполагаемой бактериальной инфекции [393; 682]. До начала наших исследований, проводимых в Свердловской области, клиническая картина БМ не была известна. В дальнейшем клинические проявления данного заболевания подробно были изучены на территории Республики Удмуртия [260] и Новосибирской области [254]. В литературе описаны несколько случаев менингоэнцефалита у иммунокомпроментированных [330; 756] и иммунокомпетентных лиц [425].

Диагностика

При ранней локализованной стадии БЛ диагноз может быть поставлен на основании эпидемиологического анамнеза и наличия мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща без специфического лабораторного подтверждения [965].

Лабораторные методы исследования помогают выявить инфекцию у пациентов при отсутствии мигрирующей эритемы или с атипичными поражениями кожи. Специфическая лабораторная диагностика БЛ включает выявление возбудителя методом микроскопии, изоляцию боррелий с использованием культурального метода, обнаружение ДНК боррелий методом ПЦР, выявление специфических IgM и IgG к боррелиям комплекса *B. burgdorferi* s.l. методом ИФА (с использованием флуоресцентных антител), ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (на основе иммуносорбента) [965] или РНИФ [148]. Выявление специфических IgM и IgG к боррелиям является первым рекомендуемым этапом специфической лабораторной диагностики. Однако интерпретацию результатов серологических тестов следует проводить с осторожностью, поскольку наличие антиборрелиозных антител указывает на то, что инфекция произошла, но не указывает на наличие активной инфекции. С другой стороны, отрицательный результат серологического теста не исключает инфицирование. Сыворотки от пациентов с сифилисом, лептоспирозом, аутоиммунными заболеваниями, герпетическими инфекциями, во время беременности могут перекрестно реагировать с антигенами боррелий и давать ложно положительные результаты [965].

Применение РНИФ позволяет обнаружить антитела у 40-50% больных в первые 2-4 недели заболевания, а при исследовании образцов крови в динамике, взятой с интервалом в 1-3 месяца, удается подтвердить заболевание в 60-70% случаев. Диагностически значимым титром в данной реакции считается положительный результат при разведении сыворотки 1:40, а также четырехкратное нарастание титра антител во второй из взятых проб относительно первой [148]. Данный метод в настоящее время редко используется для диагностики заболевания.

При определении антител методами ИФА или ELISA в основном используются несколько (от 4 до 8) рекомбинантных антигенов боррелий, относящихся к разным геновидам. Методы обладают большей диагностической чувствительностью в сравнении с РНИФ. Антитела IgM начинают обнаруживаться к концу второй недели заболевания, IgG – на 3-4-й неделе заболевания. Обнаружение IgM отмечают у 50% больных с хронической формой БЛ, что, видимо, связано с изменением антигенных детерминант во время персистенции боррелий в организме

больного [148]. Данные о диагностической чувствительности выявления антител на разных стадиях заболевания приведены в Таблице 8.

Таблица 8 – Диагностическая чувствительность определения специфических антител при БЛ

Стадия заболевания	IgM	IgG	IgM+IgG
Локализованная (I стадия)	45-70%	40-80%	90%
Ранняя диссеминированная (II стадия)	30-60%	65-100%	90-100%
Поздняя диссеминированная (III стадия)	5-50%	До 100%	До 100%

При лабораторном подтверждении нейроборрелиоза для определения наличия интратекального синтеза антител проводится выявление специфических антител в сыворотке крови и СМЖ. Относительное увеличение концентрации специфических IgG в ЦНС можно определить путем вычисления ликвор-сывороточного индекса (ЛСИ). Для этой цели определяют концентрацию специфических Ig (титр) и общих Ig (г/л) в сыворотке крови и СМЖ. Значения ЛСИ больше 2-х расцениваются как положительные и указывают на наличие синтеза специфических иммуноглобулинов клетками глиальной ткани. Значения 1,5-1,9 считают пограничными результатами [545; 736; 945].

Для подтверждения специфичности результатов выявления антител методами ИФА или РНИФ используют метод иммуноблота, который позволяет обнаружить специфические антитела к определенным белкам возбудителя (Рисунок 10). В качестве антигена в основном используются рекомбинантные белки р83-100, р58, р41i, р39 (BmpA), OspC (р20-25), р17 (DbpA), ВВК32, VlsE, полученные для двух, а иногда и для трех видов боррелий [148]. Оценка результатов иммуноблота представлена в Таблицах 9-11.

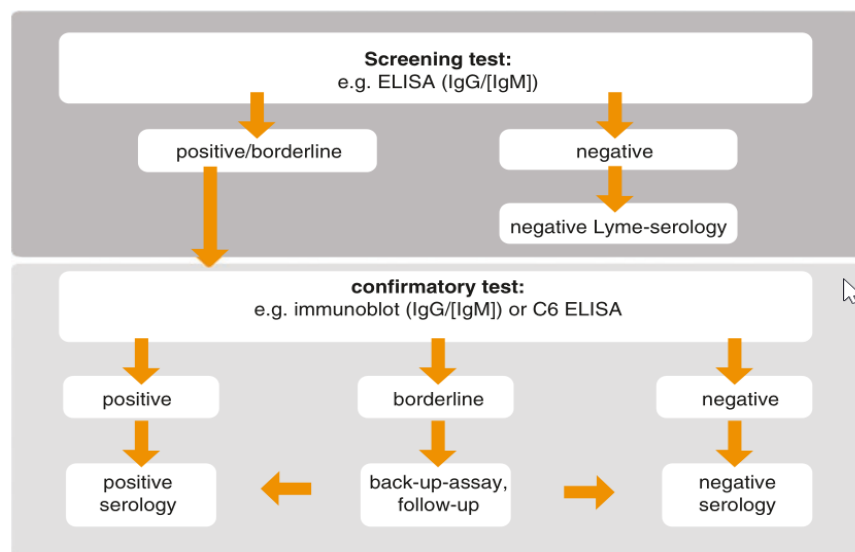


Рисунок 10 – Алгоритм двухуровневой схемы диагностики БЛ на основе ИФА или ELISA и иммуноблота, модифицированный Hunfeld и соавт. (2009 г.) [646]

Таблица 9 – Оценка результатов при выявлении IgM методом иммуноблота

Отрицательный	Положительный	Неопределенный
Не выявлены антитела ни к одному из антигенов. Выявлены антитела только к антигену p83-100	Выявлены антитела к белку OspC. Выявлены антитела как минимум к двум антигенам из группы: p41, VlsE, p17	Выявлены антитела только к одному антигену из группы p41, VlsE, p17 в сочетании или без антител к антигену p58, p39, BBK32 или выявлены антитела к любому количеству антигенов p58, p39, BBK32

Таблица 10 – Оценка результатов при выявлении IgG методом иммуноблота

Отрицательный	Положительный	Неопределенный
Не выявлены антитела ни к одному из антигенов. Выявлены антитела только к антигену p17	Выявлены антитела к белку VlsE. Выявлены антитела как минимум к двум антигенам из группы: p83-100, p58, p41, p39, BBK32, OspC, p17	Выявлены антитела только к одному антигену из группы: p83-100, p58, p41, p39, BBK32, OspC

Таблица 11 – Комплекс антител, выявляемых на разных стадиях

Стадия заболевания	Антигены, к которым выявлены IgM	Антигены, к которым выявлены IgG
Локализованная (I стадия)	OspC, p41, p17, VlsE	P41, BBK32, p17, OspC, VlsE
Ранняя диссеминированная (II стадия)	OspC, p41, p17, BBK32, VlsE	p17, p41, VlsE, OspC, BBK32, p58
Поздняя диссеминированная (III стадия)	OspC, p41, VlsE, P39, p58	p17, BBK32, p41, p58, VlsE, p83-100, OspC, p39

Микроскопия (световая, фазово-контрастная, темнопольная, электронная) биологического материала (СМЖ, кровь, синовиальная жидкость, биоптаты тканей) не имеет широкого применения из-за низкой чувствительности вследствие низкой концентрации возбудителя (в среднем концентрация боррелий в 1 мл биологического материала не превышает 10 000 микробных клеток), за исключением биоптатов кожи. В основном микроскопические исследования используются при контроле культуральных методов и как один из методов при оценке инфицированности боррелиями иксодовых клещей, при этом клещ должен быть живым.

При применении для изоляции боррелий культурального метода в качестве среды для культивирования используется модифицированная среда BSK (Barbour-Stoenner-Kelly). Важным условием является получение образцов биологического материала до начала антибиотикотерапии. Из кожных биоптатов удается изолировать боррелии в 50-60% случаев при наличии МЭ и в 90% – при ХААД. При исследовании крови, СМЖ, синовиальной жидкости процент положительных результатов ниже – в среднем 20%. Этот метод не имеет широкого

практического применения как диагностический в виду его длительности (от 3-4 до 10 недель) и высокой стоимости [148].

Выявление ДНК боррелий с использованием молекулярно-биологических методов (преимущественно ПЦР) целесообразно применять в комплексе с выявлением антител. Прямым показанием для применения ПЦР являются боррелиозные менингиты, менингоэнцефалиты, наличие атипичной эритемы, рефрактерные артриты у пациентов с наличием антител к боррелиям. Диагностическая чувствительность данного метода составляет от 20 до 35% при исследовании крови в остром периоде на первой неделе заболевания, от 20 до 80% при исследовании синовиальной жидкости при развитии Лайм-артрита и около 10-30% – при исследовании СМЖ при нейроборрелиозе, что связано с низкой концентрацией возбудителя в биоматериале. Благодаря очень высокой концентрации боррелий в клещах методика ПЦР широко используется для оценки их боррелиофорности [410; 450; 515; 715; 871].

Обнаружение ДНК патогенных боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в крови, СМЖ, синовиальной жидкости или моче пациента является основанием для постановки диагноза БЛ. Выявление специфических антител в образцах крови, взятых в динамике (сероконверсия в парных сыворотках крови) служит подтверждением этиологии заболевания [148].

В целом, чувствительность молекулярно-биологических методов, основанных на ПЦР, при обнаружении 16S рРНК/ДНК боррелий в обычных лабораторных условиях коррелирует с пределами обнаружения при культивировании [334; 335; 510; 574; 590; 837; 842]. В принципе, частота обнаружения 16S рРНК/ДНК боррелий из биоптатов кожи при МЭ и ХААД методом ПЦР составляет около 75% и в случае ранних проявлений данный метод может быть даже более чувствительным (около 68%), чем серологическое исследование методом ИФА на наличие антител (40-60%) [492].

Диагностическая чувствительность метода ПЦР для клинических образцов (кровь, СМЖ, синовиальная жидкость) на основе недавнего мета-анализа [847] суммирована в Таблице 12. В среднем она составляет 20% для СМЖ, примерно 77% для синовиальной жидкости и около 18% для крови [359; 575; 714; 742; 800; 803; 847; 850]. Пациенты с Лайм-артритом остаются исключением, чувствительность ПЦР достигает 77,5% в сравнении с культуральным методом (< 1%) [359, 847, 850]. Вот почему молекулярно-биологическое исследование синовиальной жидкости или биопсии синовиальной оболочки считается очень важным для диагностики Лайм-артрита [492; 847; 903], в то время как ПЦР-тестирование образцов мочи обычно не рекомендуется [484; 485; 517]. Положительные результаты должны быть подтверждены секвенированием ампликонов и идентификацией генов [492]. Сообщается, что после антибиотикотерапии ДНК боррелий может быть обнаружена в течение недель или даже месяцев

в образцах, взятых с ранее пораженных участков кожи [670] и *in vitro* [504; 518]. Обнаружение ДНК боррелий методом ПЦР при отсутствии типичных проявлений заболевания не имеет клинического значения [396; 504; 530] (Таблица 12).

Таблица 12 – Чувствительность и специфичность методов молекулярной диагностики для выявления возбудителей БЛ (модификация по Ružić-Sabljic и Cerar, 2017 г.) [847]

Клинические образцы	Количество исследований	Количество пациентов	Мишени (гены)	Медиана чувствительности (диапазон)	Специфичность
<i>Биоптат кожи (МЭ)</i>	28	5-758	<i>р66, 23S рРНК, флагеллин, rrf-rrl, OspA, recA, 16S рРНК, OspC</i>	68 (30-89)	98-100
Европа	19	5-758		70 (30-80)	
Америка	9	23-139		59 (33-81)	
<i>Биоптат кожи (ХААД)</i>	13	5-59	<i>р66, OspA, хромосомная ДНК, 23S рРНК, rrf-rrl, флагеллин</i>	75 (20-100)	100
<i>СМЖ</i>	22	8-190	<i>хромосомная ДНК, OspA, флагеллин, rrf-rrl, р66</i>	22,5 (5-100)	99-100
Европа	16	8-190		18 (9-100)	
Америка	6	12-81		40,5 (5-93)	
<i>Синовиальная жидкость</i>	12	4-124	<i>rrs-rrl, OspC, OspA, р66, флагеллин</i>	77,5 (23-100)	100
Европа	7	4-20		72 (23-100)	
Америка	5	7-124		85 (60-100)	
<i>Кровь, сыворотка или плазма</i>	11	7-557	<i>polC, OspA, 16S рРНК, rrf-rrl, rpoC</i>	18 (0-100)	95-100
Европа	5	10-557		16 (3,1-100)	
Америка	6	7-76		29 (0-62)	

Определенные сложности использования для диагностики БЛ методов выявления специфических иммуноглобулинов связаны с присутствием анамнестических антител у большей части населения, проживающего на эндемичной территории, и низким уровнем нарастания антител, что является особенностью боррелиозной инфекции. Очень медленные изменения уровня антител к боррелиям (как повышение, так и снижение) также не позволяют использовать оценку уровня антител для контроля эффективности терапии. Учитывая замедленное образование антител при БЛ, при получении однократного отрицательного результата повторяют исследование в пробе крови, взятой через месяц [148].

Микроорганизмы рода *Borrelia* являются микроаэрофилами и могут культивироваться *in vitro* в среде BSK II (модифицированная среда Barbour-Stoenner-Kelly) из кожи, крови, СМЖ и синовиальной жидкости, как было отмечено ранее. Для получения результата требуется несколько недель, и поэтому выделение боррелий не используется в рутинной практике диагностических лабораторий [372; 488] (Таблицы 13 и 14).

Таблица 13 – Лабораторные методы диагностики, применяемые для подтверждения БЛ (в модификации Stanek и соавт., 2011 [736], и Stanek и Strle, 2018 [884])

Клинический диагноз	Основные лабораторные тесты	Подтверждающие лабораторные тесты
Мигрирующая эритема	нет, если типичная	Исследование биоптата кожи методом ПЦР, выделение культуры, значительное изменение уровней специфических антител в сыворотке крови
Боррелиозная лимфоцитома	Специфические IgG	Гистология, исследование биоптата кожи методом ПЦР, выделение культуры
Хронический акродерматит	Высокий уровень специфических IgG в сыворотке крови	Гистология, исследование биоптата кожи методом ПЦР, выделение культуры
Ранняя стадия нейроборрелиоза	Лимфоцитарный плеоцитоз в СМЖ; интратекальный синтез специфических антител**	Интратекальный синтез специфических IgM и IgG, выявление специфических «олигоклональных полос» в СМЖ, значительное изменение уровней специфических антител в сыворотке крови*, исследование СМЖ методом ПЦР, выделение культуры
Поздняя стадия нейроборрелиоза	Лимфоцитарный плеоцитоз в СМЖ; интратекальный синтез специфических антител**; специфические IgG в сыворотке крови	Выявление специфических «олигоклональных полос» в СМЖ
Лайм-артрит	Высокий уровень специфических антител в сыворотке крови	Обнаружение ДНК боррелий в синовиальной жидкости и/или ткани, выделение культуры
Лайм-кардит	Значительное изменение уровней специфических IgG*	Обнаружение ДНК боррелий при эндокардиальной биопсии, выделение культуры

* уровень специфических антител в сыворотке крови может повышаться при прогрессировании инфекции, или снижаться при эффективном лечении и прекращении инфекционного процесса. Для выявления снижения уровня IgG могут потребоваться образцы, собранные с интервалом не менее 3 месяцев; ** интратекальный синтез специфических антител определяют путем исследования одновременно взятых образцов СМЖ и сыворотки крови.

Таблица 14 – Сравнение методов диагностики при БЛ [737]

Клинические проявления	Чувствительность (%) (методы)			Специфичность (%) (методы)		
	Серологические	ПЦР	Культуральные	Серологические	ПЦР	Культуральные
Мигрирующая эритема	50 (40-61)	30-89	40-90	95 (92-97)	98-100	100
Боррелиозная лимфоцитома	35-95	67	24-32	-	-	100
ХААД	98 (84-100)	20-100	20-60	94 (90-97)	100	100
Лайм-артрит	96 (93-100)	40-96	-	94 (91-97)	100	-
Нейроборрелиоз	78 (53-92)	5-17	10-26	78 (40-95)	99-100	100

Примечание: «-» - нет данных.

КВЛ, к которой относится и боррелиоз, вызываемый *B. miyamotoi*, может быть диагностирована на основании наличия спирохет в периферическом мазке крови, окрашенном по Гимзе или Райту, полученном во время эпизодов лихорадки. Также боррелии могут быть визуализированы с помощью микроскопии. Из-за антигенной изменчивости серологическая идентификация боррелий затруднена вследствие низкой чувствительности и специфичности [939]. Существующие на сегодняшний день серологические тесты могут выявлять вследствие перекрестных реакций с общими антигенами боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. или не выявлять антитела к боррелиям КВЛ и к *B. miyamotoi*, в частности. У пациентов, у которых в мазке крови не выявлен возбудитель КВЛ могут быть использованы серологические тесты [857]. Сообщалось о перекрестной реакции серологических тестов с *B. burgdorferi* [443].

У 5% пациентов с рецидивирующей лихорадкой наблюдаются ложноположительные результаты на сифилис [883]. Для диагностики КВЛ применяется метод ПЦР. Так, например. ПЦР-анализ был использован для диагностики КВЛ, вызванной *B. hermsii* [944]. Диагноз также может быть подтвержден при заражении мышей или культивированием в модифицированной среде BSK II.

В дополнение к вышеперечисленным традиционным методам диагностики в литературе описан ряд диагностических методов, некоторые из которых были оценены как безрезультативные [707]. К таким методам относятся иммуногистохимическое обнаружение *B. burgdorferi* s.l. в биоптатах, антигена возбудителя в крови и моче, а также тесты для оценки клеточного иммунитета (тесты на трансформацию лимфоцитов и определение цитокинов) [492; 878; 912; 962; 971]. Также не рекомендуется к применению иммуноферментный анализ (ELISPOT) [444], обнаружение L-форм или сферопластов [712], тесты на субпопуляцию CD57+/CD3-лимфоцитов [890].

Культуральный метод не используется в практической медицине в связи с особенностью боррелий к медленному размножению и высокой стоимостью [171; 175; 439]. Однако в настоящее время изучается взаимодействие боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. с клетками Vero, которые являются моделью для изучения токсического потенциала многих бактериальных патогенов и культуральной средой для выращивания вирусов. Цитотоксический эффект боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. при контакте с Vero-клетками установлен после 2 часов инкубации при 37⁰C [665]. Изучение *B. miyamotoi* затруднялось тем, что все попытки вырастить штаммы данного возбудителя из крови человека были безуспешными [728].

Таким образом, необходима разработка диагностических методик для выявления боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, что важно не только для диагностики данного заболевания, но и его дифференциальной диагностики с другими инфекциями, передающимися

иксодовыми клещами, как минимум с лихорадочной, реже менингеальной формами КЭ на эндемичных территориях, безэритемной формой БЛ, МЭЧ или ГАЧ.

Специфическая профилактика (вакцинопрофилактика)

При БЛ иммунитет к инфекции зависит от штамма боррелии и не является защитным в долгосрочной перспективе, поскольку он снижается в течение одного года после инфицирования [733]. На сегодняшний день идентификация подходящих антигенов для индукции защитного иммунитета является большой проблемой. В 1998 г. компания Smith-Kline Beecham разработала вакцину под торговым названием LYMErix, состоящую из рекомбинантного антигена OspA (внешний поверхностный белок А) [954]. OspA высоко экспрессируется в кишечнике зараженных боррелиями клещей и относительно хорошо сохраняется среди различных видов бактерий [780]. Эта вакцина содержала липидированный OspA адсорбированный на адьюванте гидроксида алюминия в натрий-фосфатном буфере. Часть OspA (165-173) имела очень похожую аминокислотную последовательность с человеческим белком LFA-1 (Lymphocyte Function-Associated antigen – антиген, ассоциированный с функцией лимфоцитов), и эта перекрестная реактивность потенциально была ответственна за побочные эффекты, такие как аутоиммунная реакция, возникшие после ее применения. Выпущенная на рынок в 2002 г. вакцина LYMErix была отозвана из-за общественного мнения о данных потенциально опасных побочных эффектах [328].

Недавно компания BAXTER (Вена, Австрия) успешно протестировала новую OspA-вакцину в ходе I/II фаз клинических испытаний. Эта вакцина представляет собой поливалентную вакцину, состоящую из 3 рекомбинантных антигенов наиболее патогенных для человека трех видов боррелий. Были протестированы три дозы вакцины с адьювантом гидроксида алюминия или без него. Вакцина обеспечивала защиту от всех видов боррелий в США и Европе [848]. Потенциальный риск перекрестной реактивности с антигенами был устранен путем удаления эпитопа, ответственного за аутоиммунные реакции. Вакцина зарекомендовала себя как безопасная с минимальными побочными эффектами, хорошо переносимая и иммуногенная для здоровых взрослых. Сообщалось, что доза адьюванта в 30 мкг является наиболее подходящей [837]. Между тем, другая компания (Valneva) приобрела эту новую вакцину и в настоящее время она проходит различные клинические испытания на людях (торговое название вакцины – VLA15) [433; 963]. VLA15 в настоящее время оценивается в клинических испытаниях II фазы с более высокими дозировками и альтернативными схемами вакцинации (NCT03769194/NCT03970733).

OspC – это другой внешний поверхностный белок, который теоретически может являться альтернативой OspA белку (антигену), поскольку он активируется во время питания клещей и экспрессируется во время передачи боррелий от клеща млекопитающему и в течение первых недель заражения [822]. Однако было показано, что OspC белок сильно варьирует среди различных видов боррелий. Поэтому вакцинация рекомбинантным OspC белком может быть эффективной только против тех боррелий, которые несут идентичные или очень похожие OspC белки. К настоящему времени только один OspC белок был признан эффективным для вакцинации [556].

Были протестированы другие внешние поверхностные белки – кандидаты для вакцины против БЛ, такие как ВВК32 [659] и RevA [902], связывающие фибронектин. Еще в качестве кандидата был идентифицирован белок DpbA (белок, связывающий декорин А). Однако результаты были разочаровывающими, поскольку иммунизация мышей этим белком защищала животных только тогда, когда им вводились боррелии с помощью шприца, а не передавались при питании на них инфицированных нифм [496].

Альтернативные подходы с использованием протеомики и ПЦР на мышах позволили идентифицировать дополнительные белки-кандидаты боррелий [818], но до сих пор ни один из этих антигенов не использовался для разработки вакцины для человека [556].

На сегодняшний день доступны несколько ветеринарных вакцин на основе OspA антигена [546], но коммерческой вакцины для профилактики БЛ у людей пока не существует.

Специфическое лечение

Согласно стандартам оказания медицинской помощи пациентам с БЛ лечение осуществляется в условиях инфекционного стационара, допускается лечение локализованной формы амбулаторно [115]. При возникновении поражения кожи, суставов, нервной системы и других систем и органов должны привлекаться соответствующие специалисты.

В экспериментах *in vitro* показано, что штаммы боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. чувствительны к доксициклину, амоксициллину, азитромицину, цефураксиму, бензилпенициллину [361; 388; 472; 870] и феноксиметилпенициллину [726], а также цефтриаксону и цефотаксиму. Некоторые антибиотики не показаны для лечения БЛ по ряду причин – отсутствие активности *in vitro*, отсутствие подтверждающих клинических данных их применения, потенциальная токсичность, широкий спектр антимикробной активности. Не показаны цефалоспорины I поколения, аминогликозиды, фторхинолоны, рифампицин, метронидазол, сульфаниламиды, 5-флуорацил, фосфомицин, рокситромицин [645].

Боррелии, ответственные за возникновение КВЛ чувствительны к нескольким антибиотикам. Тетрациклины считаются препаратами выбора, хотя никаких контролируемых исследований, касающихся лечения КВЛ не опубликовано. Другие антибактериальные препараты, которые были успешно использованы для лечения КВЛ – это пенициллин, хлорамфеникол и эритромицин. Если доксициклин противопоказан, могут быть назначены тетрациклин, эритромицин или хлорамфеникол. Пациенты с нейроборрелиозом должны получать внутривенную терапию пенициллином G, цефотаксимом или цефтриаксоном [442]. После начала антибактериальной терапии пациенты должны находиться под наблюдением на предмет развития реакции Яриша-Герксгеймера, по крайней мере, в течение первых 4-12 часов после введения первой дозы антибиотика [511; 940]. Сообщалось, что у 54% пациентов, получавших антибактериальное лечение при КВЛ, эта реакция проявлялась в виде гипотензии, тахикардии, озноба, повышенного потоотделения и лихорадки в течение 1-4 часов после введения антибиотика [940].

В настоящее время имеется информация о чувствительности *in vitro* к антибактериальным препаратам штаммов *B. miyamotoi*, выделенных из клещей [669]. Информация об изучении *in vitro* клинических изолятов отсутствует в силу проблемы выделения штаммов. На сегодняшний день лечение БМ эмпирически основано на лечении БЛ [260].

В схему лечения боррелиозов также включены симптоматическое и патогенетическое лечение (НПВП, внутрисуставные инъекции кортикостероидов, прием гидроксихлорина, мексидола, предуктала, мильгаммы, глиотилина и др.) [44; 165; 381; 538; 948; 979].

1.3. Моноцитарный эрлихиоз и гранулоцитарный анаплазмоз человека

Моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ; Human Monocytic Ehrlichiosis (HME) – англ.) и гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ; Human Granulocytic Anaplasmosis (HGA) – англ.) – это классические природноочаговые, передающиеся иксодовыми клещами трансмиссивные инфекции, вызываемые облигатно-внутриклеточными грамм-отрицательными протеобактериями родов *Ehrlichia* и *Anaplasma*, которые размножаются в цитоплазматических вакуолях лейкоцитов и вызывают острые гриппоподобные лихорадочные заболевания [144]. Возбудители МЭЧ (*E. chaffeensis* и *E. muris*) поражают моноциты и мононуклеарные фагоциты, возбудитель ГАЧ (*A. phagocytophilum*) – гранулоциты, обычно нейтрофилы. МЭЧ и ГАЧ по МКБ 10 входят в рубрику A79.8 «Другие уточненные риккетсиозы» (Риккетсиоз, вызываемый *Neorickettsia sennetsu* [*Ehrlichia sennetsu*]).

Первый случай эрлихиоза у человека в мире был описан в Японии в 1954 г. и получил название «лихорадка Сеннетсу». Заболевание протекало с мононуклеозоподобным синдромом на фоне лихорадки, лимфаденопатии, гепато- и спленомегалии, а также моноцитоза. Заболевание хорошо поддавалось лечению антибиотиком тетрациклином [853]. Первый случай заболевания эрлихиозом у человека в Западном полушарии был зарегистрирован только в 1986 г. [616] Заболевание характеризовалось гриппоподобными симптомами, возникшими через 10 дней после присасывания клеща. Серологическое исследование выявило высокие титры антител к *E. canis*, известному ранее этиологическому агенту моноцитарного эрлихиоза собак, снижение которых происходило по мере выздоровления пациента. В последующие годы было установлено, что в 11-14% всех случаев серонегативных результатов на клещевые инфекции выявлялось повышение титров антител именно к *E. canis* [291].

В 1991 г. из моноцитов больного военнослужащего в городке Fort Chaffee, в штате Арканзас, была выделена культура эрлихий, позднее получивших название *E. chaffeensis* и с этих пор данное заболевание описывается как моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ) [858; 977].

Также в начале 1990-х гг. были описаны пациенты из Мичигана и Висконсина с присасыванием клещей в анамнезе, страдающие лихорадочным заболеванием, похожим на МЭЧ [399; 402; 514; 534; 552; 772]. Эти случаи отличались наличием телец включения в гранулоцитах (сегментоядерных нейтрофилах), а не в моноцитах, как при МЭЧ, в результате чего в 1994 г. заболевание первоначально получило название гранулоцитарный эрлихиоз человека (ГЭЧ) [382; 648]. Все эти пациенты были серонегативны к *E. chaffeensis*, однако обнаруживалось повышение титров антител к *E. equi* и *E. phagocytophilia*. По молекулярным и экспериментальным данным было установлено, что гранулоцитарный эрлихиоз людей и лошадей вызывается одним патогеном *E. phagocytophilia* (в последствии *Anaplasma phagocytophilum*), а заболевание получило название гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ).

На территории Европы диагноз ГАЧ впервые был установлен в 1996 г. в Словении [632]. В последующем при помощи серологического обследования населения было доказано, что заболевание, вызванное *A. phagocytophilum*, широко распространено в центральной части Европы [641]. Позднее, случаи ГАЧ были выявлены в Норвегии, Израиле, Голландии, Корее, Швеции, Италии, Болгарии [383; 464; 549; 859; 861; 964; 968].

Существование природных очагов обоих возбудителей МЭЧ и ГАЧ в России впервые показано в Пермском крае совместными российско-американскими группами исследователей. Возбудитель МЭЧ был идентифицирован методом ПЦР с последующим секвенированием у взрослых голодных клещей *I. persulcatus*, собранных с растительности, а заболевание серологически верифицировано в РНИФ с помощью антигена, приготовленного в США, у

пациентов, заболевших в г. Перми после присасывания клеща. Молекулярно-биологическими методами показано, что эрлихии, циркулирующие в природном очаге и вызывающие заболевание, с высокой вероятностью относятся к виду *E. muris*, а не к *E. chaffeensis* – возбудителю МЭЧ в США [742]. Затем *E. muris* была выявлена в клещах *I. persulcatus* на северо-западе России [652]. Вид *E. muris* описан по изолятам от так называемых южнокитайских полевков, которые близки к широко распространенным в Евразии лесным полевкам рода *Clethrionomys* (или *Myodes*) [551; 656]. До упомянутых данных, полученных в Пермском крае, о патогенности *E. muris* для человека ничего не было известно.

На территории Пермского края в 1993 г. впервые было установлено, что около 12% рыжих полевков (*Clethrionomys glareolus*) заражены *A. phagocytophilum* [510]. Позднее проведенное сравнение результатов секвенирования ампликонов, полученных при исследовании крови больных людей, с последовательностями нуклеотидов на участке гена 16S рРНК *E. muris* и *A. phagocytophilum* от клещей из данного региона показало, что их сходство составляет 99,7-100% [197]. В дополнение к положительным результатам серологических исследований [179; 225], эти данные подтвердили достоверность диагнозов МЭЧ и ГАЧ у пациентов, заболевших после контакта с клещом *I. persulcatus* в Пермском крае. Данные исследования показали, что эрлихиоз и анаплазмоз представляют серьезную опасность для населения России, проживающих на эндемичных территориях, перечень которых к настоящему времени остается неизвестным.

Этиология

Эрлихии и анаплазмы представляют собой грамтрицательные облигатные внутриклеточные микроорганизмы, принадлежащие к семейству Anaplasmataceae, и размножающиеся в вакуолях, соответственно, моноцитов и гранулоцитов, в которых образуют микроглии – так называемые морулы [841]. Эволюционные взаимосвязи между этими патогенами, определяемые генами 16S рРНК и GroEL, указывают на то, что эрлихии и анаплазмы имеют общего предка с другими облигатными внутриклеточными патогенами, такими как *Wolbachia*, *Neorickettsia*, *Orientia* и риккетсии [403; 468; 553; 833].

Род *Ehrlichia* насчитывает 7 видов возбудителей: *E. chaffeensis*, *E. muris*, *E. ewingii*, *E. canis*, *E. ruminantium*, *E. ewingii* и совсем недавно открытый *E. mineirensis*, многие из которых считаются патогенными для человека [360; 478; 550; 582; 587; 651; 764]. В Центральной и Южной Америке сообщалось об эрлихиозе человека, вызванном *E. canis*, однако данный патоген, в основном, вызывает моноцитарный эрлихиоз у собак и передается собачьим клещом *Rhipicephalus sanguineus* [348]. Недавно в США (штаты Миннесота и Висконсин) в качестве

нового патогена человека была выявлена *E. muris*. Переносчиком данного патогена является *I. scapularis* в северных штатах США [351; 508; 557; 849].

Род *Anaplasma* включает 8 видов возбудителей: *A. phagocytophilum*, *A. bovis*, *A. ovis*, *A. centrale*, *A. marginale*, *A. platys*, *A. odocoilei* и *A. carpa*, а также большое количество неклассифицированных геновариантов, которые не могут быть отнесены к известным видам. В настоящее время помимо *A. phagocytophilum*, которая вызывает ГАЧ [252], патогенными для человека являются *A. bovis*, *A. ovis* и *A. carpa*. Анаплазмоз, вызываемый *A. carpa* называют «emerging infection». Обобщение современных знаний о генетическом разнообразии анаплазм подробно представлено в обзоре Rar et al. (2021) [823].

Эрлихии и анаплазмы имеют мелкие размеры (0,5-1,5 мкм) и вариабельную морфологию, очень сходную у различных видов. Даже электронно-микроскопические методы не позволяют выявить отличия не только, например, между разными видами эрлихий (например, *E. canis* и *E. chaffeensis*) [495], но и между эрлихиями и анаплазмами. Некоторое различия обнаруживаются только в характере их взаимоотношений с клетками хозяина [951]. Однако в целом видовая идентификация этих микроорганизмов, и, следовательно, этиологическая верификация эрлихиозов и анаплазмозов микроскопическими методами, практически невозможна.

Эрлихии и анаплазмы существуют в виде двух морфологически различных форм: плотные клетки [DC] и ретикулярные клетки [RC] [380; 904; 951-953]. DC-формы преобладают в течение первых 24 часов после инфицирования и имеют решающее значение для адгезии бактерий. К 48 часам после заражения преобладают RC-формы, которые размножаются путем бинарного деления. Через 72 часа после заражения RC-формы, созревая, превращаются внутри инфицированной клетки хозяина в DC-формы и, разрушая, покидают ее, чтобы начать новый цикл размножения [657; 762; 904; 952].

Экология

МЭЧ и ГАЧ относятся к природно-очаговым инфекционным заболеваниям человека и животных с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя. В США основными переносчиками наиболее распространенных патогенных для человека эрлихий (*E. chaffeensis* и *E. muris*) и анаплазм (*A. phagocytophilum*) являются *Amblyomma americanum*, *I. scapularis* и *I. pacificus* [334; 497; 500; 552; 528; 619; 681; 833], на территории Европы – клещи *I. ricinus*, на территории Азии – клещи *I. persulcatus* [197; 199; 247; 555; 699; 795; 908]. В США основными резервуарными хозяевами являются белохвостые олени (*Odocoileus virginianus*), а также собаки (*Canis familiaris*), койоты (*Canis latrans*), лошади (*Equus*) [533; 673; 799]. Специфические

антитела выявлены также у третьей части исследованных кабанов (*Sus scrofa*), 42% американских енотов (*Procyon lotor*) и почти 16% опоссумов (*Didelphis virginiana*) [449]. Резервуарные хозяева и переносчики *E. muris* еще плохо изучены. В Японии изоляты *E. muris* были получены от южнокитайских полевков (*Eothenomys kageus*) и лесных мышей (*Apodemus speciosus*, *A. argenteus*) [456; 474]. ДНК *E. muris* обнаружена у пятнистых оленей (*Cervus nippon*) [507]. По всей видимости, хозяевами этих эрлихий могут быть разные виды мышевидных грызунов, особенно лесные полевки рода *Clethrionomys* и, возможно, другие млекопитающие. К числу переносчиков с большой долей вероятности в Евразии относятся клещи *I. persulcatus* [199; 344; 768; 943] и *I. ricinus* [661], а в Японии – *Haemaphysalis flava*, *I. ovatus* [456; 474] и *I. granulatus* [807]. ДНК *E. muris* в азиатской части России обнаружена [56] у 5,1-7,6% лесных полевков трех видов, у 3,1-5,5% обыкновенных бурозубок, 3,8% восточноазиатских мышей (*Apodemus prninsulae*). При этом люди служат тупиковыми хозяевами [514].

Антитела к возбудителю ГАЧ обнаружены в США у нескольких видов диких грызунов [862], у белохвостых оленей. По всей видимости, *A. phagocytophilum* имеет широкий круг резервуарных хозяев, включающий различных млекопитающих и птиц. Судя по индикации видоспецифической ДНК, хозяевами возбудителя ГАЧ, очевидно, в разных регионах могут быть самые различные мышевидные и более крупные грызуны, насекомоядные, особенно ежи, дикие копытные, включая зубров, хищные, вплоть до медведей, лошади, овцы, собаки и жвачные [400; 533], однако их роль как резервуарных хозяев анаплазм остается неясной, поскольку наличие ДНК по сути дела лишь свидетельствует о контакте животных с возбудителем и не позволяет достоверно судить об их роли в эпизоотическом процессе.

Трансовариальная передача эрлихий и анаплазм у клещей не установлена [460; 534; 794]. Личинки и нимфы клеща получают патогены в процессе кровососания на инфицированном хозяине, сохраняют их во время линьки и передают человеку при присасывании [136; 344; 652; 533; 794]. В связи с этим наличие резервуарных хозяев возбудителя играет важную роль в его распространении.

Выявление возбудителей ГАЧ и МЭЧ как в клещах, так и в резервуарных хозяевах в различных регионах России обозначило существование опасности заражения этими инфекциями местного населения [13; 142; 179; 197; 225; 382; 464; 533; 638; 642; 794].

Эпидемиология

Возбудители МЭЧ выявлены молекулярно-биологическими методами в иксодовых клещах, а также антитела к ним серологическими методами в большинстве штатов США, в большинстве

европейских и в ряде азиатских стран Юго-Восточной Азии, а также в Южной Америке и в некоторых африканских странах. Это свидетельствует о широком распространении эрлихиозов в мире. ГАЧ в США распространен, главным образом, в северо-восточной части страны, на среднем Западе и в Северной Калифорнии, а в Европе – в основном в ее северо-западной и восточной частях, где паразитарные системы этого возбудителя связаны с клещом *I. ricinus*. Согласно данным CDC число случаев МЭЧ неуклонно увеличивается, с менее чем 1 на миллион в 2000 г. до 3,4 на миллион в 2010 г. [554; 565; 571]. Штаты с самыми высокими зарегистрированными показателями МЭЧ включают Миссури, Миссисипи, Оклахому, Теннесси, Арканзас и Мэриленд. Проспективные исследования, проведенные в Колумбии в эндемичных районах, показали, что заболеваемость МЭЧ составляет от 100 до 200 случаев на миллион [378; 975]. Однако, истинная частота заражения людей возбудителями МЭЧ, вероятно, намного выше. Заниженные показатели заболеваемости, а, следовательно, и отчетности, могут быть обусловлены недостаточной диагностикой заболевания. Так, исследование серопревалентности, проведенное среди детей, проживающих в эндемичных районах, показало, что у 20% были обнаружены антитела к *E. chaffeensis* без предшествующего клинического заболевания в анамнезе [548]. Однако из-за перекрестной реактивности среди *Ehrlichia* spp. невозможно сделать вывод, кто из этих пациентов действительно был заражен *E. chaffeensis*. Частота зарегистрированных случаев МЭЧ наиболее высока среди мужчин (частота 61%), людей старше 50 лет и европеоидов. Хотя случаи заболевания регистрируются круглый год, наибольшее число случаев регистрируется в период с мая по август, что соответствует периодам активности клещей и отдыха людей на природе [674].

Число случаев ГАЧ в США, о которых сообщалось в CDC, выросло с тех пор, как об этом заболевании стало известно, с 348 случаев в 2000 г. до примерно 1800 случаев в 2010 г. Заболеваемость ГАЧ также увеличилась с 1,4 случая на миллион человек в 2000 г. до 6,1 случая на миллион человек в 2010 г. [565; 560; 976] Самые высокие ежегодные показатели заболеваемости ГАЧ регистрируются в штатах Коннектикут (14-16 случаев на 100 тыс. населения), Висконсин (24-58 случаев на 100 тыс. населения) и Нью-Йорк (2,7 на 100 тыс. населения) [565] Активное наблюдение в эндемичных районах выявило показатели заболеваемости, превышающие 50 случаев на 100 тыс. населения [643]. Как и в случае с МЭЧ, серологические исследования показывают, что бессимптомное течение ГАЧ встречается часто [863]. Случаи заболевания происходят круглый год, с пиком заболеваемости в июне и июле, что, возможно, отражает более короткий сезон членистоногих в этих северных штатах или относительную важность нимф иксодовых клещей в передаче инфекции.

В связи с обширным ареалом клеща *I. persulcatus* природные очаги анаплазмоза широко распространены в лесной зоне Евразии [141]. К настоящему времени геномный материал возбудителей ГАЧ и МЭЧ обнаружен в клещах практически из всех регионов России, откуда они были собраны для исследования, от Северо-запада до Дальнего Востока страны [51; 56; 81; 197; 199; 212; 252; 271; 258; 510; 543; 699; 943; 952] и случаи ГАЧ диагностированы во многих субъектах РФ [5; 63; 70; 103; 108; 218; 225].

Несмотря на то, что в России официальная регистрация случаев МЭЧ и ГАЧ началась с 2013 г., показатели заболеваемости данными нозологиями явно занижены. Например, до периода официальной регистрации случаев ГАЧ согласно данным Института краевой инфекционной патологии в Тюменской области, заболеваемость ГАЧ за 2006-2008 гг. составила 0,93 случаев на 100 тыс. человек [280], доля ГАЧ в структуре клещевых инфекций в Пермском крае в 2011 г. - 19,2%, в Ярославской области в 2006-2007 гг. - 40,6% [103], в Республике Алтай в 2007 г. - 1,4% [66], а в Алтайском крае в 2009 г. - 29,6% [201], в Омской области в 2008 г. - 11,6% [218]. Все пациенты в Пермском крае, у которых диагностирован ГАЧ, накануне заболевания отмечали присасывание клеща, причем большинство из них заражались при работе на дачных участках (54,3%) [13]. ГАЧ болеют как дети, так и взрослые [367; 533]. В Пермском крае группа наибольшего риска среди взрослых - лица старше 60 лет [13]. В данном регионе в весенне-летний период 2007 г. у 15,5% пациентов в крови была выявлена ДНК *E. muris*. В тот же период в более ранние годы (1999-2000 гг.) при двукратном обследовании в сыворотках крови 4% больных были обнаружены специфические антитела к возбудителю МЭЧ, позволившие диагностировать МЭЧ [972].

Патогенетические закономерности

Эрлихии и анаплазмы имеют характерную структуру грамотрицательной клеточной стенки, но не имеют важных компонентов клеточной мембраны, включая липополисахарид (ЛПС) и пептидогликан [721; 817; 840]. ЛПС и пептидогликан представляют собой 2 основных молекулярных паттерна, ассоциированных с патогеном (PAMPs - *Pathogen-associated molecular patterns*), которые запускают врожденные реакции организма при бактериальной инфекции путем связывания с рецепторами распознавания образов (PRRs - *Pattern Recognition Receptors*) клеток-хозяев [437; 731]. Таким образом, отсутствие PAMPs, по-видимому, способствует уклонению эрлихий и анаплазм от распознавания врожденной иммунной системой хозяина. Недавно проведенное исследование показало, что анаплазмы используют клеточный холестерин хозяина, полученный из опосредованного рецептором липопротеинов низкой плотности пути

поглощения и регуляторной системы, и накапливают холестерин в своих включениях для облегчения репликации [612; 984]. Эрлихии (*E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. canis*) и анаплазмы (*A. phagocytophilum*) имеют гены, которые кодируют иммунодоминантные белки внешней мембраны (OMP-1/MSP2/P44) [352; 606; 656; 702], которые обуславливают развитие перекрестных реакций при проведении различных лабораторных тестов, снижая тем самым их специфичность [674].

После присасывания клеща эрлихии, в частности, *E. chaffeensis* заражает мононуклеарные фагоциты (моноциты/макрофаги) и размножаются в них, разрушая защитные механизмы хозяина. Недавние исследования показали, что для выживания в клетках хозяина *E. chaffeensis* использует эволюционно сохраненные сигнальные пути для подавления врожденной иммунной системы хозяина и взаимодействия с белками-мишенями клетки-хозяина [364; 537; 752; 839; 840]. В свою очередь анаплазмы (*A. phagocytophilum*) при помощи поверхностного протеина 44-kDa (*mSP2*) прикрепляются к клеткам-мишеням (зрелым гранулоцитам/нейтрофилам) и проникают внутрь, размножаясь в эндосомах, что в конечном итоге приводит к перепрограммированию защитных механизмов клетки-хозяина для обеспечения своего выживания [634; 673].

Частые патологические проявления при МЭЧ включают образование гранулем, миелоидную гиперплазию и мегакариоцитоз в костном мозге [523; 947]. У некоторых пациентов развиваются эритрофагоцитоз и плазмоцитоз, что свидетельствует о компенсаторном ответе [519; 744; 909]. Другие патологические находки у пациентов с тяжелым течением МЭЧ включают очаговый гепатоцеллюлярный некроз, гранулемы печени, холестаза, некроз селезенки и лимфатических узлов, диффузную гиперплазию мононуклеарных фагоцитов селезенки, печени, лимфатических узлов и костного мозга, периваскулярные лимфогистиоцитарные инфильтраты различных органов, включая почки, сердце, печень, мозговые оболочки, головной мозг, и интерстициальный мононуклеарно-клеточный пневмонит [584; 633; 654]. Считается, что тяжелая патология и мультиорганное поражение при тяжелом течении с летальным исходом при МЭЧ у иммунокомпетентных пациентов связаны с нарушением регуляции иммунного ответа хозяина, что приводит к повреждению тканей и, в конечном итоге, к тотальному отказу органов и систем организма, которые наблюдаются при токсическом шоке [428; 747; 854]. Гипотеза о том, что тяжелый и смертельный исход, подобный токсическому шоку при МЭЧ обусловлен иммунопатологическим механизмом подтверждается исследованиями на мышинных моделях [672; 816; 831; 913].

Патологические находки у пациентов с ГАЧ и животных моделей включают образование фокальных некрозов, апоптоза печени и перипортальных лимфогистиоцитарных инфильтратов, геморрагий и интерстициальных пневмоний, эритрофагоцитоз, очаговый некроз селезенки,

умеренный интерстициальный пневмонит и легочное кровотечение [353; 354; 385; 493; 533; 534; 635; 637; 673; 691; 692]. Как при МЭЧ, так и при ГАЧ в гемограмме наблюдается выраженная лейкопения и тромбоцитопения. Хотя иммунные механизмы, которые объясняют тяжелое течение и летальный исход при ГАЧ, до конца не изучены, есть некоторые данные об иммуносупрессии у пациентов с ГАЧ [375]. Это подтверждается большим числом летальных исходов из-за вторичных оппортунистических инфекций и отказа работы органов и систем организма. Механизм, с помощью которого происходит подавление иммунитета при ГАЧ еще не определен.

Клинические проявления

Клинические проявления при МЭЧ и ГАЧ являются неспецифичными и характеризуются гриппоподобными симптомами. Лихорадка наблюдается у 97% больных, за которой следуют такие симптомы как головная боль (80%), миалгии (57%) и артралгии (41%) [463]. Сыпь на коже при МЭЧ чаще встречается у детей чем у взрослых [581; 640] и наблюдается в 10% случаев. Она может быть макулопапулезной, петехиальной или характеризоваться эритродермией [584], обычно не затрагивает лицо, ладони и подошвы стоп. Могут быть тошнота, рвота, боль в животе, кашель. У пациентов с МЭЧ могут развиваться неврологические расстройства, такие как менингит или менингоэнцефалит. Поражение ЦНС выявляется примерно у 20% пациентов с МЭЧ [451; 626] и в некоторых случаях может проявляться судорогами, вплоть до комы [663]. Отдаленные неврологические последствия у детей встречаются редко и включают задержку когнитивных функций, нарушение мелкой моторики. МЭЧ является более тяжелым заболеванием, чем ГАЧ, при этом ранее сообщалось, что 62% случаев МЭЧ требуют госпитализации, а летальность составляет 3,7% [565], в то время как уровень летальности при ГАЧ остается низким и составляет менее 1%. МЭЧ может привести к летальному исходу у иммунокомпетентных пациентов, при этом он проявляется как мультисистемное заболевание, напоминающее синдром токсического или септического шока с полиорганной недостаточностью [584; 654]. Другие опасные для жизни осложнения включают сердечно-сосудистую недостаточность, асептический менингит, кровоизлияния, печеночную недостаточность, интерстициальную пневмонию и респираторный дистресс-синдром у взрослых [747; 950; 975]. Тяжесть заболевания выше у пожилых пациентов и пациентов с ослабленным иммунитетом. Хотя клинические проявления при МЭЧ неспецифичны, изменения в лабораторных показателях могут помочь заподозрить заболевание. Так, у пациентов с МЭЧ по сравнению с неинфицированными пациентами, при проведении проспективного когортного исследования в эндемичном районе с лихорадочным заболеванием,

возникшим после присасывания клеща в гемограмме было обнаружено значительно более низкое количество лейкоцитов (в среднем $4,6 \times 10^9$ кл/л), нейтрофилов (в среднем $2,6 \times 10^9$ кл/л) и тромбоцитов (в среднем 172×10^9 кл/л) [581], а также были повышены трансаминазы в 83% случаев [463]. У детей легкая гипонатриемия отмечалась в 50% случаев [851], но это явление реже отмечалось среди инфицированных взрослых.

При ГАЧ сыпь встречается редко, отмечается менее чем у 10% пациентов, обычно является результатом сочетанной инфекции с БЛ [463; 872]. Как и в случае с МЭЧ в анализе крови наблюдаются лейкопения, тромбоцитопения, хотя в отличие от МЭЧ через неделю после инфицирования эти показатели могут прийти в норму. Также наблюдается повышение С-реактивного белка и печеночных трансаминаз. Несмотря на то, что половина людей с ГАЧ нуждаются в госпитализации, все же данное заболевание ассоциируется с более легким течением и низкой летальностью [907]. Сообщалось об опасных для жизни осложнениях, включая острый респираторный дистресс-синдром, острую почечную недостаточность и гемодинамический коллапс. Поражение ЦНС при ГАЧ встречается редко, при этом менингоэнцефалит регистрируется примерно в 1% случаев [463]. При ГАЧ описаны плечевая плексопатия, паралич черепно-мозговых нервов, демиелинизирующая полиневропатия [429] и двусторонний паралич лицевого нерва. Восстановление неврологической симптоматики может затянуться на несколько месяцев [429]. Хотя причина неврологической дисфункции при ГАЧ еще не известна, считается, что это связано с осложнением оппортунистических инфекций или сопутствующей другой сочетанной клещевой инфекции, например, БЛ.

Диагностика

Диагностика МЭЧ и ГАЧ основывается на данных эпидемиологического анамнеза, клинической симптоматики с учетом лабораторных показателей и результатов специфической лабораторной диагностики (РНИФ, ИФА, ПЦР, микроскопия). Диагностика заболеваний затруднена в связи с ограниченной доступностью диагностических экспресс-тестов, таких как ПЦР, а также отсутствием антител в сыворотке крови в начале клинических проявлений заболевания [385; 452; 509; 860]. Прогноз ухудшается, если этиотропное лечение не назначается или не проводится своевременно [909], поэтому важно, чтобы антибактериальная терапия доксициклином была назначена любому пациенту с похожей клинической симптоматикой и лабораторными показателями. Первоначальный диагноз МЭЧ или ГАЧ может быть основан на результатах неспецифических биохимических и гематологических исследований.

Этиологическую лабораторную диагностику следует проводить через разные промежутки времени от начала заболевания для его подтверждения.

Среди гематологических и биохимических нарушений панцитопения является характерным лабораторным признаком МЭЧ и ГАЧ на ранних стадиях заболевания. Анемия возникает в течение 2 недель после заболевания примерно у 50% пациентов [605; 946]. Лейкопения легкой и средней степени тяжести с наибольшим снижением популяции лимфоцитов наблюдается примерно у 60-70% пациентов в течение первой недели проводимого лечения [428; 467]. Интересно, что во время выздоровления у большинства пациентов наблюдается относительный и абсолютный лимфоцитоз [366; 743]. Выраженная тромбоцитопения является одним из патогномоничных признаков МЭЧ и ГАЧ, который обычно обнаруживается у 70-90% пациентов. Умеренно повышенные уровни печеночных трансаминаз отмечаются примерно у 90% пациентов, что связано с повышением уровня щелочной фосфатазы и билирубина у некоторых пациентов. Легкая или умеренная гипонатриемия наблюдается у 50% взрослых пациентов и у 70% детей. Отклонения в лабораторных показателях, возникающие при тяжелом заболевании специфичны, в зависимости от пораженного органа. Примерами являются повышенный уровень креатинина в сыворотке крови, лактатдегидрогеназы, креатинфосфокиназы, амилазы и нарушения электролитов, включая гипокальциемию, гипомagneзимию, гипофосфатемию, увеличение протромбинового времени, повышение уровня продуктов распада фибрина, метаболический ацидоз, гипотензия, диссеминированная интраваскулярная коагулопатия, печеночно-почечная недостаточность, недостаточность надпочечников и дисфункция миокарда [465; 751].

Специальные лабораторные диагностические тесты для диагностики МЭЧ и ГАЧ включают обнаружение специфических антител, обнаружение ДНК эрлихий или анаплазм с помощью ПЦР в крови или СМЖ, обнаружение морул в периферической крови или в лейкоцитах в СМЖ, прямое обнаружение возбудителя в образцах тканей с помощью иммуногистохимии и выделение бактерий [547; 781]. Наиболее широко используемым методом лабораторной диагностики МЭЧ и ГАЧ является ИФА, основанный на выявлении специфических IgM и IgG в пробах крови, собранных с интервалом 3-6 недель (парные сыворотки). Серологическое тестирование сыворотки крови на наличие IgM и IgG, специфичных к эрлихиям и анаплазмам может проводиться методом РНИФ. При РНИФ диагноз ставится при получении любого из следующих результатов серологии: а) титр IgG не менее 256; б) сероконверсия антител из отрицательного статуса в положительный с минимальным титром 64; в) четырехкратное увеличение титра антител во время выздоровления. Хотя результаты серологии являются одним из основных диагностических критериев для верификации заболевания, у данного метода есть

несколько ограничений, которые следует учитывать: 1. Отрицательный результат наблюдается примерно у 80% пациентов в течение первой недели болезни; 2. Высокая частота ложноположительных серологических результатов вследствие перекрестных реакций с общими антигенами для эрлихий и анаплазм, поэтому сыворотки должны быть протестированы на антитела и к эрлихиям и анаплазмам; 3. Неспособность к сероконверсии в некоторых случаях может быть объяснена нарушением иммунитета; 4. Раннее лечение антибиотиками класса тетрациклинов иногда либо снижает выработку антител, либо антитела вовсе не вырабатываются [674]. В нашей стране наиболее часто прибегают к методу ИФА для диагностики заболевания [13; 103; 382; 856].

ПЦР-диагностика МЭЧ и ГАЧ вследствие высокой специфичности (100%) и чувствительности (60%-85% для *E. chaffeensis* и 67%-90% для *A. phagocytophilum*) является методом выбора для подтверждения результатов серологических исследований. Описано мультиплексное ПЦР-тестирование для выявления нескольких родственных этиологических агентов [384; 465; 509; 658]. Для повышения чувствительности метода ПЦР кровь должна быть взята до или в начале антибактериальной терапии. Однако, поскольку лечение доксициклином МЭЧ и ГАЧ эффективно только на ранних стадиях инфекции, лечение следует начинать как можно скорее при подозрении на заболевание, не дожидаясь результатов лабораторных исследований. ПЦР-диагностика особенно важна для выявления ДНК возбудителя на ранних стадиях заболевания, когда уровень антител еще очень низок и их невозможно обнаружить. Диагностическая чувствительность метода ПЦР при исследовании СМЖ ниже, чем для цельной крови, вероятно, из-за меньшего количества инфицированных клеток [409].

Диагностика МЭЧ и ГАЧ может быть выполнена путем окрашивания мазков периферической крови, костного мозга или СМЖ для выявления морул. Мазки могут быть окрашены по Райту или Гимзе, или Дифф-Квику. Хотя этот метод является быстрым, но обладает низкой чувствительностью по сравнению с другими методами исследования, особенно у иммунокомпетентных пациентов, а также когда тяжелое течение заболевания обычно ассоциируется с очень низкой бактериальной нагрузкой возбудителя в крови. Морулы обнаруживаются в моноцитах при МЭЧ только примерно у 3% пациентов. Однако при ГАЧ диагностическая чувствительность данного метода диагностики достигает 25-75%, при этом чувствительность наиболее высока в течение первой недели после инфицирования [674].

Подобно другим инфекционным заболеваниям, культивирование эрлихий и анаплазм является золотым стандартом в диагностике МЭЧ и ГАЧ. Однако первичная изоляция может занять до нескольких недель. Например, чувствительность выделения *E. chaffeensis* по сравнению с ПЦР-диагностикой очень низкая. При этом, чувствительность метода

культивирования для *A. phagocytophilum* может быть эквивалентна чувствительности ПЦР и исследования мазка крови. Как и при ПЦР-диагностике профилактика или лечение доксициклином уменьшает чувствительность культурального метода исследования [674].

Иммуногистохимическое окрашивание фиксированных формалином тканей, полученных при биопсии костного мозга или аутопсии (включая селезенку, лимфатические узлы, печень и легкие) является еще одним подтверждающим методом диагностики МЭЧ и ГАЧ. Метод иммуногистохимии наиболее полезен для подтверждения наличия микроорганизмов у пациента до начала антибактериальной терапии или в течение первых 48 часов после ее начала [674].

Специфическая профилактика (вакцинопрофилактика)

На сегодняшний день специфическая профилактика МЭЧ и ГАЧ не разработана.

Специфическое лечение

Тестирование чувствительности *in vitro* показало, что *E. chaffeensis* устойчива к препаратам большинства классов антибиотиков, включая аминогликозиды (гентамицин), фторхинолоны (ципрофлоксацин), пенициллины (пенициллин), макролиды и кетолиды (эритромицин и телитромицин) и сульфаниламидсодержащие препараты (котримоксазол). Хлорамфеникол является альтернативным препаратом, который рассматривается для лечения МЭЧ или ГАЧ, однако этот препарат связан с различными побочными эффектами [535; 547; 693; 781; 903]. Для лечения МЭЧ и ГАЧ рекомендуемыми антибактериальными препаратами являются препараты тетрациклинового ряда. Определение чувствительности *E. chaffeensis* и *A. phagocytophilum* в системе *in vitro* продемонстрировало превосходную эффективность тетрациклиновых антибиотиков [435; 750]. В классе тетрациклинов предпочтение отдается доксициклину из-за перорального приема и меньшего количества побочных эффектов [554]. При противопоказаниях к приему доксициклина [876] может быть назначен рифампицин [427; 554; 687], в том числе для беременных женщин [636; 639]. Хотя анаплазмы проявляют *in vitro* промежуточную чувствительность к фторхинолонам, описан случай рецидива ГАЧ пациента после почти 2-недельного курса левофлоксацина [526; 750]. Устойчивость к фторхинолонам у *E. chaffeensis* связана с мутациями в области, определяющей устойчивость к хинолонам, гена ДНК-гиразы [749].

1.4. Микст-инфекции, передающиеся иксодовыми клещами

Смешанная инфекция (сочетанная или микст-инфекция) – состояние, когда инфекционный процесс развивается при участии двух и более возбудителей [177]. Смешанные инфекции, включающие возбудителей как внутри одной, так и разных таксономических групп, имеют довольно широкое распространение в природе. Встречаются вирусно-бактериальные ассоциации, микст-инфекции различных вирусов, а также генотипов одного возбудителя (как вирусов, так и бактерий) [137; 144; 291; 318].

С открытием боррелий, эрлихий, анаплазм, а также после выяснения фактов, что они могут циркулировать с вирусом КЭ в одной экосистеме, совсем по-новому представилась эпидемическая значимость иксодовых клещей, как резервуара и источника инфицирования одновременно несколькими патогенными микроорганизмами [27]. Как только выяснилось, что вирус КЭ, патогенные боррелии, эрлихии, анаплазмы имеют в Евразии одинаковых основных переносчиков, которые определяют возможность совместной циркуляции и сходство ареалов этих возбудителей, стало понятно, что должно иметь место одновременное заражение людей этими патогенами [129; 130; 717]. Предположение о возможности подобных микст-инфекций с КЭ было высказано клиницистами еще задолго до открытия БЛ и других бактериальных клещевых инфекций. Первые случаи энцефалитно-боррелиозных микст-заболеваний были выявлены в Австрии и в России [50; 138; 243; 482; 701]. Сейчас они обнаружены в ряде стран Центральной Европы и во многих субъектах РФ [43; 153]. Возможность заболевания клещевыми инфекциями на фоне уже имеющихся заболеваний еще более расширяет проблему сочетанных инфекций для практического здравоохранения. На сегодняшний день исследования в этой области носят преимущественно фрагментарный характер.

С иксодовыми клещами связано существование и передача человеку возбудителей ряда инфекционных заболеваний различной этиологии. Однако до середины 1980-х г. по числу случаев наибольшую озабоченность в нашей стране вызывали КЭ и клещевой риккетсиоз (КР), основные переносчики которых относятся не только к разным видам, но и к разным родам. Обнаружение в мире, а затем и в России группы этиологически самостоятельных заболеваний – БЛ или КБ, уровень выявляемой заболеваемости которыми уже превышает аналогичные показатели для КЭ, а также возбудителей МЭЧ и ГАЧ у переносчиков тех же видов резко изменилось представление об этиологическом разнообразии инфекционных заболеваний, которые могут возникнуть после присасывания иксодовых клещей или посещения лесной зоны в период активности клещей, и сделало возможность передачи ими микст-инфекций важной медико-социальной проблемой, требующей всестороннего изучения [144].

На сегодняшний день установлено, что иксодовые клещи – переносчики вируса КЭ – одновременно являются носителями группы бактериальных патогенов – боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., нового возбудителя боррелиоза – *B. miyamotoi* [110; 121; 289; 370; 561; 596; 919], анаплазм (*A. phagocytophilum*), эрлихий (*E. muris* и *E. chaffeensis*), риккетсий (*Rickettsia sibirica* и др.) и ряда других патогенов [143; 561]. Согласно данным Э. И. Коренберга 5-10% иксодовых клещей на территории России заражены вирусом КЭ и боррелиями одновременно [143]. Нами показано, что от 10% до 15% иксодовых клещей, собранных на различных территориях РФ и индивидуально исследованных на наличие вируса КЭ, боррелий, анаплазм и эрлихий методом ПЦР, могут содержать в различных сочетаниях два и более патогенов [121; 138]. В ряде стран Европы, Азии, Северной Америки, также отмечается высокая частота инфицирования клещей двумя, тремя и более патогенами [419; 482; 512; 539; 764; 774; 811; 938]. По-видимому, микст-инфекции, возбудители которых передаются иксодовыми клещами это достаточно широко распространенное явление. Это означает, что любое заболевание, возникшее после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей, следует рассматривать как возможную сочетанную инфекцию.

В последнее десятилетие проводится изучение эпидемиологических, клинических, патогенетических аспектов сочетанных иксодовых клещевых инфекций как в России, так и за рубежом [3; 5; 25; 46; 65; 110; 111; 127; 143; 163; 195; 209; 248; 258; 283; 287; 302; 318; 470; 471; 563]. Результаты исследований указывают на увеличение количества случаев микст-инфекций вирусной и бактериальной природы, возникающих после присасывания иксодовых клещей.

Следует учитывать тот факт, что не каждый контакт человека с инфицированным клещом приведет к развитию заболевания. Так, более чем в 70% клещей *I. persulcatus*, снятых с больных БЛ в Свердловской области, был обнаружен вирус КЭ, а клинические проявления этого заболевания вместе с БЛ были в несколько десятков раз реже [186]. Это объясняется тем, что далеко не каждый инфицированный клещ, присосавшийся к человеку, передаст пострадавшему такую дозу возбудителя, которая способна вызвать клинически манифестное заболевание. Кроме того, следует отметить, что в 1990-е гг., когда не было еще доступных ПЦР тест-систем для выявления РНК вируса КЭ в клещах, применялся метод ИФА для обнаружения антигена вируса КЭ. Позже, при сравнении методов ПЦР и ИФА было показано, что метод ИФА обладает меньшей специфичностью, чем метод ПЦР и может давать ложноположительные результаты, особенно в случае исследования сильно напивавшихся клещей [213; 323]. Тем не менее известно, что при КЭ подавляющая часть заражений заканчивается бессимптомным течением инфекционного процесса с развитием иммунного ответа. Риск заболевания КЭ и БЛ в значительной мере определяют высоко инфицированные клещи, которые всегда составляют

лишь меньшую часть от общего числа инфицированных переносчиков. Кроме того, среди клещей *I. persulcatus*, которые инфицированы боррелиями, лишь часть особей содержит возбудитель в слюнных железах и сразу после начала кровососания способна передать его человеку [144].

При отсутствии патогномичных признаков одной или одновременно двух инфекций заключение о наличии микст-заболевания делают, как правило, по результатам серологических исследований [144]. Однако наличие в крови пациента специфических антител (особенно в низких титрах) одновременно к разным возбудителям само по себе не подтверждает микст-заболевания, поскольку пациенты могут в данное время переносить в острой форме инфекцию, вызванную одним возбудителем при наличии антител к совершенно другому, с которым связан предшествовавший инфекционный процесс, который мог протекать в манифестной или инаппарантной формах [401; 698; 917; 974]. Показано, что в некоторых районах Швеции антитела к боррелиям и эрлихиям одновременно обнаружены у 3% населения [367]. Во Владивостоке в 2000-2001 гг. из 243 пациентов, обследованных в связи с присасыванием клеща, у 61 (25,1%) были обнаружены антитела к двум или даже к трем возбудителям и лишь у 35 из них (14,4%) действительно наблюдалось одновременное развитие сочетанной инфекции [153]. На северо-западе США 13% обследованных добровольцев имели антитела более чем к одному возбудителю из числа передающихся клещами, но лишь у 5 пациентов были обнаружены доказательства сочетанного заболевания [623]. В настоящее время принято, что только достоверное нарастание титров антител к двум (или более) возбудителям или сероконверсия IgM на IgG к соответствующим возбудителям могут свидетельствовать о протекающей микст-инфекции [144]. Однако, учитывая бесконтрольное применение специфического иммуноглобулина против КЭ, в том числе среди вакцинированных больных, назначение антибиотикопрофилактики бактериальных клещевых инфекций без результатов исследования клеща, могут приводить к подавлению иммунного ответа или к его угнетению, а тем самым к различным вариантам динамики гуморального иммунитета при той или иной инфекции.

Показано, что у пациентов с боррелиозно-энцефалитной микст-инфекцией начало заболевания чаще, чем при БЛ, бывает острым [73], и чаще, чем при КЭ наблюдаются различные проявления общеинфекционного синдрома [165; 167; 295], происходят более существенные изменения в антиоксидантной системе организма, чем у больных с моноинфекцией БЛ или КЭ [88]. У детей при сочетанной инфекции КЭ и БЛ отмечено преобладание беззритемной формы боррелиоза [178], при лихорадочной форме КЭ практически во всех случаях наблюдаются неврологические проявления различной степени тяжести, которые имеют преходящий характер [85; 237]. Однако в 13,5% случаев (почти в 5 раз чаще, чем при моноинфекции БЛ) у детей при сочетанном заболевании КЭ и БЛ развивается менингоэнцефалит, сопровождающийся

задержкой продукции антител с изменениями цитокинового статуса, в исходе во всех случаях отмечен органический дефект со стороны ЦНС [85; 109; 237]. При этом смешанная нейроинфекция часто протекает как мягкая менингоэнцефаломиелополирадикулопатия [146]. По данным некоторых клиницистов микст-инфекция КЭ и БЛ у детей в целом характеризуется тяжелым течением и не сопровождается характерными для моноинфекций симптомами. Полагают, что так называемая полирадикулоневритическая форма КЭ в действительности связана с БЛ [163]. В целом в клинической картине микст-инфекции обычно доминируют признаки какого-либо одного заболевания, причем чаще БЛ [163; 165]. Нельзя не учитывать, что в любом регионе преобладают стертые или инаппарантные формы КЭ. Такие пациенты, как правило, вообще не обращаются к врачу и не попадают в стационары. Поэтому статистически БЛ должна значительно чаще встречаться в сочетании с легкими формами КЭ, что и наблюдается на практике [163; 165]. В Свердловской области стертая форма КЭ, например, отмечена почти в 51-70% случаев, сочетанных с БЛ [3; 41], в Пермском крае – в 72% таких заболеваний наблюдалась лихорадочная форма КЭ. В клинической картине таких заболеваний преобладали признаки, характерные для БЛ, а не для КЭ [186; 214]. Весьма вероятно, что клинические проявления боррелиоза заставляют таких пациентов обращаться за медицинской помощью, и это способствует выявлению инаппарантных форм КЭ. В результате складывается несколько искаженное впечатление о более легком течении КЭ в сочетании с БЛ. В Пермском крае микст-инфекции такой этиологии составляют 16,5% всех сочетанных клещевых заболеваний [297]. Репрезентативные данные свидетельствуют о том, что в действительности в структуре клинических форм моноинфекции КЭ и моноинфекции БЛ нет значительных отличий от частоты различных форм для случаев сочетания этих инфекций. На сравнительно небольших группах пациентов показано, что при сочетании КЭ с безэритемной формой БЛ прослеживаются те же закономерности антителообразования по отношению к вирусу, как и при моноинфекции КЭ, хотя специфический иммунный ответ к боррелиям формируется несколько позже [14]. Летальность больных с микст-инфекцией в Свердловской области практически не отличается от летальности при КЭ – 1,2 и 1,9% соответственно. На основании этого сделан вывод об отсутствии влияния БЛ на развитие тяжелых форм КЭ [41].

Пока описано недостаточное число энцефалитно-эрлихиозных [972] и боррелиозно-эрлихиозных заболеваний. Однако, уже понятно, что их клинические проявления могут быть разнообразными, но в большинстве случаев усиливаются признаки общеинфекционного синдрома, а в гемограмме отмечаются изменения, характерные для МЭЧ [45; 972].

В Предуралье сочетание БЛ и ГАЧ – это наиболее часто встречающееся микст-заболевание, возникающее после присасывания клеща (примерно 65-70% всех случаев смешанной этиологии)

у взрослых [287] и реже (около 20%) – у детей [178]. Показано, что ГАЧ в сочетании с локализованной стадией БЛ может протекать в манифестной и инаппарантной формах, причем несколько легче, чем моноинфекция ГАЧ, но с более значительной лихорадочной реакцией и висцеральными поражениями, чем при аналогичной стадии моноинфекции БЛ [287]. При ГАЧ в сочетании с диссеминированной стадией БЛ общеинфекционный синдром имел место у 90% больных. Более чем у 70% больных отмечена гиперемия слизистой оболочки ротоглотки, которая иногда сопровождалась катаральными явлениями со стороны верхних дыхательных путей (першение в горле, сухой кашель, заложенность носа). У нескольких человек имела место полилимфаденопатия. Более чем у 65% больных отмечены поражения опорно-двигательного аппарата: миалгия в области икроножных мышц и мышц плечевого пояса, боли в крупных суставах. У третьей части пациентов имели место сердцебиение, относительная брадикардия, боль в области сердца, повышение АД до 140-180/90-100 мм.рт.ст. без предшествующей артериальной гипертензии [287]. Наблюдалось увеличение печеночных трансаминаз. На фоне антибактериального лечения проявления острого безжелтушного гепатита купировались в течение 8-10 дней. У половины больных наблюдалось поражение почек, проявлявшееся изменениями ряда показателей при ОАМ. У трети больных отмечены различные сравнительно легкие нарушения со стороны нервной системы, но в единичных случаях в разгар заболевания появлялись менингеальные симптомы [287].

В США анаплазмозно-боррелиозная инфекция протекает тяжелее, с более выраженными проявлениями общеинфекционного синдрома, чем моноинфекция БЛ [469; 525; 872]. В России, по крайней мере в Предуралье, такие различия не наблюдаются, однако при микст-инфекции достоверно чаще наблюдались нарушения со стороны печени [287]. Данный вопрос требует дальнейшего изучения.

При сочетании БЛ с КР наблюдается длительная лихорадка, продолжающаяся в среднем 10 дней. Тяжелое клиническое течение описано при сочетании одновременно трех нозологических форм: КЭ, БЛ и КР, которое сопровождалось высокой и длительной (от 10 до 30 дней) лихорадкой, обильной пятнисто-папулезной сыпью, лимфаденопатией, гепато- и спленомегалией [153]. Учитывая разнообразие фауны и экологических особенностей иксодовых клещей, широту их связи с этиологически многообразными группами возбудителей болезней [16], можно предполагать, что разнообразие вариантов микст-заболеваний, распространенных с большей или меньшей частотой в разных ландшафтных зонах, окажется значительно больше, чем уже выявлено. Их число неизбежно будет увеличиваться в связи с описанием неизвестных ранее возбудителей, чему способствует применение современных молекулярно-биологических методов. Так, например, по данным Э. И. Коренберга с соавт. [87] в Пермском крае в последние

годы, помимо моноинфекций БЛ, КЭ, ГАЧ и МЭЧ, в общей сложности около 16% заболеваний, возникающих после присасывания клеща при одновременном заражении двумя или более возбудителями этих заболеваний, составляют различные варианты микст-инфекций. Но, кроме этого, около 22% всех случаев, возникающих после присасывания клеща, остаются нерасшифрованными [87].

Перечень клещевых патогенов в мире достаточно широк. В Таблице 15 представлены сводные данные наиболее часто встречающихся возбудителей, вызывающих заболевания у человека в пределах ареала КЭ, виды основных переносчиков (клещей семейства Ixodidae), названия болезней человека и их распространение. Следует отметить, что также с присасыванием иксодовых клещей могут быть связаны заболевания неинфекционной природы: альфа-гал синдром (Alpha-gal syndrome) в основе которого лежит аллергическая реакция, и клещевой паралич (Tick paralysis) – вызывается токсином, содержащимся в слюнных железах клеща.

Таблица 15 – Наиболее распространенные клещевые патогены в пределах ареала КЭ

Возбудитель	Основные переносчики	Заболевание	Распространение	Источник литературы
ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ				
Пор. Amarillovirales, сем. Flaviviridae, род <i>Flavivirus</i> (вирусы комплекса клещевого энцефалита)				
<i>Вирус клещевого энцефалита</i>	<i>Ixodes ricinus, Ixodes persulcatus</i>	Клещевой энцефалит	Европа, Россия, Азия	561; 568
<i>Вирус Повассан</i>	<i>I. scapularis, I. cookei, H. longicornis, H. concinna, H. japonica</i>	Энцефалит Повассан	Северо-Восток США, прилегающая часть Канады, Дальний Восток России	331; 561; 688
<i>Вирус Омской геморрагической лихорадки</i>	<i>D. reticulatus, D. marginatus</i>	Омская геморрагическая лихорадка	Россия	782
<i>Вирус Алонгшан</i>	<i>Rhipicephalus microplus, I. ricinus, I. persulcatus</i>	Инфекция, вызванная вирусом Алонгшан	Азия, Европа, Центральная и Южная части США, Африка, Россия	356; 666; 675; 812
Пор. Bunyvirales, сем. Nairoviridae, род <i>Orthonairovirus</i>				
<i>Вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки</i>	<i>Hyalomma</i> spp., <i>R. sanguineus</i>	Конго-крымская геморрагическая лихорадка	Европа, Ближний Восток, Азия, Индия, Африка	561; 617
Пор. Bunyvirales, сем. Bunyaviridae, род <i>Phlebovirus</i>				
<i>Вирус острой лихорадки с тромбоцитопеническим синдромом</i>	<i>H. longicornis, R. microplus</i>	Острая лихорадка с тромбоцитопеническим синдромом	Китай, Южная Корея, Япония	561; 865; 985
Пор. Reovirales, сем. Reoviridae, род <i>Orbivirus</i>				
<i>Вирус Кемерово</i>	<i>I. ricinus, I. persulcatus, D. reticulatus</i>	Лихорадка Кемерово	Россия	810
БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНФЕКЦИИ				
Пор. Spirochaetales, сем. Spirochaetaceae, род <i>Borrelia</i> (боррелиозы и клещевые возвратные лихорадки)				
<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>	<i>I. scapularis, I. pacificus, I. ricinus, I. persulcatus</i>	Боллезнь Лайма (Лайм-боррелиоз)	Север США, Европа, Азия, Россия	239; 420; 561; 732
<i>Borrelia miyamotoi</i>	<i>I. scapularis, I. pacificus, I. ricinus, I. persulcatus</i>	Боррелиоз, вызванный <i>Borrelia miyamotoi</i>	Север США, Европа, Китай, Япония, Россия	239; 561; 644

Продолжение Таблицы 15

Пор. Rickettsiales, сем. Rickettsiaceae, род Rickettsia (клещевые пятнистые лихорадки и клещевые тифы)				
<i>Rickettsia sibirica</i>	<i>D. nuttalli</i>	Сибирский клещевой тиф	Китай, Россия, Монголия	408; 832
<i>Rickettsia mongolotimonae</i>	<i>Hyalomma asiaticum</i>	Риккетсиоз, ассоциированный с лимфангитом	Китай, Юг Франции, Португалия, Африка	408; 832
<i>Rickettsia slovaca</i>	<i>D. marginatus, D. reticulatus</i>	Лимфаденопатия после присасывания клеща (TIBOLA); Лифаденопатия и некроз, связанный с присасыванием клеща рода <i>Dermacentor</i> (DEBONEL)	Европа, Северная Африка, Азия, Россия	408; 832; 894
<i>Rickettsia raoultii</i>	<i>D. marginatus, D. reticulatus</i>	Лимфаденопатия после присасывания клеща (TIBOLA); Лифаденопатия и некроз, связанный с присасыванием клеща рода <i>Dermacentor</i> (DEBONEL)	Европа, Южная Корея, Китай, Россия	206; 408; 832
<i>Rickettsia heilongjiangensis</i>	<i>D. silvarum, H. concinna</i>	Риккетсиоз, вызванный <i>Rickettsia heilongjiangensis</i>	Япония, Северо-восток Китая, Россия	338; 408; 503; 832
<i>Rickettsia helvetica</i>	<i>I. ricinus, D. reticulatus</i>	Клещевой риккетсиоз	Европа	408; 832
<i>Rickettsia aeschlimanii</i>	<i>I. ricinus, D. reticulatus, H. marginatum, Rhipicephalus spp.</i>	Пятнистая лихорадка	Европа	408; 503; 832
<i>Rickettsia monacensis</i>	<i>I. ricinus</i>	Клещевой риккетсиоз	Европа	408; 832
Пор. Rickettsiales, сем. Anaplasmataceae, роды Anaplasma, Ehrlichia, Neorhrlichia (анаплазмоз и эрлихиозы)				
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>I. scapularis, I. pacificus, I. ricinus, I. persulcatus</i>	Гранулоцитарный анаплазмоз человека	Северо-Восток и центральная часть США, Россия	239; 674; 914
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	<i>Amblyomma americanum, D. variabilis</i>	Моноцитарный эрлихиоз человека	США, Россия	445; 674
<i>Ehrlichia muris eauclairensis</i>	<i>I. scapularis, I. ricinus, I. persulcatus</i>	Моноцитарный эрлихиоз человека	США, Россия	239; 503
Другие бактериальные клещевые инфекции				
<i>Francisella tularensis</i>	<i>Amblyomma, Dermacentor, Ixodes, Haemaphysalis spp.</i>	Туляремия	Северная Америка, Европа, Азия, Россия	901
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Amblyomma, Dermacentor Ixodes, Haemaphysalis spp.</i>	Ку-лихорадка	Распространение по всему миру	590
ПРОСТЕЙШИЕ				
<i>Babesia divergens</i>	<i>I. ricinus</i>	Бабезиоз	Европа	561

Проблема сочетанных клещевых инфекций представляет не только научный интерес, но и имеет важное практическое значение в эпидемиологическом, клиническом, лечебном и

диагностическом аспектах. Полагают, что в организме клеща не возникает антагонистических отношений между разными микроорганизмами, поскольку они локализируются в определенных органах и тканях [268]. Антибактериальные препараты являются базовыми в лечении БЛ и микст-инфекций бактериальной природы, а также используются для лечения интеркуррентных инфекций (пневмонии, инфекций мочевыводящих путей и др.) при тяжелом течении КЭ (включая хроническое) с сопутствующими заболеваниями. Показано, что лечение сопутствующих бактериальных инфекций антибиотиками нередко способствует активации персистирующего вируса КЭ и обострению клинических симптомов болезни, поскольку многие антибиотики обладают иммуносупрессивным действием [27; 172; 281], т.е. подавляют иммунный статус больного, что усугубляет течение КЭ.

В литературе описан случай микст-инфекции КЭ и БЛ, когда после улучшения состояния на фоне приема доксицилина (препарат тетрациклиновой группы) внезапно развилась тяжелая очаговая форма КЭ с летальным исходом [27]. Не исключено, что доксицилин способствовал утяжелению течения заболевания. Еще в одном клиническом примере при наличии эритемы после присасывания клеща *I. persulcatus* был назначен антибиотик из группы аминогликозидов – гентамицин, применение которого могло привести к ускорению развития патологического процесса и развитию очаговой формы КЭ с летальным исходом [27]. Также описан случай назначения и приема миноциклина (препарат тетрациклиновой группы) на 3-й день после присасывания клеща вследствие появления эритемы. У пациента развилась острая форма КЭ, который был подтвержден результатами ИФА на 18-й день болезни [27]. Не исключено, что именно прием данного антибиотика для лечения эритемной формы БЛ способствовал развитию острого течения КЭ.

В. В. Погодиной и сотрудниками лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН была разработана система оценки иммуносупрессивного и провоцирующего действия лекарственных препаратов, в том числе, антибиотиков на персистирующий вирус КЭ [2; 172; 232; 298]. Метод основан на моделировании персистенции вируса КЭ в организме сирийских хомяков и введении препаратов в дозах, эквивалентных терапевтическим дозам для человека. Использование комплекса вирусологических, иммунологических и морфологических критериев позволило разделить препараты на 3 группы: сильные активаторы, слабые активаторы и вещества, лишенные активирующих свойств (Таблица 16). К сильным активаторам были отнесены препараты, усиливающие репродукцию вируса КЭ и клинико-морфологические проявления хронического КЭ (ХКЭ), а также вызывающие выраженную депрессию гуморального иммунитета. Препараты, стимулирующие репродукцию вируса без клинико-морфологической манифестации ХКЭ и

заметного иммунодепрессивного эффекта, были отнесены к слабым активаторам. К веществам, лишенным активирующих свойств были отнесены препараты, которые не влияли ни на репродукцию вируса, ни на гуморальный иммунитет. Таким образом, были получены данные о степени активирующего действия на вирус КЭ антибиотиков широкого спектра действия, относящихся к группам аминогликозидов, цефалоспоринов, тетрациклина, пенициллина, левомицетина, ристомидина, полиенов и резервного противотуберкулезного антибиотика флоримидина.

В результате исследований, проведенных на сирийских хомяках массой 80-100 г. было показано, что к сильным активаторам следует отнести стрептомицина хлоркальциевый комплекс (антибиотик группы аминогликозидов, противотуберкулезный препарат) и тетрациклин (антибиотик группы тетрациклинов). Стрептомицин вызывал активацию персистирующего вируса КЭ при введении его в суммарной дозе 140-700 мг при суточной дозе 8-20 мг. Наряду с увеличением репродукции вируса КЭ и усилением патоморфологических изменений в центральной нервной системе (ЦНС) эти препараты были способны вызывать клинически выраженное заболевание у сирийских хомяков. У животных появлялись такие клинические симптомы как вялость, адинамия, замедленная реакция на раздражение, легкий тремор. Активация происходила как на ранних (2,5 месяцев), так и отдаленных (8-9 месяцев) сроках персистенции. Стрептомицин, введенный в суммарной дозе 56 мг (суточная доза – 4 мг) не вызывал активации вируса КЭ. Иммунодепрессия выражалась в четырехкратном снижении титра антигемагглютинирующих и комплементсвязывающих антител у сирийских хомяков, которым вводился стрептомицин. Активирующий эффект стрептомицина, возможно, также обусловлен его нейротоксическими свойствами [172]. Подобное стрептомицину активирующее действие на персистирующий вирус КЭ оказывал также тетрациклин [232].

Слабый активирующий эффект на вирус КЭ оказывали канамицин (канамицина сульфат) (антибиотик группы аминогликозидов) и флоримидин (флоримидина сульфат) (антибиотик группы аминогликозидов, противотуберкулезный препарат) при введении их в суммарной дозе 180 мг (10 мг в сутки) и 360 мг (20 мг в сутки) соответственно. При введении канамицина и флоримидина стимулировалась репродукция инфекционного вируса КЭ без манифестации клинико-морфологических симптомов КЭ. В целом, частота активации составляла 5%. Наблюдалась незначительная депрессия гуморального иммунитета [173]. Позже подобный эффект был обнаружен при изучении влияния кефзола (цефазолин, цефамезин) (антибиотик цефалоспориновой группы I поколения) на персистирующий вирус КЭ, который вводился из расчета 10 мг в день [281].

Антибиотики группы пенициллинов не давали активирующего эффекта в испытанных дозах (бензилпенициллина натриевая соль при суточной дозе 10 тыс. и 50 тыс. Ед в течение 20 дней, ампициллина натриевая соль 2,5-2 мг в течение 7-21 дня). Активирующего эффекта также не было выявлено при использовании левомецетина (левомецетин сукцинат растворимый) (антибиотик группы хлорамфеникола) в суммарной дозе 540 мг, ристомицина (ристомицина сульфат) (полипептидный антибиотик, относится к группе других антибиотиков) – 360 мг и леворидона (леворин) (полиеновый противогрибковый антибиотик), а также гентамицина (группа аминогликозидов).

Таблица 16 – Группировка антибиотиков по способности активировать персистирующий вирус и влияющих на острое течение КЭ

Степень активации вируса КЭ	Эффект	Антибиотики
Сильная	Усиление репродукции персистирующего вируса КЭ Прогрессирование клинико-морфологических проявлений хронического КЭ Выраженная иммунодепрессия	Стрептомицин Тетрациклин
Слабая	Усиление репродукции персистирующего вируса КЭ без прогрессирования клинико-морфологических проявлений хронического КЭ Умеренная иммунодепрессия	Канамицин Флоримицин Кефзол (цефазолин, цефамезин) Цефтриаксон
Отсутствует	Отсутствие усиления репродукции персистирующего вируса КЭ и прогрессирования клинико-морфологических проявлений хронического КЭ Слабая, нерегулярная иммунодепрессия	Пенициллин Ампициллин Левомецетин Ристомицин Леворидон Гентамицин

Примечание: расчет препаратов производился по таблице: «Соотношение доз для различных видов животных в пересчете на единицу поверхности тела» [784], что соответствовало терапевтической дозе, используемой для лечения человека.

Степень активирующего эффекта коррелировала с иммунодепрессивным действием антибиотиков, оцениваемым по снижению уровня гуморального иммунитета. На фоне активации персистентной инфекции, вызванной антибиотиками, можно было наблюдать повышение вирулентности изолированных штаммов вируса КЭ по сравнению с родительскими штаммами, использованными для заражения сирийских хомяков. Так, если родительский штамм 41/65 был вирулентен для 16,6% сирийских хомяков при средней продолжительности жизни (СПЖ) 189,1 дней, то штаммы, активированные стрептомицином, были патогенны для 100% животных при показателях СПЖ 6,5 дней [172].

Полученные данные относительно испытанных в лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН антибиотиков имеют большое практическое значение. Известно, что хронический КЭ у больных часто сочетается с сопутствующими инфекциями бактериальной природы. Это могут быть как бактериальные инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, так и другие бактериальные инфекции, в частности туберкулез, и другие, требующие специфического лечения. Поскольку в ходе проведенных исследований было установлено, что тетрациклин оказывал сильное активирующее действие на персистирующий вирус КЭ, а доксициклин относится к препаратам тетрациклинового ряда, который наиболее часто используется для лечения и профилактики бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами, то следует с осторожностью применять данный антибиотик при подозрении на сочетанную бактериальную инфекцию с КЭ. Помимо иммунодепрессивного действия доксициклин обладает побочным нейротоксическим действием, что также может усугублять течение КЭ.

В настоящее время при среднетяжелых и тяжелых формах инфекций бактериальной этиологии, в частности, острой формы БЛ введение антибактериальных препаратов осуществляется парентерально, в достаточных дозировках и с учетом фармакодинамики. Препаратом выбора является цефтриаксон – цефалоспориновый антибиотик III поколения. Исследования, проведенные нами, показали, что при остром течении КЭ данный антибиотик можно отнести к группе препаратов со слабым действием активации [122].

Таким образом, проведенное изучение 12 антибиотиков позволило сгруппировать их следующим образом (Таблица 16): два антибиотика – стрептомицин-хлоркальциевый комплекс (группа аминогликозидов) и тетрациклина гидрохлорид (антибиотик тетрациклинового ряда) охарактеризованы как сильные активаторы; четыре антибиотика – флоримицина сульфат (группа аминогликозидов), канамицина сульфат (группа аминогликозидов), кефзол (группа цефалоспоринов) и цефтриаксон (группа цефалоспоринов) охарактеризованы как слабые активаторы; шесть антибиотиков – ристомицина сульфат (полипептидный антибиотик, относится к группе других антибиотиков), натриевая и калиевая соль бензилпенициллина (группа пенициллинов), ампициллин (группа пенициллинов), леворидон (полиеновый противогрибковый антибиотик), левомецетина сукцинат (антибиотик группы хлорамфеникола) и гентамицин (группа аминогликозидов) в испытанных условиях не проявили активирующих свойств [27; 172; 173; 281; 322].

В настоящее время не разработаны единые подходы к лечению клещевых инфекций сочетанной вирусной и бактериальной этиологии. Очевидно, что адекватное лечение данной патологии требует комплексного подхода и одновременного воздействия на вирус КЭ и

бактериальные возбудители. Этенко Д. А. с соавт. [125] считают перспективным лечение КЭ в сочетании с БЛ, направленное на иммунокоррекцию с введением иммуноглобулина человека нормального, содержащего широкий спектр антител и оказывающего иммуномодулирующее действие. При этом авторы отмечают утяжеление течения КЭ на фоне лечения цефтриаксоном. Поэтому нельзя исключить возможное иммунодепрессивное действие данного антибиотика на течение острого КЭ. В ходе нашего экспериментального исследования данный антибиотик был отнесен к группе «слабых активаторов». Изучение влияния различных антибиотиков на течение острого, а также хронического КЭ при лечении сопутствующих инфекций бактериальной природы требует дальнейших исследований.

Таким образом, широкое распространение трансмиссивных клещевых заболеваний сочетанной этиологии требует пересмотра всей системы отношения к инфекциям, передающимся иксодовыми клещами. Необходим комплексный подход к изучению, диагностике и лечению этиологически различных клещевых заболеваний, а также рациональной стратегии их одновременной профилактики [696].

1.5. Эпидемиологический надзор за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами

Согласно определению, эпидемиологический надзор – это информационно-аналитическая система, позволяющая осуществлять оценку текущей ситуации по одной, нескольким или совокупности инфекционных болезней, на определенной территории, среди определенных групп населения и в определенное время [265; 307]. Целью эпидемиологического надзора является получение объективной эпидемиологической информации в объеме, достаточном для обеспечения рационального планирования, осуществления и корректировки мероприятий по профилактике и борьбе с инфекционными (паразитарными) болезнями [306; 308]. Функционирование системы эпидемиологического надзора предполагает решение трех основных задач: 1) предупреждение заболеваемости в отдельных группах населения; 2) снижение заболеваемости совокупного населения; 3) ликвидация отдельных инфекционных (паразитарных) заболеваний [20].

Система эпидемиологического надзора включает в себя три взаимосвязанные подсистемы: информационную, диагностическую и управленческую (Рисунок 11).



Рисунок 11 – Система эпидемиологического надзора

Информационная подсистема обеспечивает сбор данных о состоянии и тенденциях эпидемического процесса (мониторинг эпидемического процесса), причинах (биологический фактор) и условиях (социальный и природные факторы), поддерживающих эпидемический процесс на конкретной территории. В зависимости от эпидемиологических особенностей инфекционного (паразитарного) заболевания, уровня теоретических знаний и практических возможностей реализуются эпидемиологический, микробиологический (вирусологический, бактериологический, молекулярно-биологический, серологический), иммунологический (серологический), зооэпидемиологический, социально-экологический мониторинги [306; 307].

Диагностическая подсистема предусматривает предэпидемическую диагностику, постановку эпидемиологического диагноза и прогнозирование эпидемиологической ситуации на основе оценки всех потоков информации. Предэпидемическую диагностику, т.е. своевременное обнаружение предпосылок и предвестников возможного осложнения эпидемиологической ситуации осуществляют в ходе динамического наблюдения за заболеваемостью и показателями, свидетельствующими о возможной активизации эпидемического процесса [307]. Постановку эпидемиологического диагноза осуществляют в ходе ретроспективного и оперативного эпидемиологического анализа. На основе ретроспективного эпидемиологического анализа проводят математическое прогнозирование тенденций эпидемического процесса. Прогнозирование в ходе оперативного эпидемиологического анализа базируется на результатах предэпидемической диагностики [307].

Управленческая подсистема включает принятие управленческих решений (приказы, постановления, информационные письма, планы мероприятий) на основе результатов ретроспективного и оперативного эпидемиологического анализа. Управленческие решения на основе ретроспективного эпидемиологического анализа предполагают составление проблемно-тематических, программно-целевых и функционально-отраслевых планов. Управленческие решения на основе оперативного эпидемиологического анализа предусматривают контроль исполнения этих планов и внесение корректив в тактику проводимых мероприятий с учетом изменяющихся факторов риска [307].

Эффективность действующей системы эпидемиологического надзора оценивают по степени достижения поставленной цели. Различают эпидемиологическую, социальную и экономическую эффективность. Эпидемиологическую эффективность определяют по влиянию на уровень, структуру и динамику заболеваемости. Социальную эффективность – по общим показателям, характеризующим состояние здоровья населения (смертность, инвалидность, временная потеря трудоспособности). Экономическую эффективность – по денежному выражению предотвращенного ущерба от случаев заболевания [184].

Для решения задач предупреждения (профилактики) и снижения заболеваемости инфекциями, передающимися иксодовыми клещами необходима эффективная информационная подсистема, включающая:

- 1) мониторинг заболеваемости населения клещевыми инфекциями:
 - динамика по дням, неделям, декадам, месяцам и годам
 - распределение с учетом территории инфицирования возбудителями с последующим построением картограмм
 - структура по возрасту, полу, социальному и профессиональному составу;
 - тяжести клинических проявлений
 - распространение среди привитых и непривитых против КЭ лиц
- 2) микробиологический мониторинг:
 - вирусологический (выделение вируса КЭ из материала от больных на лабораторных животных и в культуре клеток)
 - бактериологический (микроскопия мазков крови от больных БЛ, ГАЧ и МЭЧ)
 - молекулярно-биологический (обнаружение генетического материала возбудителей в крови, СМЖ, аутопсийном материале от больных)
 - серологический (выявление антигена вируса КЭ в сыворотке крови, СМЖ)
- 3) иммунологический (серологический) мониторинг:
 - оценка напряженности иммунитета у привитых против КЭ

– определение интенсивности циркуляции вируса среди непривитого населения

4) зооэнтомологический мониторинг:

– сбор данных о численности иксодовых клещей в сезон их максимальной активности на стационарных точках

– сбор данных при проведении рекогносцировки территорий, наиболее часто посещаемых населением

– сбор данных об инфицированности иксодовых клещей различными возбудителями (вирусом КЭ, боррелиями, анаплазмами, эрлихиями и др.)

5) социально-экологический мониторинг:

– сбор материалов о социальных и природных факторах, поддерживающих эпидемический и эпизоотический процессы.

При социально-экологическом мониторинге собирают данные; о наличии лесотипологических участков и контингентов повышенного риска заражения; о местах наиболее интенсивного нападения иксодовых клещей с составлением ландшафтных картограмм; о природообразующей деятельности на административной территории; о наличии на территории природного очага оздоровительных учреждений, туристических баз, зон отдыха, о садово-огороднической деятельности населения территории; об организации специфической профилактики населения (вакцинацинопрофилактика, экстренная иммуноглобулинопрофилактика); об организации медицинского обслуживания населения (диагностика, госпитализация) [184].

Слежение за природно-климатическими факторами предусматривает сбор данных о температуре воздуха, осадках, выраженности снежного покрова и других условиях, оказывающих конечное влияние на эпидемический процесс.

Диагностическая подсистема включает оперативный и ретроспективный эпидемиологический анализ.

Оперативный эпидемиологический анализ за эпидемиологической и эпизоотической ситуациями на конкретных ландшафтных или лесотипологических участках проводят по следующим признакам:

– заболеваемость населения и интенсивность «покусанности»

– иммунологическая структура здорового населения

– численность и инфицированность иксодовых клещей

– частота присасывания клещей на крупном рогатом скоте

– численность мелких грызунов, интенсивность прокормления на них личинок (нимф).

Все эти показатели сравнивают со среднемноголетними (контрольными) уровнями.

Ретроспективный эпидемиологический анализ проводят по следующим группам признаков:

- заболеваемость и «покусанность» в показателях на 100 тыс. населения
- многолетняя и внутригодичная динамика заболеваемости и «покусанности» с выявлением «времени риска»
- территориальное распространение заболеваемости и «покусанности» с выявлением «территорий риска»
- возрастная, социальная, профессиональная структура заболеваемости и «покусанности» с установлением «коллективов и групп риска» [184].

В заключении обосновывают ведущий тип эпидемического процесса по способу заражения (трансмиссивный, алиментарный), исходя из доли того или иного пути передачи определяют конкретные факторы риска. Факторами риска заражения населения при присасывании иксодовых клещей могут быть профессиональная связь с лесом (работа в леспромхозах, геологическая разведка, природно-преобразовательная деятельность) или бытовая (сбор грибов, ягод, садово-огородническая), отдых (туризм, отдых в зоне природного очага). Факторами риска заражения населения алиментарным путем могут быть небрежное содержание сельскохозяйственных животных (коз, коров), интенсивность присасывания к ним клещей, употребление в пищу термически необработанного молока или продуктов из него приготовленных (сметана, творог и т.д.) [184].

Прогнозирование заболеваемости инфекциями, передающимися иксодовыми клещами строится на основании экстраполяции тенденции в многолетней динамике [36] и по результатам энтомологических исследований стационарных точек [183].

Управленческая подсистема предполагает принятие управленческих решений (приказы, постановления, информационные письма, планы мероприятий), их методическое обеспечение и контроль исполнения. Перспективный проблемно-тематический план составляют сроком на 5 лет. В его реализации участвуют учреждения Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения, ветеринарной службы, администрация территории, а также другие заинтересованные учреждения и ведомства.

Заключение по обзору литературы

Суммируя литературные данные можно сделать заключение, что трансмиссивные вирусные и бактериальные клещевые инфекции продолжают оставаться одной из важнейших проблем здравоохранения и представляют собой постоянную угрозу для эпидемиологического благополучия населения России, и в мире в целом. Появляется информация о более широком

географическом распространении КЭ в странах Европы, увеличивается доля безэритемных форм боррелиозов, диагностика которых остается нерешенной проблемой во всем мире, появляются новые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами – БМ, МЭЧ, ГАЧ, которые обуславливают необходимость разработки новых диагностических подходов для их верификации. До сих пор в рекомендациях федерального уровня не представлена информация по диагностике случаев КЭ среди вакцинированных пациентов, доля которых доходит до 40-80% на отдельных эндемичных территориях. Несмотря на доминирование сибирского подтипа вируса КЭ на территории России, который является этиологическим агентом заболевания как у вакцинированных против КЭ, так и невакцинированных лиц, до сих пор мало изучен его патогенный потенциал. Общность переносчиков и резервуарных хозяев большинства клещевых патогенов, обуславливают высокую степень микст-инфицирования, а, следовательно, и развития сочетанных клещевых инфекций, диагностика которых требует разработки новых диагностических алгоритмов.

Распространение природных очагов и биологические особенности циркулирующих в них возбудителей, экология и многие аспекты эпидемиологии некоторых клещевых инфекций остаются почти не изученными (например, БМ, МЭЧ, ГАЧ) из-за сложности изоляции и культивирования возбудителей, а также вследствие отсутствия или заниженной обязательной статистической отчетности, что зачастую связано с проблемами в диагностике заболеваний.

Алгоритм диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами включает эпидемиологический анамнез, клиническую симптоматику и этиологическую лабораторную диагностику. КЭ, БЛ, боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, МЭЧ и ГАЧ имеют довольно много сходных клинических черт, особенно в дебюте заболевания, например, спектр проявлений общеинфекционного синдрома. Правильная клиническая диагностика микст-инфекций – это сложная задача, поскольку в одних случаях могут возникать клинические симптомы только одной нозологической формы, в то время как вторая имеет стертое или латентное течение, в других случаях одновременно проявляются клинические признаки нескольких нозологических форм [297]. Поэтому важно проводить надлежащие фундаментальные и клинико-эпидемиологические исследования. В такой ситуации еще большее значение приобретает внедрение новых методов лабораторной диагностики и оптимизация алгоритмов дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, которые помогут подтвердить диагноз, что в свою очередь позволит врачу-клиницисту принять правильное решение о рациональном лечении. В этой связи чрезвычайно актуальна разработка доступных практическому здравоохранению как ПЦР, так серологических тест-систем, которые позволяли бы выявлять генетический материал и специфические антитела одновременно к нескольким возбудителям [138]. На практике оптимальные результаты лабораторной

диагностики трансмиссивных клещевых инфекций дает сочетание серологических и молекулярно-биологических методов. Новые методы ПЦР с последующим секвенированием могут оказаться высокоинформативными в выявлении как моно-, так и микст-инфекций с учетом большого разнообразия клещевых патогенов. Рациональная и своевременная диагностика является залогом совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диссертационное исследование выполнено на базе лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) и лаборатории эпидемиологии природно-очаговых инфекций ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора. Отдельные фрагменты исследования выполнялись проспективно в ходе экспедиционных работ на базе второго неврологического отделения ООО МО «Новая больница» (Городской центр природно-очаговых инфекций) г. Екатеринбурга (зав.отделением и руководитель центра – к.м.н. М. Г. Топоркова), отделения особо опасных инфекций (лаборатория контроля биологических факторов) ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области» (зав.отделением – А. Л. Дурасова), лаборатории молекулярно-биологических методов исследования ГАУЗ Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург» (зав.лабораторией – И. Г. Стародубова).

Работа проводилась в период 2008-2021 гг. и носила комплексный характер. Для достижения цели и решения поставленных задач был использован комплекс эпидемиологических, микробиологических (вирусологических и бактериологических), иммунологических, молекулярно-биологических, статистических, математических методов исследования, а также метод экспертных оценок, которые представлены в обобщенном виде в соответствии с основными направлениями исследований в Таблице 17.

2.1. Дизайн и материалы исследования

Исследование предполагало реализацию ряда последовательных этапов (Таблица 17).

Первый этап исследования включал анализ проявлений эпидемического процесса КЭ и бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами (БЛ, МЭЧ и ГАЧ) на территории РФ. Был проведен ретроспективный анализ обращаемости населения в медицинские учреждения по поводу присасывания иксодовых клещей (2013-2021 гг.), заболеваемости КЭ (2005-2021 гг.), БЛ (2005-2021 гг.), МЭЧ и ГАЧ (2013-2021 гг.), совокупного населения РФ в целом и по субъектам, и детей в возрасте до 17 лет включительно. На данном этапе на примере Свердловской

области – территории высоко эндемичной по КЭ и БЛ – дана сравнительная характеристика проявлений эпидемического процесса КЭ и БЛ на основе проведенного ретроспективного анализа заболеваемости населения области в период 2005-2021 гг.

Материалами для исследования послужили данные официального учета и отчетности о случаях инфекционных болезней – формы федерального статистического наблюдения №2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые), а также данные о случаях заболеваний КЭ и БЛ населения Свердловской области, в том числе вакцинированных против КЭ (экстренные извещения форма №058/у), собранные за период с 2005-2021 гг.

Таблица 17 – Материалы и методы исследования

Этапы, соответствующие задачам исследования	Направление исследования	Характеристика материалов	Годы	Количество (формы и наблюдения)	Используемые типы и методы исследований
1	Мониторинг обращаемости населения по поводу присасывания клещей на территории РФ в целом и по субъектам	Данные федерального статистического наблюдения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые)	2013-2021	9 форм 4 408 286 наблюдений	Эпидемиологический (ретроспективное описательное эпидемиологическое исследование); статистические (Microsoft Excel, SPSS)
	Изучение динамики, территориального распределения и структуры заболеваемости КЭ на территории РФ в целом и по субъектам	Данные федерального статистического наблюдения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые)	2005-2021	17 форм 43008 наблюдений	
	Изучение динамики, территориального распределения и структуры заболеваемости БЛ на территории РФ в целом и по субъектам	Данные федерального статистического наблюдения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые)	2005-2021	17 форм 119883 наблюдений	
	Изучение динамики, территориального распределения и структуры заболеваемости МЭЧ и ГАЧ на территории РФ в целом и по субъектам	Данные федерального статистического наблюдения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые)	2013-2021	18 форм 847 наблюдений (из них МЭЧ – 154, ГАЧ – 693)	
	Сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса КЭ и БЛ на территории Свердловской области	Данные о случаях заболеваний КЭ и БЛ населения Свердловской области, в том числе привитых против КЭ (данные федерального статистического наблюдения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые); экстренные извещения – форма №058/у)	2005-2021	34 формы 13 746 наблюдений (из них КЭ – 2766, БЛ – 10980)	
2	Оценка социально-экономического бремени КЭ и БЛ в РФ	Данные федерального статистического наблюдения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (годовые)	2006-2012	14 форм (из них КЭ – 7, БЛ – 7)	Эпидемиологический (ретроспективное описательное эпидемиологическое исследование, открытые интернет-источники); статистические (Microsoft Excel, SPSS); математические методы; метод экспертных оценок

Продолжение Таблицы 17

3	Разработка, оптимизация условий ПЦР-методик в режиме реального времени для одновременного выявления основных четырех патогенов (<i>Tick-borne encephalitis virus</i> , <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> , <i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Ehrlichia chaffeensis/Ehrlichia muris</i>) и <i>Borrelia miyamotoi</i>	Стандартные образцы предприятия (СОПы) для проверки аналитической чувствительности, штаммы различных микроорганизмов, а также геномной ДНК человека для проверки аналитической специфичности	2008-2013	Более 100 экспериментов	Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени)
	Апробация разработанных ПЦР-методик в режиме реального времени	Материал (кровь, СМЖ, аутопсийный материал) от больных клещевыми инфекциями из Свердловской области; иксодовые клещи <i>I. persulcatus</i> и <i>I. ricinus</i> , собранные на территории Московской области	2008-2009	638 наблюдений (из них клещи – 363, пациенты – 276: плазма и сыворотка крови – 273 пациента, аутопсийный материал – 3 пациента). От каждого пациента исследовались плазма и парные сыворотки крови в динамике	Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); серологические (ИФА); статистические (Microsoft Excel)
4	Проведение молекулярно-биологического мониторинга за распространением вируса КЭ и возбудителей бактериальных инфекций, передающихся иксодовыми клещами в различных регионах РФ (11 регионов, 6 федеральных округов) и Республики Казахстан (3 области)	Иксодовые клещи <i>I. persulcatus</i> и <i>I. ricinus</i>	2004-2013	7768 клещей (образцов), из них 7030 клещи из природы, 738 клещи, снятые с людей (из Свердловской области)	Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); статистические (Microsoft Excel, SPSS)

Продолжение Таблицы 17

5	Изучение эпидемиологических, клинико-лабораторных, молекулярно-генетических характеристик КЭ на территории Свердловской области	Клинический материал от больных с КЭ (плазма крови, сыворотка крови, СМЖ), истории болезней (форма №003/у)	2009-2011, 2015-2018, 2021	203 пациента (всего исследованных образцов – 624, из них: плазма крови – 95; сыворотка – 429; СМЖ – 100; из них 44 образца исследовались в ПЦР, 66 – методом ИФА на специфические антитела)	Проспективное и ретроспективное эпидемиологические исследования; клинические методы; лабораторные методы (ОАК, ОАМ, биохимические, исследование СМЖ); молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); серологические (ИФА; планарный белковый биочип введен в исследование с 2015 г. для диагностики БМ и в 2021 г. для дифференциальной диагностики БМ и БЛ); в 2011 г. было проведено микроскопическое исследование мазка крови, положительного в ПЦР на наличие <i>B. miyamotoi</i> (спирохет); статистические (Microsoft Excel, SPSS)
	Изучение эпидемиологических, клинико-лабораторных, молекулярно-генетических характеристик БЛ на территории Свердловской области	Клинический материал от больных с БЛ эритемная и безэритемная формы (плазма крови, сыворотка крови, СМЖ), истории болезней (форма №003/у)	2009-2011, 2015-2018, 2021	622 пациента (всего исследованных образцов – 1683, из них: плазма крови – 368; сыворотка – 1307; СМЖ – 8, из них 4 образца исследовались методом ПЦР, 4 – методом ИФА)	
	Изучение эпидемиологических, клинико-лабораторных, молекулярно-генетических характеристик боррелиоза, вызываемого <i>Borrelia miyamotoi</i> на территории Свердловской области	Клинический материал от больных с безэритемной формой боррелиоза (плазма крови, сыворотка крови), истории болезней (форма №003/у)	2009-2011, 2013, 2015-2018, 2021	251 пациент (всего исследованных образцов – 1385, из них: плазма крови – 311, сыворотка – 1176)	

Продолжение Таблицы 17

5	Выделение клинических изолятов (штаммов) <i>B. miyamotoi</i> и определение чувствительности их к антибактериальным препаратам <i>in vitro</i>	Клинический материал от больных с безэритемной формой клещевого боррелиоза (плазма крови)	2015-2018	67 пациентов, выделено 24 изолята (штамма) <i>B. miyamotoi</i>	Бактериологический (культуральный, определение МИК)
	Изучение эпидемиологических, клиничко-лабораторных характеристик возбудителей МЭЧ и ГАЧ на территории Свердловской области	Клинический материал от больных с клещевыми инфекциями (плазма крови, сыворотка крови, СМЖ), истории болезней (форма №003/у)	2017, 2021	103 пациента (всего исследованных образцов – 416, из них: плазма крови – 206, сыворотка крови – 204, СМЖ – 6, из них 3 образца исследовались методом ПЦР и 3 – методом ИФА)	Проспективное и ретроспективное эпидемиологические исследования; клинические методы; лабораторные методы (ОАК, ОАМ, биохимические, исследование СМЖ); молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени); серологические (ИФА); статистические (Microsoft Excel, SPSS)
	Дополнительное исследование биоматериала с целью верификации диагноза «ВЛПЧ» и выявления в структуре клещевых инфекций на территории Свердловской области вирусных (вирусы Кемерово, Алонгшан, Хасеки) и бактериальных (риккетсий группы пятнистых лихорадок, <i>Coxiella burnetii</i>) агентов	Клинический материал от больных с клещевыми инфекциями (плазма крови, сыворотка крови, СМЖ), истории болезней (форма №003/у)	2021	227 пациентов (всего исследованных образцов – 1386, из них: плазма крови – 454, сыворотка крови – 908, из них 681 образец исследовался методом ПЦР, 227 – методом ИФА, СМЖ – 24, из них 12 образцов исследовались методом ПЦР и 12 – методом ИФА)	Ретроспективное исследование молекулярно-биологическими (ПЦР в режиме реального времени) и серологическими (ИФА) методами

Продолжение Таблицы 17

6	Проведение специфической лабораторной диагностики КЭ, БЛ, боррелиоза, вызываемого <i>Borrelia miyamotoi</i> , МЭЧ, ГАЧ	Плазма, сыворотка крови, СМЖ, истории болезней (форма №003/у)	2009-2011, 2013, 2015-2018, 2021	1076 пациентов (всего исследованных образцов – 3724, из них: методом ПЦР (плазма) – 1076, методом ИФА (сыворотка – 2259, СМЖ – 46), методом планарного белкового биочипа – 343)	Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование); серологические (ИФА, планарный белковый биочип). Планарный белковый биочип включен в исследование с 2015 г. ИФА на МЭЧ и ГАЧ проводилось только в 2021 г.
	Изучение динамики гуморального иммунитета у вакцинированных пациентов против вируса КЭ	Сыворотка крови, истории болезней (форма №003/у)	2013-2017	53 пациента (из них 39 вакцинированных пациентов с ОКЭ; 9 невакцинированных пациентов с ХКЭ; 5 вакцинированных пациента с ХКЭ). 3 штамма вируса КЭ, использованные в реакции нейтрализации (Айна/1448 – сибирский подтип (AF091006); Курган 269 – сибирский подтип (FJ214129.1); Софьи – дальневосточный подтип (X07755))	Серологические (ИФА, РТГА, реакция нейтрализации)

Продолжение Таблицы 17

7	Изучение этиологической роли сибирского подтипа вируса КЭ при развитии летальных случаев заболевания из различных регионов РФ (6 регионов), в том числе у вакцинированных	Аутопсийный материал головного и спинного мозга	2008-2014	18 пациентов	Молекулярно-биологические (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование), серологические (ИФА, РТГА, реакция нейтрализации)
	Изучение морфологических изменений при КЭ, вызванном сибирским подтипом возбудителя	Аутопсийный материал головного и спинного мозга	2010-2013	8 пациентов	Иммуногистохимический
	Изучение механизмов развития патологического процесса при КЭ, вызванном сибирским подтипом возбудителя	Истории болезней (форма №003/у)	конец 1960-х-2010 гг.	8 пациентов	Описательный
	Изучение нейровирулентных и нейроинвазивных свойств штаммов вируса КЭ, выделенных при летальных исходах и от пациентов с различными клиническими формами заболевания	Сыворотки крови, культура клеток СПЭВ и Vero, нелинейные белые мыши, сирийские хомяки	2008-2021	11 пациентов	Вирусологические (выделение штаммов вируса в культуре клеток и на лабораторных животных)
8	Разработка алгоритма для дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами	Результаты, полученные на 3-7 этапах исследования	2008-2022	-	Описательный

Второй этап исследования был посвящен оценке социально-экономического бремени (экономического ущерба) КЭ и БЛ на территории РФ. Для оценки социально-экономического бремени КЭ и БЛ была разработана математическая модель, описывающая возможные затраты, связанные с изучаемыми заболеваниями, а также количество потерянных вследствие данного заболевания лет жизни с поправкой на нетрудоспособность и снижение качества жизни (DALY). Расчет затрат производился на когорту больных, заболевших в одном календарном году, для РФ в целом и для отдельных субъектов РФ. При расчетах было сделано два допущения: отсутствие экономического роста и неизменность половозрастного состава населения РФ. Рассчитанная величина бремени представлена в ценах 2011 г.

Третий этап исследования состоял в разработке, оптимизации условий и апробации диагностических ПЦР-методик (тест-систем или наборов реагентов) в режиме реального времени для выявления фрагментов генов вируса КЭ, боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., анаплазм (*A. phagocytophilum*) и эрлихий (*E. chaffeensis* и *E. muris* без дифференциации), а также возбудителя нового боррелиоза – *B. miyamotoi*. На данном этапе были разработаны две тест-системы для выявления вышеперечисленных патогенов в клещах и клиническом материале (плазма, сыворотка крови, СМЖ, синовиальная жидкость, аутопсийный материал). Разработка и оптимизация тест-систем проводилась с использованием СОПов (стандартных образцов предприятия) в известных концентрациях. Аналитическая чувствительность проверялась с применением СОПов на разных биологических материалах и амплификаторах в режиме реального времени, диагностическая чувствительность – на различных близкородственных штаммах микроорганизмов. Первичная апробация проводилась путем исследования 363 иксодовых клещей (*I. ricinus* – 279 особей, *I. persulcatus* – 84 особи), собранных на территории Московской области (в Дмитровском, Талдомском и Клинском районах) и клиническом материале от 273 пациентов из г. Екатеринбурга, поступивших в стационар ООО МО «Новая больница» после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей, а также трех случаев с летальным исходом. Выборку с подтвержденным клинико-серологическим диагнозом составили: 1 группа – пациенты с диагнозом БЛ (безэритемная группа) – 72 человека; 2 группа – пациенты с диагнозом БЛ (эритемная форма) – 94 человека; 3 группа – пациенты с диагнозом КЭ – 22 человека; 4 группа – пациенты с диагнозом КЭ и БЛ (безэритемная форма) – 12 человек; 5 группа – пациенты с диагнозом КЭ и БЛ (эритемная форма) – 9 человек; 6 группа – пациенты с лихорадкой неясной этиологии после присасывания клеща – 37 человек; 7 группа – пациенты с другими диагнозами, не связанными с инфекциями, передающимися иксодовыми клещами – 27 человек. Результаты апробации разработанных ПЦР-методик представлены в главе 4 диссертационного исследования.

Четвертый этап был посвящен изучению зараженности клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* возбудителями КЭ, БЛ, включая БМ, МЭЧ и ГАЧ путем изучения приготовленных суспензий из голодных клещей (по одному в биопробе), которые собирались в природных очагах вышеперечисленных инфекций в различных регионах России (Московская, Ярославская, Костромская, Липецкая, Вологодская, Курганская, Свердловская, Кировская, Кемеровская, Иркутская области, Республика Марий Эл, Ставропольский край) и за ее пределами (Республика Казахстан – Восточно-Казахстанская, Кызылордынская и Алматинская области) в период 2004-2013 гг. Большая часть материалов для исследования была любезно предоставлена учреждениями Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора указанных регионов, а также нами были организованы несколько экспедиций для сбора клещей (Свердловская область – 2006 г. и Московская область – 2008 г.). Всего было исследовано 7768, из них 7030 особей клещей, собранных в природе, 738 – снятые с людей (Таблица 18). Сбор клещей проводился в весенне-летний период во время плановых мониторинговых исследований. География образцов представлена 13 регионами из 6 федеральных округов РФ, включающих территории Европейской части России, Урал, Западную и Восточную Сибирь, а также 3 регионами из Республики Казахстан.

Таблица 18 – Клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus*, собранные в природе и снятые с людей

Регион	Год сбора	Территория	Вид клеща	Количество обследованных клещей
Центральный федеральный округ	2007	Ярославская область	<i>I. persulcatus</i>	34
	2009			116
	2010			61
	2011			158
	2008	Липецкая область	<i>I. ricinus</i>	77
	2009			177
	2010			316
	2008	Московская область	<i>I. persulcatus</i>	84
				<i>I. ricinus</i>
	2009	Калужская область	<i>I. ricinus</i>	53
	2009	Костромская область	<i>I. persulcatus</i>	373
2011	136			
Северо-западный федеральный округ	2006	Вологодская область	<i>I. persulcatus</i>	160
	2007			158
	2008			383
Северо-Кавказский федеральный округ	2009	Ставропольский край	<i>I. ricinus</i>	122
Приволжский федеральный округ	2010	Кировская область	<i>I. persulcatus</i>	43
	2011			119
	2010	Республика Марий Эл	<i>I. persulcatus</i>	566

Продолжение Таблицы 18

Уральский федеральный округ	2004	Свердловская область	<i>I. persulactus</i>	313
	2006			414
	2007			138
	2009			738
	2007			Курганская область
	2009	<i>I. persulactus</i>	190	
Сибирский федеральный округ	2005	Кемеровская область	<i>I. persulactus</i>	300
	2008			543
	2007	Иркутская область	<i>I. persulactus</i>	38
	2008			218
	2009			270
	2012			144
2013	350			
Республика Казахстан	2009	Восточно-Казахстанская область	<i>I. persulactus</i>	261
	2010	Восточно-Казахстанская, Кызылординская, Алматинская области		270
Всего				7768

Индивидуальные экземпляры клещей суспендировали в 1 мл среды 199 на растворе Эрла или физиологическом растворе. Суспензии клещей хранились при температуре от -45°C до -80°C до момента исследования методом ПЦР и вирусологическими методами.

Пятый этап исследования заключался в изучении на территории Свердловской области эпидемиологических, клинико-лабораторных и молекулярно-генетических особенностей КЭ, БЛ, БМ, в период 2009-2021 гг. (2009-2011, 2013, 2015-2018, 2021 гг.), МЭЧ и ГАЧ – только в 2021 г. и их сравнительной характеристики, в том числе с микст-формами заболеваний. В 2021 г. дополнительно биоматериал от пациентов исследовался на вирусные (вирусы Кемерово, Алонгшан, Хесеки) и бактериальные патогены (риккетсии, *Coxiella burnetii*). Для выполнения данного этапа исследования были организованы экспедиции обычно в июне-июле месяце, в эпидемические сезоны 2011, 2013, 2015-2018 и 2021 гг. к работе были подключены сотрудники ГАУЗ СО «Клинико-диагностический центр г. Екатеринбург», которые начинали исследования методом ПЦР (в апреле-мае) и заканчивали (в августе-сентябре) до приезда или отъезда из командировки диссертанта. На данном этапе была изучена этиологическая структура инфекций, передающихся иксодовыми клещами, которые могут возникнуть после присасывания иксодовых клещей или посещения лесной зоны в сезон их активности, дана характеристика эпидемиологических проявлений КЭ, БЛ, БМ, МЭЧ и ГАЧ на современном этапе, определены особенности течения данных заболеваний и сформулированы дифференциальные признаки основных клинических симптомов с учетом лабораторных показателей. Материалами исследования явились данные 1076 историй болезни (медицинские карты) пациентов, поступивших в стационар ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга или находящихся на

амбулаторном лечении (в случае эритемной формы БЛ, а также в 2021 г. в связи с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по новой коронавирусной инфекции многие пациенты отказывались от госпитализации и лечились амбулаторно при нетяжелом течении той или иной клещевой инфекции). Пациенты были разделены на группы по моно- и микст-инфекциям: 1 группа – пациенты с диагнозом КЭ – 95 человек; 2 группа – пациенты с диагнозом БЛ (эритемная форма) – 274 человека; 3 группа – пациенты с диагнозом БЛ (безэритемная группа) – 184 человека; 4 группа – пациенты с диагнозом БМ – 206 человек; 5 группа – пациенты с вирусной лихорадкой, передаваемой членистоногими (ВЛПЧ) – 109 человек; 6 группа – пациенты с диагнозом ГАЧ – 7 человек; 7 группа – пациенты с клещевыми микст-инфекциями в различных сочетаниях: КЭ с БЛ (безэритемная форма) – 53 человека; КЭ с БЛ (эритемная форма) – 18 человек; КЭ с ГАЧ – 4 человека; КЭ с БМ – 22 человека; КЭ с ГАЧ и МЭЧ – 1 человек; КЭ с БМ и ГАЧ – 1 человек; КЭ с БЛ (эритемная форма) и ГАЧ – 3 человека; КЭ с БЛ (безэритемная форма) и ГАЧ – 1 человек; КЭ с БМ, ГАЧ и МЭЧ – 1 человек; КЭ с БМ, БЛ (безэритемная форма) и ГАЧ – 2 человека; КЭ с БЛ (безэритемная форма), ГАЧ, МЭЧ – 1 человек; БМ с ГАЧ – 5 человек; БМ с ГАЧ и МЭЧ – 1 человек; БМ с БЛ (эритемная форма) – 12 человек; БМ с БЛ (эритемная форма) и ГАЧ – 2 человека; БЛ (безэритемная форма) с ГАЧ – 11 человек; БЛ (эритемная форма) с ГАЧ и МЭЧ – 1 человек; БЛ (безэритемная форма) с МЭЧ – 2 человека; БЛ (эритемная форма) с ГАЧ – 55 человек; БЛ (эритемная форма) с ГАЧ и МЭЧ – 4 человека.

Были изучены следующие параметры для каждой группы пациентов:

1. Эпидемиологические: возраст, пол, клиническая форма заболевания, район (территория) и место (локализация) присасывания клеща, длительность и число присасываний клеща (клещей), исследование клеща (клещей) на возбудители клещевых инфекций, длительность госпитализации. Специфическая профилактика (вакцинопрофилактика) оценивалась для пациентов с КЭ или с микст-инфекцией с КЭ, а также для пациентов с ВЛПЧ, для этих групп пациентов оценивалась также экстренная специфическая профилактика – введение иммуноглобулина человека против КЭ. Для пациентов с бактериальными инфекциями оценивалась экстренная профилактика (антибиотикопрофилактика).

2. Клинические: температура (цифровое значение и длительность), наличие озноба, головной боли, головокружения, общей слабости, першения в горле, тошноты, рвоты, диареи, болей в поясничной области и в животе, наличие эритемы (размер, зуд, инфильтрация, болезненность) или множественных эритем, регионарного лимфаденита или генерализованной лимфаденопатии, миалгии, артралгии, менингеальных симптомов, оценивались проба Ромберга, нистагм, прочие симптомы, ЧСС (более 80 ударов в минуту).

3. Лабораторные: общий анализ крови (лейкоциты, эритроциты, тромбоциты, лейкоцитарная формула, СОЭ), общий анализ мочи (удельный вес, белок, глюкоза), исследование СМЖ (при наличии) – определение клеточного состава, биохимический анализ крови с определением активности печеночных трансаминаз (АЛТ, АСТ), общего билирубина, креатинина, С-реактивного белка, глюкозы.

4. Инструментальные: ЭКГ (оценка частоты сердечных сокращений).

Обследованные пациенты были в возрасте от 15 лет до 90 лет, имели в анамнезе факт присасывания клеща или посещение лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей, подписывали добровольное информированное согласие при поступлении в стационар или получении амбулаторной помощи.

Также на данном этапе для доказательства патогенности и роли *B. miyamotoi* в этиологии безэритемных форм КБ впервые в мире были выделены и закреплены клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi* (24 штамма), что позволило определить чувствительность возбудителя к антибактериальным препаратам в системе *in vitro* с помощью МИК-теста для определения минимальной ингибирующей концентрации антибиотиков.

Шестой этап исследования включал проведение специфической лабораторной диагностики клинического материала от пациентов (которые были охарактеризованы по эпидемиологическим и клинико-лабораторным параметрам на четвертом этапе) с помощью молекулярно-биологических (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование) и серологических (ИФА, планарный белковый биочип) методов. Исследования выполнялись с помощью коммерческих диагностических тест-систем, а также методик, разработанных в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (биочип). Исследования методом белкового планарного биочипа проводились в периоды 2015-2018 и 2021 гг. для дифференциальной диагностики БМ и БЛ.

Также на данном этапе было проведено изучение особенностей динамики гуморального иммунитета у вакцинированных пациентов против КЭ с диагнозами ОКЭ и ХКЭ и разработаны критерии специфической лабораторной диагностики КЭ у вакцинированных. В этой работе использовались данные из журналов учета инфекционных заболеваний (форма 060/у), сертификаты профилактических прививок, выписки из историй болезни пациентов (эпидемиологический и клинический анамнезы, клинический диагноз, результаты лабораторного исследования сывороток крови, СМЖ на наличие IgM и IgG к вирусу КЭ, боррелиям, вирусу Западного Нила (ВЗН), результаты инструментальных исследований (ЭМГ, МРТ, КТ, ЭНМГ, ЭЭГ). Материалом для исследования служили сыворотки крови, взятые от 39 вакцинированных пациентов. В число исследуемых больных с диагнозом ХКЭ входило 14 пациентов, из которых 5

были вакцинированы (Таблица 19) [300]. Нейтрализующая активность сывороток в отношении штаммов вируса КЭ сибирского и дальневосточного подтипов оценивалась с помощью реакции нейтрализации (РН) в культуре клеток СПЭВ и на лабораторных животных [300].

Таблица 19 – Материалы для исследования гуморальной динамики антител к вирусу КЭ у вакцинированных и невакцинированных пациентов [300]

Материалы исследования	Количество наблюдений	Методы исследования
Образцы сывороток крови вакцинированных пациентов с ОКЭ	39	ИФА: определение специфических IgM и IgG проводилось с помощью наборов реагентов «ВектоВКЭ-IgG», «ВектоВКЭ-IgM», «ВектоВКЭ-антиген», производства ЗАО Вектор-Бест.
Образцы сывороток крови невакцинированных пациентов с ХКЭ	9	РТГА: определение титров антигемагглютининов в сыворотках привитых проводили согласно инструкции по применению набора реагентов «Диагностикум клещевого энцефалита сухой для РТГА, РСК, РРГ», производства ФГУП «НПО» Микроген» [273].
Образцы сывороток крови вакцинированных пациентов с ХКЭ	5	ПЦР в режиме реального времени: определение вирусной РНК проводилось с помощью наборов реагентов производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора и ЗАО Вектор-Бест согласно инструкции производителя. РН: в работе использованы штаммы Айна и Курган 269 сибирского подтипа вируса КЭ, штамм Софьин, относящийся к дальневосточному подтипу вируса КЭ. РН проводили в культуре клеток СПЭВ и на лабораторных животных.

Парные сыворотки крови забирали с интервалом 10-18 дней, третью пробу получали через 1-3 месяца. В отдельных случаях при хроническом течении заболевания сыворотки крови забирали периодически в течение 1-6 лет [300].

Кровь брали в строгом соответствии с этическими стандартами Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» [300].

Исследования для данного раздела диссертации, проводились при совместном сотрудничестве со специалистами лечебно-профилактического учреждения ГАУЗ Кемеровская областная клиническая больница (г. Кемерово), а также сотрудниками ФГБОУ ВО Кемеровский государственный медицинский университет Минздрава РФ проф., д.м.н., А. В. Субботиным и проф., д.м.н. В. А. Семеновым.

Для проведения исследований использовался метод ИФА по показателю специфических IgG, IgM, антигена вируса КЭ с применением наборов реагентов ИФА производства ЗАО «Вектор-Бест». Сыворотки с титром антител 1:100 и выше считали положительными.

Сыворотки крови вакцинированных пациентов исследовали в РН с использованием штаммов сибирского и дальневосточного подтипов вируса КЭ. РН проводили в культуре клеток СПЭВ по тканевому цитопатогенному действию (ТЦД₅₀) и на лабораторных животных (белых мышах) определяя IgИН по летальной дозе (ЛД₅₀). РН с использованием лабораторных животных

проводили с разрешения Этического комитета Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАН (Заключение этического комитета №25 от 7 сентября 2016 г.) [300].

Седьмой этап, посвященный изучению этиологической роли и патогенности доминирующего на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ с оценкой нейровирулентных и нейроинвазивных свойств современных штаммов, а также характеристике заболеваемости и некоторым механизмам развития патологического процесса, включал иммуногистохимическое исследование аутопсийного материала из различных отделов головного и спинного мозга при летальных исходах с целью выявления изменений в ЦНС, вызванных данным подтипом возбудителя. Иммуногистохимическое исследование выполнено у 8 умерших больных д.м.н. В. Я. Кармышевой.

Изучение нейровирулентных и нейроинвазивных свойств современных штаммов вируса КЭ проводилось на нелинейных белых мышах весом 6-8 г. и сирийских хомяках весом 50-60 г. Все штаммы вируса КЭ поддерживали пассажами на белых мышах массой 6-8 г., которых заражали в мозг по 0,03 мл и вскрывали при развитии клинической картины. Головной мозг заболевших мышей хранили при -80°C . В ходе работы было изучено 11 современных штаммов вируса КЭ.

Изучение механизмов развития патологического процесса, вызванного сибирским подтипом вируса КЭ у вакцинированных пациентов проведено на материале от 8 пациентов (летальный исход – 2 случая, ОКЭ – 2 случая, ХКЭ – 4 случая).

Заключительный *восьмой этап* исследования состоял в разработке алгоритма дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами на основе результатов, полученных в ходе выполнения диссертационного исследования.

2.2. Методы исследования

Проведенное исследование носило комплексный характер и охватывало период с 2008 по 2021 гг. Для достижения поставленной цели и решения задач исследования использованы описательно-оценочные и аналитические эпидемиологические, картографические, клинические, лабораторные (ОАК, ОАМ, биохимические, вирусологические, бактериологические, включая определение МИК, серологические, молекулярно-биологические, иммуногистохимические), инструментальные, а также статистические и математические методы исследования.

Эпидемиологические методы

В работе использованы описательно-оценочные (статистическое наблюдение, основанное на изучении отчетно-учетной документации), аналитические методы эпидемиологического анализа, оперативный и ретроспективный эпидемиологический анализ, проспективное эпидемиологическое наблюдение, рассчитывались интенсивные и экстенсивные показатели.

Для анализа эпидемического процесса применялся ретроспективный эпидемиологический анализ обращаемости населения по поводу присасывания клещей в медицинские организации, проведенный за 9-летний период (2013-2021 гг.), заболеваемости и распространенности КЭ и БЛ – за 17-летний период (2005-2021 гг.), МЭЧ и ГАЧ – за 9-летний период (2013-2021 гг.). С использованием приведенных в Таблице 17 материалов проанализирована многолетняя динамика обращаемости населения по поводу присасывания клещей, заболеваемости КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ среди совокупного населения РФ в целом и по субъектам, детей в возрасте до 17 лет включительно, а также летальность при КЭ.

На основе ретроспективного эпидемиологического анализа на примере Свердловской области более детально изучены проявления эпидемического процесса (динамика, территориальное распределение, структура заболеваемости) КЭ и БЛ за 17-летний период (2005-2021 гг.). Для ретроспективного анализа эпидемиологической ситуации по КЭ и БЛ использованы архивные данные Управления Роспотребнадзора по Свердловской области по заболеваемости этими инфекциями среди совокупного населения и в отдельных возрастных группах, с определением основных механизмов и путей передачи. Анализ современных эпидемиологических особенностей КЭ и БЛ в Свердловской области включал также изучение многолетней динамики заболеваемости различными клиническими формами заболеваний КЭ и БЛ. Углубленный анализ особенностей заболеваемости КЭ и БЛ проводился по данным расширенных экстренных извещений на каждый случай заболевания. Проведен сравнительный анализ заболеваемости КЭ и БЛ на территории Свердловской области за изученный период.

На данной территории проведено проспективное и ретроспективное эпидемиологическое наблюдение за пациентами, проходящими стационарное или амбулаторное лечение на базе ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга, по поводу каких-либо клещевых инфекций. В ходе данного наблюдения были изучены уровни заболеваемости, возрастная, профессиональная структура, территориальная приуроченность, обстоятельства заражения заболевших клещевыми инфекциями (КЭ, БЛ эритемная и безэритемная формы, боррелиоз, вызываемый *B. miyamotoi*, МЭЧ, ГАЧ и ВЛПЧ) в Свердловской области. У пациентов, обратившихся за медицинской помощью в ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга, собирали и подвергали анализу

эпидемиологический анамнез. Уточнялись сроки (длительность) присасывания клеща, сроки обращения в больницу от момента присасывания клеща, проведение лабораторного исследования клеща на возбудители каких-либо клещевых инфекций (вирус КЭ, боррелии, анаплазмы, эрлихии методом ПЦР, либо методом ИФА на антиген вируса КЭ), местность и обстоятельства, при которых произошло присасывание клеща (клещей), пол, возраст, прививочный анамнез (вакцинация и ревакцинация против КЭ), экстренная специфическая профилактика (введение иммуноглобулина человека против КЭ, антибиотикопрофилактика).

Вирусологические методы исследования

Тканевые культуры и их заражение. В работе использовали перевиваемую культуру клеток почек эмбриона свиньи – СПЭВ. Для субкультивирования брали 2-х дневную культуру, выращенную в питательной среде 199. Перед заражением сформировавшийся монослой клеток промывали средой 199 на растворе Эрла. На клеточный монослой наносили 0,1-0,3 мл вирусосодержащего материала (инокулята). После адсорбции при 37⁰С в течение 1 часа культуру отмывали и заливали той же средой с 3% нормальной бычьей или телячьей сыворотки. Размноженный вирус собирали при полной или частичной дегенерации клеток, а при отсутствии цитопатического действия (ЦПД) – на 3-4-е сутки после заражения. Параллельно ставили контроль на неспецифическую дегенерацию клеток [47].

Титрование вируса. Определение титров вируса КЭ проводили по реакциям, учитываемым в альтернативной форме (летальные дозы – ЛД – на основе гибели или выживания зараженных белых мышей, сирийских хомяков, тканевые цитопатогенные дозы – ТЦД – по наличию или отсутствию цитопатического эффекта и т.д.). Во всех опытах интервалы между разведениями вируса были постоянны – 10-кратные; количество тест-объектов (животных или пробирочных культур) на каждую дозу было от 3 до 4; количество исследуемых разведений вируса 5 или больше и обычно включало 2 разведения выше и ниже 50% ЛД [120].

Для расчета титра по 50% ЛД использовали общеизвестный метод полных кумулятивов Рида и Менча [830], который наиболее часто применяется в вирусологических исследованиях.

При титровании вирусов на мышах все разведения делали на среде 199 с 3% нормальной бычьей сыворотки. Для титрования в тканевых культурах разведения готовили на поддерживающей питательной среде (среда 199 на растворе Эрла) [120].

Учет цитопатогенного действия. Проводили в пробирочных культурах в динамике путем ежедневной микроскопии. Интенсивность цитопатических изменений оценивали по условной 4-крестовой системе: ++++ - тотальная или почти тотальная дегенерация клеток под влиянием

размножения вируса; +++ - дегенерация около $\frac{3}{4}$ всех клеток в монослое; ++ - дегенерация около $\frac{1}{2}$ клеток культуры; + - изменения в $\frac{1}{4}$ всех клеток культуры [120].

Если количество измененных клеток было меньше $\frac{1}{4}$, цитопатический эффект оценивали как сомнительный (\pm). В опытах титрования вируса по ТЦД учитывали интенсивность не менее ++ [120].

Критерии оценки нейровирулентности штаммов вируса КЭ на лабораторных животных. В наших исследованиях было использовано 2 вида животных: нелинейные белые мыши и сирийские хомяки. Все животные поступали из питомника РАМН, Столбовая, где они проходили соответствующий ветеринарный надзор.

Основные опыты проведены на белых мышах массой 6-8 г. Животных заражали в мозг по 0,03 мл и под кожу по 0,25 мл инокулята. Наблюдение за животными, зараженными интрацеребрально, проводили в течение 14 дней, зараженными экстраневрально – 21 день. Нейровирулентность изолятов (штаммов) вируса КЭ для белых мышей оценивали путем интрацеребрального титрования вирусосодержащей суспензии разведений 10^{-3} – 10^{-9} , для некоторых штаммов 10^{-3} – 10^{-10} . Титр вируса выражали в lg ЛД₅₀/мл [120].

Инвазивные свойства вируса оценивали по относительному показателю, так называемому индексу инвазивности (ИИ), представляющему разницу титров вируса при интрацеребральном и подкожном заражениях мышей, выраженную в lg ЛД₅₀/мл [120].

Значение ИИ в пределах 1-2,5 свидетельствовало о высоких инвазивных свойствах штамма, способности преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), достигать ЦНС и размножаться в ней. Значение ИИ более 3 указывало на сниженную инвазивную активность штамма [120].

Изучение нейровирулентности на 2-3 недельных сирийских хомяках проводили путем введения животным в мозг по 0,05 мл инокулята. Заражение сирийских хомяков массивной дозой вируса (10^5 – 10^6 ЛД₅₀/мл) позволяло дифференцировать штаммы на высоко-, умеренно- и слабовирулентные для данного вида животных. Критериями служили процент гибели животных и средняя продолжительность жизни (СПЖ). Каждым штаммом обычно заражали 10 сирийских хомяков [120].

Согласно В. В. Погодиной В. В. с соавт. высоковирулентная группа включает две категории штаммов: одни из них вызывают у 100% хомяков тетра- и параплегии, паралич мускулатуры шеи, век, быстрый летальный исход, СПЖ - 5-10 дней; другие высоковирулентные штаммы вызывают у 67-100% животных парезы и параличи конечностей, хомяки, имеющие двигательные нарушения, живут 12-60 дней. Умеренновирулентные штаммы вызывают у 29-58% животных пара- и монопарезы, СПЖ в большинстве случаев составляет 86-210 дней. Слабовирулентные штаммы патогенны для 5-16% хомяков, СПЖ от 100 до 237 дней [120; 232].

Наблюдения показали, что дифференциация штаммов удается при более коротких сроках наблюдения зараженных хомяков – 30-45 дней. Высоковирулентные штаммы имеют СПЖ в пределах 10 дней, умеренно вирулентные штаммы – до 25-30 дней, слабовирулентные – свыше 30 дней [120].

Молекулярно-биологические методы исследования

Молекулярно-генетические исследования материала проводились на базе лаборатории эпидемиологии природно-очаговых инфекций ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора и лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита). Разработка и оптимизация ПЦР-методик в режиме реального времени проводились на базе лаборатории эпидемиологии природно-очаговых инфекций ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора (основной разработчик – руководитель научной группы разработки новых методов диагностики природно-очаговых инфекций Л. С. Карань). Проспективное исследование материала в периоды экспедиционной работы проводилось лично автором – в 2009 г. на базе отделения особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», в остальные годы (2010-2011, 2013, 2015-2018, 2021 гг.) на базе лаборатории молекулярно-биологических методов исследования ГАУЗ Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург».

Подготовка суспензий клещей для метода ПЦР.

Исследуемых клещей по одному помещали в пробирки типа «Эппендорф», добавляли 0,5 мл 96% этанола и встряхивали на вортексе. Пробирку центрифугировали в течение 3-5 секунд при 5 тыс. об/мин на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки пробирки, после чего жидкость аккуратно удаляли с помощью вакуумного отсасывателя. Затем в эту же пробирку с клещами добавляли 0,5 мл 0,9% раствора хлорида натрия (стерильный физиологический раствор) или фосфатно-боратный буфер (PBS), встряхивали на вортексе, центрифугировали в течение 5 секунд при 5 тыс. об/мин на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки пробирки, после чего жидкость аккуратно удаляли с помощью вакуумного отсасывателя. Если выделение РНК производилось из большого числа проб, то предварительно обработанных, как описано выше, клещей хранили при температуре от 2 до 8 °С не более 1 часа до гомогенизации. Для приготовления суспензий клещей использовали стерильную фарфоровую чашку и стерильный пестик, либо автоматический гомогенизатор

(TissueLyser LT, Qiagen). Единичного клеща растирали в 300 мкл 0,9% раствора хлорида натрия или PBS, затем полученную суспензию центрифугировали 2 мин при 5 тыс. об/мин и отбирали 100 мкл надосадочной жидкости для выделения РНК. В оставшиеся 200 мкл вносили 20 мкл глицерина, перемешивали и замораживали пробу при - 40-80 °С для возможного последующего исследования. РНК/ДНК возбудителей каких-либо клещевых инфекций экстрагировали из 100 мкл суспензии.

Подготовка крови для метода ПЦР.

Для повышения чувствительности метода исследовали лейкоцитарный осадок крови. Для его получения взятие крови осуществляли в пробирку (специальную вакуумную систему) с раствором ЭДТА или цитрата натрия в качестве антикоагулянта. Кровь хранилась до получения лейкоцитарного осадка при температуре от 20 до 25⁰С – в течение 2 часов; при температуре от 2 до 8⁰С – в течение 12 часов. Подготовка образцов производилась не позднее указанного времени. Для получения лейкоцитарного осадка крови проводилась предварительная подготовка образцов крови. 1,5 мл крови с раствором ЭДТА, используя наконечник с фильтром, переносилось в стерильную одноразовую пробирку объемом 2,0 мл. Затем проводили центрифугирование в течение 10 минут при 40 g (800 об/мин для микроцентрифуги MiniSpin, Eppendorf Manufacturing Corporation). Не захватывая осадок эритроцитов, переносили 500-600 мкл супернатанта (плазмы с лейкоцитами) отдельным наконечником с фильтром в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл и центрифугировали 10 мин при 10 тыс g (12 тыс об/мин для микроцентрифуги MiniSpin, Eppendorf Manufacturing Corporation). Экстракцию ДНК проводили из осадка клеток и 100 мкл супернатанта (плазмы).

Подготовка СМЖ для метода ПЦР.

1,5 мл СМЖ центрифугировали при 10 тыс g (12 тыс об/мин для микроцентрифуги MiniSpin, Eppendorf Manufacturing Corporation) в течение 10 мин, затем отбирали надосадочную жидкость в контейнер для утилизации отходов. В экстракцию брали осадок клеток, находящийся в 100 мкл надосадочной жидкости.

Подготовка 10% мозговых суспензий для метода ПЦР.

Для экстракции РНК/ДНК возбудителей брали 30-50 мг (мкл) материала и гомогенизировали его растиранием с использованием стерильных фарфоровых ступок и пестиков или с помощью автоматического гомогенизатора (TissueLyser LT, Qiagen). Из растертой ткани готовили 10 % суспензию на 0,9 % растворе натрия хлорида или PBS. 100 мкл полученной суспензии использовали для экстракции РНК/ДНК.

Для выделения РНК/ДНК возбудителей КЭ, БЛ, БМ, МЭЧ, ГАЧ и некоторых других (возбудители Ку-лихорадки, клещевого риккетсиоза, вирусы Алонгшан, Кемерово, Хасеки), а

также проведения обратной транскрипции и ПЦР были использованы соответствующие наборы реагентов и ПЦР тест-системы, разработанные в научных целях. При разработке методик, основанных на ПЦР-РРВ для выявления вышеперечисленных микроорганизмов использованы молекулярно-биологические методы, включающие различные способы выделения РНК/ДНК возбудителей, проведения ПЦР и секвенирования. Антигенная характеристика *B. miyamotoi* проводилась при помощи ПЦР-РРВ (основной разработчик – д.м.н., заведующий лабораторией молекулярных методов изучения генетических полиморфизмов К.О. Миронов). Все наборы реагентов и отдельные реактивы для молекулярно-биологических исследований, включающих выделение РНК/ДНК возбудителей, постановку обратной транскрипции и ПЦР, детекцию результатов амплификации и очистку продуктов амплификации для секвенирования, были произведены в ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора (Москва).

Выделение РНК/ДНК микроорганизмов из суспензий клещей и клинического материала (плазма – лейкоцитарная фракция крови, сыворотка крови, СМЖ, аутопсийный материал) проводилось с использованием наборов реагентов «Рибо-преп» (из 100 мкл биоматериала) или «Магно-сорб» (из 1000 мкл биоматериала), согласно инструкции производителя (АмплиСенс, Москва). Для проведения полногеномного секвенирования штаммов *B. miyamotoi* выделение ДНК возбудителя проводилось с помощью наборов реагентов фирмы Qiagen (DNA kit, Qiagen Tip-100 prep). Реакцию обратной транскрипции проводили, используя набор «Реверта-L» (АмплиСенс, Москва). Амплификацию и детекцию ПЦР-продуктов проводили на приборах Rotor-Gene 6000/Q («Corbett Research», Австралия, «Qiagen», Германия). Мишенью для амплификации при обнаружении вируса КЭ являлся ген *C*, для *B. burgdorferi* s.l., *E. muris* и *E. chaffeensis* – 16S рРНК, для *B. miyamotoi* – ген *glpQ*, для *A. phagocytophilum* – ген *msp2*.

Исследование образцов крови и СМЖ проводилось в первые сутки поступления пациента в стационар или на амбулаторное лечение. Для выявления оптимальных сроков взятия крови от пациентов с новым боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi* кровь забиралась до 6 суток. Взятие крови и ее исследование (исследовалась лейкоцитарная фракция крови) осуществлялись каждый день до получения отрицательного результата. СМЖ исследовалась по показаниям однократно.

Оценка вирусной нагрузки (для вируса КЭ) и бактериальной нагрузки (для *B. miyamotoi*) проводилась с помощью калибраторов с известной концентрацией, выражающаяся в ГЭ/мл.

Постановка ПЦР.

Для подтверждения присутствия РНК/ДНК возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами в биологическом материале, использовали наборы реагентов, основанные на ПЦР-РРВ «АмплиСенс® TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*».

FL» и «АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL» (производитель – ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). Дополнительно в 2021 г. биологический материал от пациентов исследовался с помощью зарегистрированных наборов реагентов на риккетсии группы клещевых пятнистых лихорадок («АмплиСенс® *Rickettsia* spp.-FL»), возбудителя Ку-лихорадки («АмплиСенс® *Coxiella burnetii*-FL») и тест-систем на основе ПЦР-РПВ, разработанных в научных целях на вирус Кемерово, Алонгшан и Хасеки. Все исследования проводились согласно инструкциям прилагаемым к зарегистрированным наборам реагентов.

Для антигенной характеристики *B. miyamotoi* (для идентификации поверхностных антигенов – *Vmp*) в ПЦР реакционная смесь объемом 25 мкл содержала праймеры, зонды и dNTP (0,44 мМ) – 10 мкл; реактивы «Полимераза (TaqF)» – 0,5 мкл и «ОТ-ПЦР-смесь-2-FEP/FRT» – 4,5 мкл; выделенную ДНК – 10 мкл. ПЦР-РПВ проводилась в формате «мультипрайм» на приборе «RotorGeneQ» («Qiagen») по следующей программе: 95⁰С – 15 мин (1 цикл); 95⁰С – 5 сек/60⁰С – 20 сек/72⁰С – 10 сек (45 циклов с детекцией флуоресцентного сигнала на стадии 60⁰С каналам детекции Green, Yellow, Orange, Cy5). При анализе результатов амплификации пороговая линия проводилась на уровне 10% от максимального значения флуоресцентного сигнала для каждого из 4 каналов детекции [246].

Для выявления РНК вируса Кемерово и Хасеки (Vole tick virus 4) методом ПЦР-РПВ реакционная смесь объемом 25 мкл содержала праймеры, зонды и dNTP (0,44 мМ) – 10 мкл; реактивы «ОТ-ПЦР-смесь-2-FEP/FRT» – 5 мкл, «Полимераза (TaqF)» – 0,5 мкл, «RT-G-mix-2» – 0,25 мкл, «ТМ-ревертаза (MMIV)» – 0,25 мкл; выделенную РНК – 10 мкл. ОТ-ПЦР-РПВ для вируса Кемерово и Хасеки проводилась на приборе «Rotor-Gene Q» («Qiagen») на разных ПЦР-смесях по одинаковой следующей программе: 50⁰С – 30 мин (1 цикл); 95⁰С – 15 мин (1 цикл); 95⁰С – 10 сек/55⁰С – 30 сек (45 циклов). Детекция для вируса Кемерово проводилась по каналу детекции Yellow, для вируса Хасеки – по каналу Orange флуоресцентного сигнала на стадии 55⁰С. При анализе результатов амплификации пороговая линия для канала детекции проводилась на уровне 10% от максимального значения флуоресцентного сигнала.

Для выявления РНК вируса Алонгшан (Jingmenvirus) вначале проводили обратную транскрипцию для получения кДНК, затем ставили nested-ПЦР (две стадии). ПЦР реакционная смесь для первой стадии объемом 30 мкл содержала праймеры и dNTP (0,44 мМ) – 5 мкл; реактивы «ПЦР-буфер-Н» (содержащий полимеразу TaqF) – 5 мкл, «dd H₂O» – 10 мкл; проба – 10 мкл (кДНК – 5 мкл и ДНК-буфер – 5 мкл). ПЦР реакционная смесь для второй стадии объемом 25 мкл содержала праймеры и dNTP (0,44 мМ) – 5 мкл; реактивы «ПЦР-буфер-Н» (содержащий полимеразу TaqF) – 5 мкл, «dd H₂O» – 13 мкл; проба, полученная после первой стадии – 2 мкл. Первая и вторая стадий проводились на амплификаторе Applied Biosystems by TermoFisher

ProFlex. Программа амплификации первой стадии: 95°C – 15 мин (1 цикл); 95°C – 10 сек/55°C – 15 сек/72°C – 15 сек (2 цикла); 95°C – 10 сек/50°C – 15 сек/72°C – 15 сек (33 цикла). Программа амплификации второй стадии: 95°C – 15 мин (1 цикл); 95°C – 10 сек/61°C – 15 сек/72°C – 15 сек (40 циклов). Полученные ампликоны регистрировали методом электрофореза в агарозном геле.

Для проведения секвенирования, т. е. для определения молекулярно-генетической характеристики подтипа вируса КЭ, геновида боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., *B. miyamotoi* в работе использовались разработанные нами молекулярно-биологические методики, основанные на ПЦР с электрофоретической детекцией продукта в агарозном геле.

Постановка ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с генотипспецифическими зондами. Для генотипирования изолятов РНК и штаммов вируса КЭ дополнительно использовали ПЦР в режиме реального времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с генотипспецифическими зондами, где мишенью для праймеров и зондов является участок NS1 гена. Данная методика подробно описана нами ранее [93; 94; 120].

Подготовка образцов кДНК/ДНК для секвенирования. Для методик, основанных на секвенировании, использовались реагенты «ТЕ-буфер» (для приготовления разведений ДНК); «ПЦР-смесь-2 blue», «ПЦР-смесь-2 red» (смеси, содержащие Taq-полимеразу); «Воск для ПЦР» и «Минеральное масло для ПЦР». ПЦР проводилась в объеме 25 мкл по следующей схеме: в пробирку добавлялась смесь, содержащая праймеры и нуклеотидтрифосфаты (0,44 мМ) – 5 мкл, «Воск для ПЦР» – 10 мкл, «ПЦР-смесь-2 blue» или «ПЦР-смесь-2 red» – 10 мкл, «Минеральное масло для ПЦР» – 10 мкл и образец выделенной ДНК (кДНК разведенная в 2 раза на ДНК-буфере) – 10 мкл. Либо по схеме: в пробирку добавлялась смесь, содержащая праймеры и нуклеотидтрифосфаты (0,44 мМ) – 5 мкл, «ПЦР-смесь-2 blue» с Taq-F-полимеразой – 10 мкл (9,5 мкл ПЦР-смесь-2 blue и 0,5 мкл Taq-F-полимеразы), «Минеральное масло для ПЦР» – 10 мкл и образец выделенной ДНК (кДНК разведенная в 2 раза на ДНК-буфере) – 10 мкл. Концентрации праймеров в реакционных смесях составляли 0,3-0,4 мкМ.

Для постановки ПЦР использовались амплификаторы «Герцик» и ДТ-96 («ДНК-технология», Россия).

Для секвенирования E-гена вируса КЭ (проведения генотипирования) в работе были использованы праймеры TBE1s 5'-GGCGTTGACTTGGCCCAGACYGTCA-3'; TBE2s 5'-GGCGTTGACSTTGCTCAGACYGTCA-3'; TBEbas 5'-СТТGGTTCCСТСААТGTGYGCCACAGGAA-3' для амплификации и секвенирования участка E гена длиной 211 н.о. Программа амплификации: 95°C – 5 мин (1 цикл); 95°C – 10 сек/65°C – 10 сек/72°C – 10 сек (42 цикла) и праймеры TBEE1s 5'-TCACGGGTGCACACATCTGGAAAA-3'; TBEE2as 5'-CATCAGCTCCCACTCCGATGTCAT-3' для амплификации и совместно с

праймерами TBE1s, TBE2s, TBEbas секвенирования полноразмерной копии E гена. Программа амплификации: 95⁰C – 5 мин (1 цикл); 95⁰C – 10 сек/65⁰C – 15 сек/72⁰C – 15 сек (42 цикла).

С целью генотипирования и оценки специфичности *B. miyamotoi* и боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. были секвенированы по фрагменту гена флагеллина и/или фрагментов гена 16S рРНК и/или межгенного спейсера 5S-23S рРНК. Прямое секвенирование гена флагеллина *B. miyamotoi* проводили с использованием вырожденных праймеров FLA120F 5'-AGAATTAATMGHGCWTCTGATGATG-3' и FLA290R 5'-TGCYACAAУНТСАТСТGTCАТТ-3'. Программа амплификации: 95⁰C – 5 мин (1 цикл); 95⁰C – 10 сек/58⁰C – 10 сек, 72⁰C – 10 сек (42 цикла). Фрагмент гена 16S рРНК амплифицировали и секвенировали с использованием праймеров Brsp1 5'-GGGGTAAGAGCCTACCAAGGCTATGATAA-3' и Brsp2 5'-CCTTACACCAGGAATTСТААСТТССУСТАТ-3' (программа амплификации: 95⁰C – 5 мин (1 цикл); 95⁰C – 10 сек/67⁰C – 25 сек/72⁰C – 10 сек (42 цикла). Межгенный спейсер боррелий 5S-23S рРНК амплифицировали и секвенировали с помощью nested-ПЦР с парами внешних праймеров IGSa 5'-CGACСТТСТТCGCСТТААAGC-3' и IGSb 5'-AGCTСТТАТТCGCTGATGGTA-3' и внутренних праймеров IGSe 5'-CCTTAAAGCTCCTAGGCАТТCACCA-3' и IGSd 5'-CGCGGGAGAGTARGTTАТТGCGA-3' (программа амплификации IGSa/ IGSb: 95⁰C – 5 мин (1 цикл); 95⁰C – 10 сек/58⁰C – 10 сек/72⁰C – 10 сек (30 циклов); программа амплификации IGSe/ IGSd: 95⁰C – 5 мин (1 цикл); 95⁰C – 10 сек/60⁰C – 10 сек/72⁰C – 10 сек (25 циклов) [644].

Секвенирование продуктов ПЦР проводили с использованием генетических анализаторов «3500xL», «3130» и соответствующих реагентов фирмы «Applied Biosystems» (США) согласно инструкции изготовителя.

Полногеномное секвенирование изолятов (штаммов) *B. miyamotoi* проводилось на платформе MiSeq и MinION. Для повышения надежности сборки отдельных плазмид мы разделили ДНК методом гель-электрофореза в импульсном поле; от 8 до 11 внехромосомных фрагментов на изолят – от 5 до 73 kb были вырезаны из гелей и растворены в буфере для растворения агарозы (Zymoresearch). Библиотеки ДНК были подготовлены с использованием набора NexteraXT DNA library kit (Illumina) с отдельным штрих-кодом для каждого фрагмента [980].

Программное обеспечение и Интернет-ресурсы. Нуклеотидные последовательности выравнивали, сравнивали и анализировали с помощью программ MEGA (версии с 3.1 по 11) (www.megasoftware.net) [899], ClustalX 1.8 (www.clustal.org) или MUSCLE, BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi). Проверка специфичности праймеров проводилась с использованием ресурса Primer-BLAST. На различных этапах работы при редактировании данных секвенирования, объединении нуклеотидных последовательностей в базы данных по

исследуемым фрагментам, проведения выравниваний нуклеотидных последовательностей и оценки генетического родства микроорганизмов использованы возможности соответствующих приложений программного пакета «VectorNTI» (использовались версии с 6 по 9).

Анализ уровня генетического родства и построение филогенетических деревьев проводили методом neighbor-joining (объединения ближайших соседей); попарные расстояния между нуклеотидными последовательностями вычислялись по двухпараметрической модели Kimura-2-parameter с числом бутстреппинга 1000, или методом UPGMA с применением алгоритма пропорциональных расстояний, модель p-distance.

Иммунологические (серологические) методы исследования

Для выявления IgM и IgG к вирусу КЭ, боррелиям, возбудителям МЭЧ, ГАЧ, риккетсиоза использовали метод ИФА. Образцы сыворотки крови от пациентов, обратившихся за медицинской помощью в ООО МО «Новая больница» исследовались в периоды 2009-2011, 2013, 2015-2018 гг. только на IgM и IgG к вирусу КЭ и боррелиям, в 2021 г. – в том числе на IgM и IgG к возбудителям МЭЧ, ГАЧ, риккетсиоза. Всем больным проводился ИФА для выявления IgM и IgG к вирусу КЭ и боррелиям комплекса *B. burgdorferi* s.l. с помощью тест-системы Euroimmun AG (Германия). В 2021 г. дополнительно сыворотки крови были исследованы на IgM и IgG к вирусу КЭ и боррелиям с помощью наборов реагентов «ВектоВКЭ-IgM», «ВектоВКЭ-IgG», «ЛаймБест-IgM» и «ЛаймБест-IgG» («Вектор-Бест», Россия). Для выявления IgM и IgG к возбудителям МЭЧ и ГАЧ использовали наборы реагентов «МЭЧ-ИФА-IgM», «МЭЧ-ИФА-IgG», «ГАЧ-ИФА-IgM», «ГАЧ-ИФА-IgG» (производства «Омникс», Санкт-Петербург), для выявления IgM и IgG к возбудителю клещевого риккетсиоза (*Rickettsia conorii*) – «*Rickettsia conorii* ELISA IgG/IgM» (Vircell, Испания). Все серологические исследования проводились согласно прилагаемым инструкциям к наборам реагентам.

Кроме того, в работе использованы данные о серологическом исследовании больных методом планарного белкового биочипа, разработанного в ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. В основе метода лежит раздельное определение группоспецифических IgM и IgG к спектру антигенов боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. (p100, VlsE, p39, p41, p58, BBK32, OspC, p17; OspC – специфический маркер боррелий группы *B. burgdorferi* s.l.) и к антигенам *B. miyamotoi* (glpQ – антигену, который присутствует у боррелий группы возвратных лихорадок, Vmp (variable major proteins) – главным поверхностным белкам, которые вызывают продукцию антител и используются как диагностические маркеры боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*). Серологически БМ подтверждали обнаружением IgM и IgG к антигену glpQ, в комплексе с

выявлением антител к одному из следующих антигенов: Vmp или p41 (антиген боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. – *B. afzelii*, *B. garinii*), p39, ВВК32 (антигены как *B. miyamotoi*, так и боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. – *B. afzelii*, *B. garinii*). Взятие сыворотки крови проводилось в первые дни болезни при поступлении больных в стационар, далее в динамике на 10-14 день лечения, у ряда реконвалесцентов и в последующие 2-3 и более месяцев после начала болезни. Для всех белков антигенов были получены генноинженерные конструкции, кодирующие антигенную область, фрагмент белка или полную последовательность белка. Белки были экспрессированы в *Escherichia coli* и очищены методами аффинной и ионообменной хроматографии. Биочипы изготавливали на слайдах с альдегидным покрытием 2D-Aldehyde Glass Slides (PlyAn, Германия) с помощью плоттера для бесконтактной пьезопечати S3 (Sciencion AG, Германия). Учет результатов анализа проводили с помощью многоканального флуоресцентного сканера MarS (Ditabis, Германия), а обсчет и интерпретацию результатов – с использованием специально разработанного программного обеспечения «StarSky» [245; 363].

Методика постановки реакции торможения гемагглютинации (РТГА). РТГА с суспензией гусиных эритроцитов для определения титров антигемагглютининов в сыворотках привитых проводили согласно инструкции по применению набора реагентов «Диагностикум клещевого энцефалита сухой для РТГА, РСК, РРГ», производства ФГУП «НПО» Микроген» [273]. Диагностикум использовали в рабочем разведении, содержащем 8 гемагглютинирующих единиц (ГАЕ). За титр антител в исследуемом и контрольном образцах сывороток принимали их максимальное двукратное разведение, дающее полную задержку гемагглютинации с 8 ГАЕ диагностикума. Для РТГА использовали также экспериментально приготовленные антигены из ткани мозга зараженных белых мышей, с использованием боратно-солевой экстракции, очисткой протаминсульфатом, инактивацией бетапропиолактоном [273].

Реакцию учитывали, если:

- наблюдалось полное оседание (-) в контролях эритроцитов на спонтанную агглютинацию контроля исследуемых сывороток и контрольных образцов на полноту удаления неспецифических гемагглютининов.

- наблюдалась гемагглютинация не менее, чем на +++ в контроле рабочего разведения диагностикума в трех последовательных разведениях, а также в контролях исследуемых сывороток и контрольных образцов на полноту удаления ингибиторов гемагглютинации.

За титр исследуемого и контрольного образца, принимали их максимальное разведение, дающее полную (-) задержку гемагглютинации с 8 ГАЕ диагностикума.

Методика постановки реакции нейтрализации (РН).

Реакцию нейтрализации ставили путем титрования вируса в смеси с нормальной и исследуемой сыворотками. Испытуемые и контрольные сыворотки в одном разведении (1:10) соединяли в соотношении 1:1 с десятикратными разведениями вируса. Обязательно включали в опыты контролей: титрование сыворотки в смеси с нормальной неиммунной сывороткой того же происхождения, что и иммунная, контроль специфической нейтрализации вируса гомологичной иммунной сывороткой.

Для постановки РН использовали образцы сывороток крови вакцинированных и невакцинированных больных.

Для определения нейтрализующей активности сывороток штаммы вируса КЭ титровали в культуре клеток СПЭВ и на мышах в смеси с нормальной и испытуемой сыворотками, определяя индекс нейтрализации (IgИН). В РН использовали 3 штамма вируса КЭ: штаммы Айна и Курган 269 сибирского подтипа, штамм Софьин, относящийся к дальневосточному подтипу вируса КЭ. РН проводили методом, позволяющим определять способность сыворотки нейтрализовать различные дозы вируса КЭ – от 10^2 до 10^5 и выше, что определяли по IgИН при титровании вируса в смеси с контрольной неиммунной и испытуемой сыворотками, разведенными 1:8. Титрование вируса КЭ проводили путем заражения в мозг белых мышей массой 6-8 г. или в культуре клеток СПЭВ по цитопатогенному действию, определяя IgИН по летальной дозе (ЛД₅₀) и тканевому цитопатогенному действию (ТЦД₅₀). РН с использованием животных проводили с разрешения Этического комитета ФГАНУ ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита) (Заключение этического комитета №25 от 7 сентября 2016 г.).

В работе использовали перевиваемую 2-дневную клеточную культуру СПЭВ. Культура выращена в питательной среде 199. Монослой клеток перед заражением промывали средой 199 на растворе Эрла. Культура клеток выращивалась в стеклянных пробирках с резиновой пробкой. Вирусосодержащий материал – инокулят, в объеме 0,1-0,2 мл, наносили на монослой клеток. После инкубации при 37°C в термостате в течение 1 часа культуру клеток отмывали и заливали той же средой с добавлением 3% нормальной бычьей или телячьей сыворотки.

Результаты реакции выражали индексами нейтрализации, которые представляют собой разницу между титром вируса в присутствии нормальной сыворотки и титром вируса в присутствии испытуемой.

РН проводили также путем заражения в мозг белых мышей массой – 6-8 гр., в дозе 0,03мл. Учет результатов титра вируса проводили через 3 недели с момента заражения. Титр выражали в ЛД₅₀. Положительным считался IgИН от 1,6 и выше.

Бактериологический метод

*Выделение чистой культуры *V. miyamotoi*.*

В ходе работы в период 2015-2018 гг. была предпринята попытка выделить чистую культуру *V. miyamotoi* из крови пациентов. Нами был разработан протокол культивирования *V. miyamotoi* [185; 513] согласно которому кровь от пациента с подтвержденным методом ПЦР положительным результатом забиралась в тот же день в пробирку с гепарином. Кровь отстаивалась при комнатной температуре в течение 6-8 часов, либо мягко откручивалась при 800 об/мин. В стерильную пробирку типа «Эппендорф» отбиралась плазма в объеме 1000 мкл с последующим откручиванием при 13 тыс. об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре. Надосадочную жидкость удаляли, образовавшийся осадок суспендировали в 500 мкл среды для культивирования МКР-Ф (Голландия). Боррелии культивировались в 7 мл среды при температуре 33⁰С в 9 мл пробирках, что позволяло создать микроаэрофильные условия. Культуры проверяли еженедельно с помощью, разработанной нами качественной и количественной тест-системы на основе ПЦР-РРВ [540]. Подробно методика описана в статьях [185; 513]. Всего было произведено 67 посевов от 67 больных. Исследование проводилось диссертантом на базе отдела особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», а также в лаборатории эпидемиологии природно-очаговых инфекций ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

Микроскопия крови.

В 2011 г. диссертантом на базе клинической лаборатории ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга была произведена окраска мазков крови от 143 больных, подтвержденных методом ПЦР на наличие ДНК *V. miyamotoi*, поступивших в стационар в первые 1-3 дня болезни. От каждого пациента готовилось по 3 мазка из цельной крови и по 3 мазка из лейкоцитарной фракции. Окраска проводилась по методу Романовского-Гимзе. Для микроскопии окрашенных мазков использовалось 1000 кратное увеличение с масляной иммерсией.

*Определение чувствительности *V. miyamotoi* к антибактериальным препаратам* проводили с помощью МИК-теста путем проведения колориметрических измерений и подсчета подвижных спирохет с помощью микроскопии в темном поле после 72 часов инкубации в среде МКР-Ф. Чувствительность клинических изолятов *V. miyamotoi* оценивалась к основным антибактериальным препаратам, которые входят в схемы лечения БЛ – доксициклину, амоксициллину, цефтриаксону и азитромицину [667].

Иммуногистохимический метод исследования

Иммуногистохимическое исследование проводилось на базе лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита). Взятие аутопсийного материала проводилось на базах патологоанатомических отделений больниц Вологодской, Курганской, Челябинской и Кемеровской областей, где умерли пациенты. Взятие, хранение, транспортировка, передача секционного материала (различные отделы головного и спинной мозга) в лабораторию с сопроводительной документацией осуществлялись в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.3.2351-08. Всего был исследован материал от 8 (6 – невакцинированные, 2 – вакцинированные) больных. Из головного и спинного мозга вырезали блоки, которые фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин. Работа была выполнена д.м.н., старшим научным сотрудником лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов – В. Я. Кармышевой. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином по методам Браше и Ниссля. Из готовых парафиновых блоков готовили срезы, которые также окрашивали указанными выше методами. Для выявления антигена вируса КЭ использовали непрямой метод флуоресцирующих антител (МФА), а также авторский метод ретроспективного выявления антигенов на специально выбранных участках окрашенных гистологических препаратов после удаления покровного стекла, бальзама и постепенного обводнения [97]. Просмотр и цифровые фотографии микропрепаратов осуществляли с помощью светового микроскопа «Ломо МБИ-15-2».

Общелабораторные методы исследования

Исследование общего анализа крови и мочи, биохимическое исследование крови, исследование СМЖ проводились в клиничко-диагностической лаборатории ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга (зав.лабораторией – Г. И. Шлыкова).

Статистическая обработка результатов исследований

Материалы исследований были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Обработка и анализ данных выполнялись с использованием прикладных программ Microsoft Office в операционной среде

Windows 13 (электронные таблицы Excel), а также с помощью лицензионной программы IBM SPSS Statistics 19.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась общепринятыми методами вариационной статистики (вычисление доли, средних величин исследуемых показателей (M), стандартное отклонение (σ или S), средней ошибки (m), доверительного интервала). Значимость различий (p) для качественных показателей определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона. В тех случаях, когда в таблице 2×2 , хотя бы одна из сравниваемых частот была менее 10, использовали точный критерий Фишера или U-критерий Манна-Уитни. Для проверки равенства медиан нескольких выборок были использованы тесты Крускал-Уоллеса или ANOVA. Полученное значение $p > 0,05$ свидетельствовало об отсутствии статистически значимых различий, а значение $p < 0,05$ – об их наличии.

В опытах титрования вируса КЭ на мышах и в культуре ткани по цитопатическому действию титры вируса определяли по методу полных кумулятивов Рида и Менча [830].

Математические методы

Для оценки социально-экономического бремени КЭ и БЛ была разработана математическая модель, описывающая возможные затраты, связанные с изучаемым заболеванием, а также количество потерянных вследствие данного заболевания лет жизни с поправкой на нетрудоспособность и снижение качества жизни (DALY). Расчет затрат производился на когорту больных, заболевших в одном календарном году, для РФ в целом и для отдельных субъектов РФ. При расчетах было сделано два допущения: отсутствие экономического роста и неизменность половозрастного состава населения РФ. Рассчитанная величина бремени представлена в ценах 2011 г. [276].

Расчет числа потерянных лет жизни с поправкой на трудоспособность проводился по формуле [758]. Веса нетрудоспособности (коэффициент, отражающий тяжесть заболевания по шкале от 0 до 1, где 0 – идеальное здоровье, а 1 – смерть), использованные при расчете DALY, были получены путем экспертной оценки (на основании анализа имеющихся весов для заболеваний, максимально близких по клинической картине к КЭ и БЛ и их последствиям) [758]. Расшифровка других обозначений показателей и формулы для их вычисления даны в статье [276].

Метод экспертных оценок

Данный метод применялся при для оценки социально-экономического бремени КЭ и БЛ в РФ. Работа была выполнена совместно с д.м.н., профессором кафедры общественного здравоохранения и профилактической медицины Первого ММУ им. И. М. Сеченова – М. В. Авксентьевой и к.м.н., директором автономной некоммерческой организации «Национальный центр при оценке технологий в здравоохранении» – Е. В. Деркач в 2012-2013 гг.

ГЛАВА 3. АНАЛИЗ ПРОЯВЛЕНИЙ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА, БОЛЕЗНИ ЛАЙМА, МОНОЦИТАРНОГО ЭРЛИХИОЗА И ГРАНУЛОЦИТАРНОГО АНАПЛАЗМОЗА ЧЕЛОВЕКА НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Среди многообразия инфекций, передающихся иксодовыми клещами обязательному учету и регистрации в РФ, подлежат 10 нозологий (клещевой вирусный энцефалит, болезнь Лайма или иксодовый клещевой боррелиоз, Крымская геморрагическая лихорадка, Омская геморрагическая лихорадка, туляремия, Астраханская пятнистая лихорадка, сибирский клещевой тиф, лихорадка Ку, моноцитарный эрлихиоз и гранулоцитарный анаплазмоз человека). Среди них наибольший вклад в инфекционную заболеваемость вносят клещевой вирусный энцефалит (КВЭ или КЭ), болезнь Лайма (БЛ) (эритемная и безэритемная формы), риккетсиозы, включая, так называемые, «новые» инфекции – моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ) и гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) – официальная регистрация случаев заболеваний которых ведется с 2013 г. (согласно Приказу Росстата от 20.12.2012 № 645 (ред. от 29.12.2018)). В связи с этим представляло интерес оценить эпидемиологическую ситуацию на основе материалов официальной статистики по четырем нозологиям – КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ, основными переносчиками которых являются клещи рода *Ixodes*.

3.1. Мониторинг обращаемости населения по поводу присасывания клещей на территории Российской Федерации в целом и по субъектам (2013-2021 гг.)

Для оценки эпидемиологической ситуации и потенциальной опасности в отношении инфекций, передающихся иксодовыми клещами, большое значение имеет показатель обращаемости населения за медицинской помощью по поводу присасывания клещей. Очевидно, что данный показатель применим при наличии эффективно действующей системы выявления и регистрации пострадавших лиц [291]. При этом своевременное обращение населения в медицинские организации и оказание ему медицинской помощи может предотвратить заболеваемость инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

Официальная статистика регистрации случаев обращаемости населения по поводу присасывания клещей в РФ ведется с 2013 г. За девятилетний период наблюдения (2013-2021 гг.) в РФ было зарегистрировано 4 408 286 пострадавших от присасывания клещей. Среднегодовой показатель обращаемости населения в медицинские организации составил $335,0 \pm 35,6$ (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение) на 100 тыс. населения. В период

2013-2019 гг. (период, предшествовавший периоду эпидемиологического неблагополучия по новой коронавирусной инфекции COVID-19) показатель обращаемости лиц по поводу присасывания клещей вырос почти в 1,5 раза, что может быть связано как с увеличением контакта населения с иксодовыми клещами, так и проведением информационно-просветительской работы с населением. Несмотря на период массовой самоизоляции в 2020-2021 гг. (в весенний и частично в летний период) в связи с крайне неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по новой коронавирусной инфекции COVID-19 показатель обращаемости населения по поводу присасывания клещей в РФ снизился незначительно (в 1,2 раза) по сравнению с 2019 г. и, по-прежнему, находился на высоком уровне, но все же был несколько ниже среднееголетнего показателя (Таблица 20, Рисунок 12).

Таблица 20 – Обращаемость населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей по ФО РФ в период 2013-2021 гг.

ФО	Показатели	Годы									Среднееголетний показатель обращаемости населения ± стандартное отклонение
		2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
РФ	абс.	396035	441111	552945	482059	509323	521414	580486	471630	453283	489810±54240
	на 100 тыс.	276,60	302,43	378,49	329,26	347,25	355,08	395,34	321,35	309,49	335,0±35,6
ЦФО	абс.	50733	67707	105973	91609	89454	105897	129600	80910	82205	89343±21749
	на 100 тыс.	131,40	174,73	272,52	234,73	228,45	269,73	329,40	205,33	208,95	228,4±54,9
СЗФО	абс.	44212	49986	74594	59627	55041	59146	70887	51546	49652	57188±9510
	на 100 тыс.	323,00	363,29	539,67	430,56	396,65	424,73	507,71	368,79	355,62	412,2±67,9
ЮФО	абс.	14665	11516	20682	26411	24359	23765	22773	11967	14675	18979±5440
	на 100 тыс.	105,50	82,63	147,90	161,70	148,55	144,60	138,45	72,70	89,08	121,2±31,7
СКФО	абс.	8706	8684	11914	11748	10195	10190	10234	5982	6923	9397±1903
	на 100 тыс.	91,48	90,79	123,79	121,26	104,60	103,98	103,95	60,43	69,58	96,7±20,1
ПФО	абс.	71490	89222	105445	90610	88464	102948	117437	88635	95456	94412±12299
	на 100 тыс.	240,00	299,85	354,71	305,14	298,31	347,92	398,50	302,07	327,14	319,3±42,2
УФО	абс.	54847	88692	64522	57909	73887	76810	75762	76344	75364	71571±9982
	на 100 тыс.	450,70	726,04	526,49	471,11	599,39	621,89	613,30	617,90	610,48	581,9±80,5

Продолжение Таблицы 20

СФО	абс.	136201	108123	144012	122846	149720	123988	129102	131795	112063	128650±12906
	на 100 тыс.	706,80	560,64	746,08	635,91	774,74	642,20	750,52	768,67	656,83	693,6±69,4
ДФО	абс.	15181	15460	21696	21299	18203	18670	24691	24451	16945	19622±3387
	на 100 тыс.	242,60	247,79	348,88	343,37	294,13	302,40	300,90	298,95	208,00	287,45±43,9

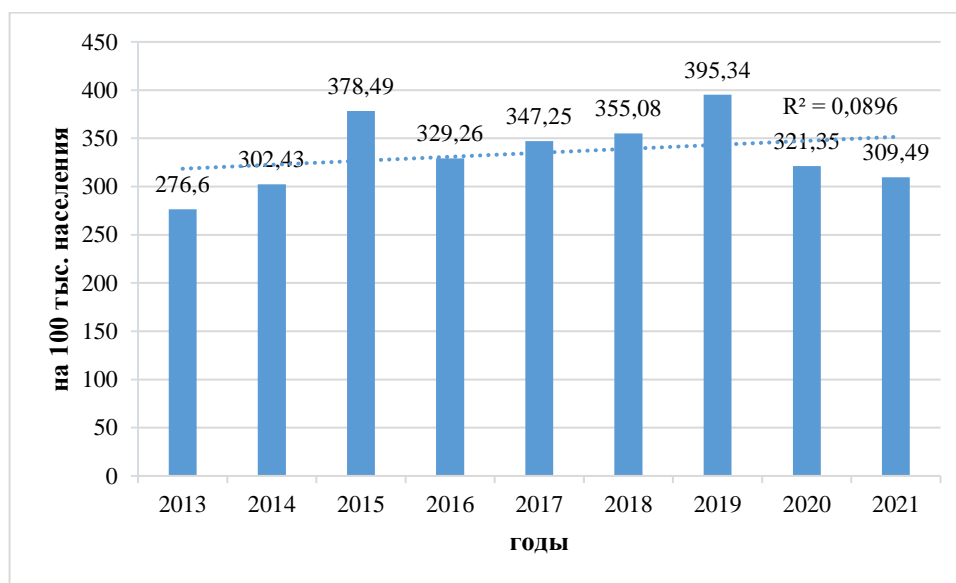


Рисунок 12 – Динамика обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей в РФ в период 2013-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Показатели обращаемости населения по поводу присасывания клещей в различных федеральных округах (ФО) РФ различались. За изучаемый период нами были выявлены регионы с наиболее высокими показателями обращаемости, превышающими среднеголетние показатели в РФ: Сибирский ФО (СФО) (693,6±67,9 на 100 тыс. населения), Уральский ФО (УФО) (581,9±80,5 на 100 тыс. населения) и Северо-западный ФО (СЗФО) (412,2±67,9 на 100 тыс. населения). Минимальный среднеголетний показатель обращаемости населения по поводу присасывания клещей за изученный период был выявлен в Северо-Кавказском ФО (СКФО) (96,7±20,1 на 100 тыс. населения) и Южном ФО (ЮФО) (121,2±31,7 на 100 тыс. населения). За девятилетний период из всего числа пострадавших от присасывания клещей почти половина (46%) пришлась на УФО и СФО (Рисунок 13).

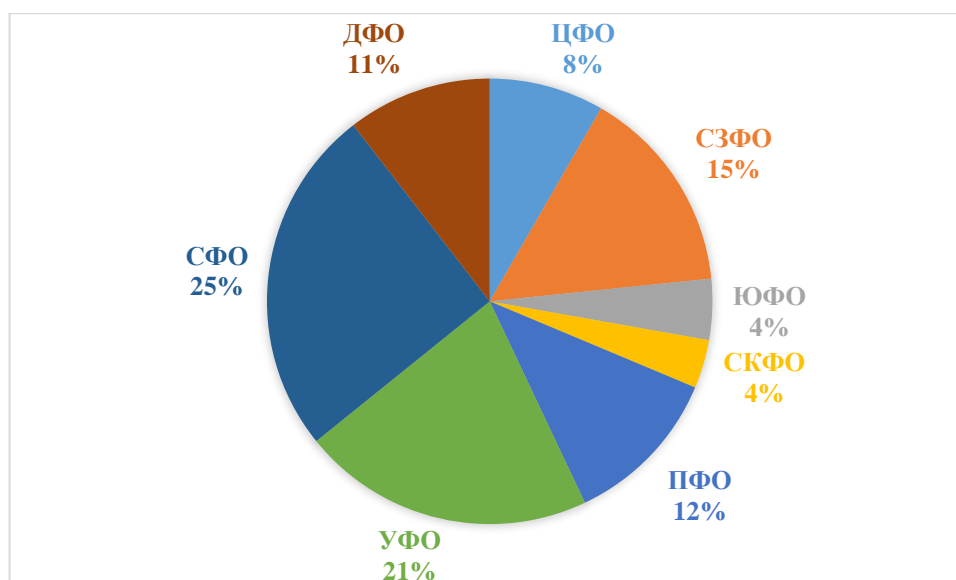


Рисунок 13 – Обрацаемость населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей по ФО РФ в период 2013-2021 гг.

Общая тенденция к снижению обрацаемости населения по поводу присасывания клещей в 2020-2021 гг. по сравнению с 2019 г. прослеживалась во всех ФО РФ, только в СФО и УФО в 2020 г. данный показатель был незначительно выше по сравнению с 2019 г. (Таблица 20, Рисунок 14).

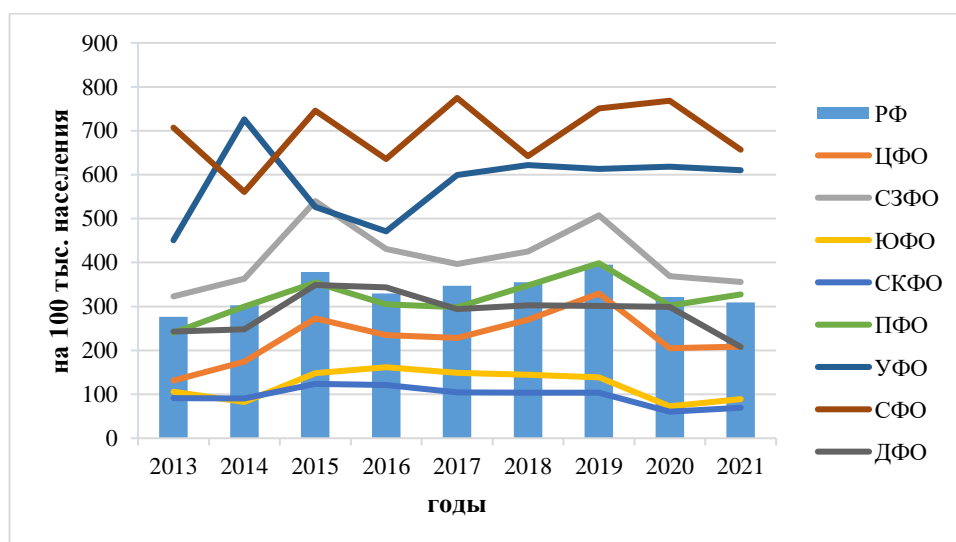


Рисунок 14 – Динамика обрацаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей по ФО РФ в период 2013-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

В УФО наиболее высокие среднемноголетние показатели обрацаемости населения по поводу присасывания иксодовых клещей были зафиксированы в Тюменской ($1061,7 \pm 133,2$ на 100 тыс. населения) и в Свердловской областях ($668,3 \pm 190,7$ на 100 тыс. населения) (Таблица 21,

Рисунок 15). В СФО – в Томской области (1825,6±345,1 на 100 тыс. населения), в Республике Алтай (1643,5±260,0 на 100 тыс. населения), в Кемеровской (1097,1±126,3 на 100 тыс. населения) и Новосибирской (696,3±105,4 на 100 тыс. населения) областях (Таблица 21, Рисунок 16). В СЗФО самый высокий среднемноголетний показатель обращаемости населения по поводу присасывания иксодовых клещей был выявлен в Вологодской области (1131,9±303,6 на 100 тыс. населения), также выше среднемноголетнего в СЗФО показатели были зафиксированы в Псковской области (567,1±106,4 на 100 тыс. населения), Республике Карелия (549,6±74,6 на 100 тыс. населения), Новгородской (523,7±136,8 на 100 тыс. населения), Калининградской (485,3±62,9 на 100 тыс. населения) и Архангельской (486,3±96,9 на 100 тыс. населения) областях (Таблица 21, Рисунок 17).

Таблица 21. Наиболее высокие показатели обращаемости населения по поводу присасывания клещей по ФО и субъектам РФ за период 2013-2021 гг.

Субъекты РФ	Количество случаев за 9 лет (абс. значения)	Средний показатель за 9 лет (на 100 тыс. населения) ± стандартное отклонение
УФО		
Курганская область	34532	447,7±94,2
Свердловская область	266831	668,3±190,7
Тюменская область	140097	1061,7±133,2
Ханты-Мансийский автономный округ	35006	238,3±36,0
Ямало-Ненецкий автономный округ	341	7,0±0,8
Челябинская область	167324	533,2±85,4
СФО		
Республика Алтай	31941	1643,5±260,0
Республика Бурятия	33572	380,6±52,6
Республика Тыва	14740	516,7±137,8
Республика Хакасия	29563	613,5±82,1
Алтайский край	98710	464,0±34,6
Забайкальский край	32523	334,0±95,4
Красноярский край	142944	554,7±108,7
Иркутская область	128212	691,5±80,6
Кемеровская область	266993	1097,1±126,3
Новосибирская область	172856	696,3±105,4
Омская область	46536	263,8±38,6
Томская область	176492	1825,6±345,1
СЗФО		
г. Санкт-Петербург	127495	270,0±45,8
Республика Карелия	31010	549,6±74,6
Республика Коми	18287	239,5±60,9
Архангельская область	56213	486,3±96,9
Ненецкий автономный округ	3	0,76±1,5
Вологодская область	121101	1131,9±303,6
Калининградская область	43080	485,3±62,9
Ленинградская область	55234	340,7±65,7
Мурманская область	520	7,6±2,4
Новгородская область	28850	523,7±136,8
Псковская область	32898	567,1±106,4

Примечание: с 2019 г. Республика Бурятия и Забайкальский край входят в ДФО, но в диссертационной работе для корректного анализа данных эти субъекты РФ учитывались в СФО.

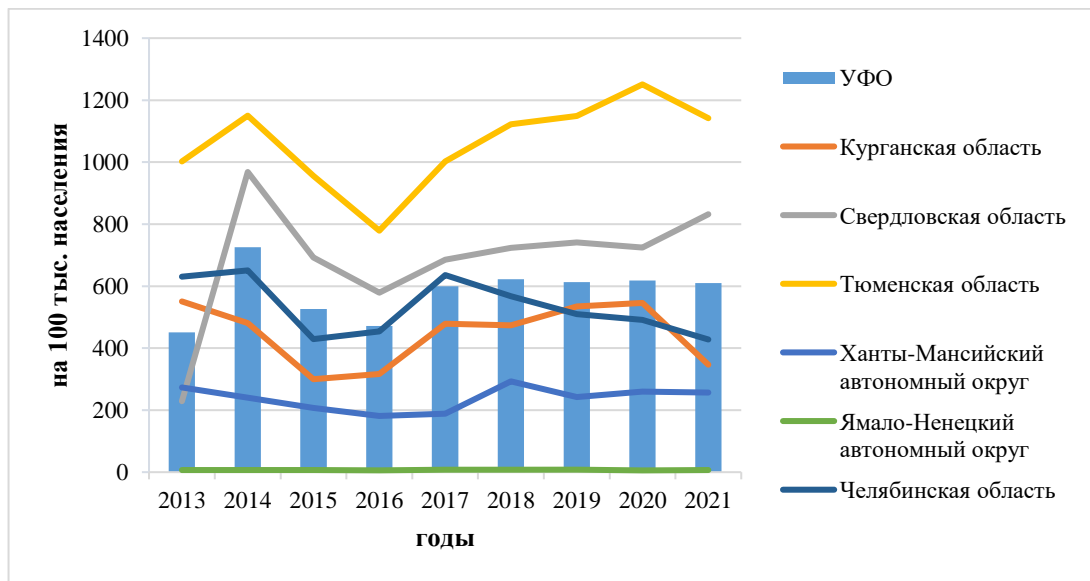


Рисунок 15 – Динамика обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей по субъектам УФО за период 2013-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

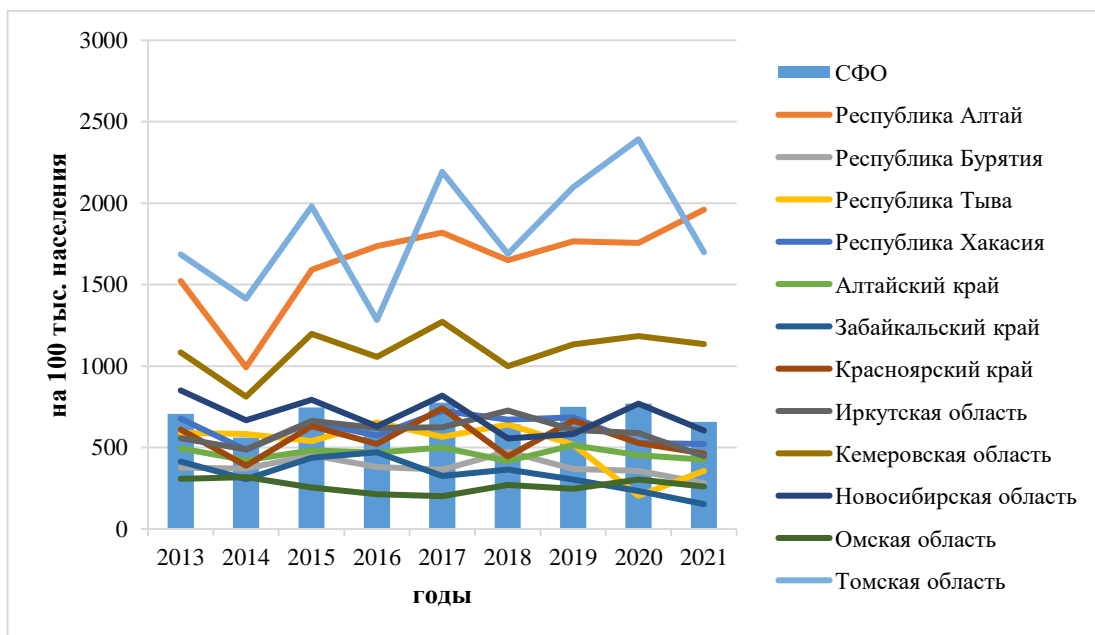


Рисунок 16 – Динамика обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей по субъектам СФО за период 2013-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

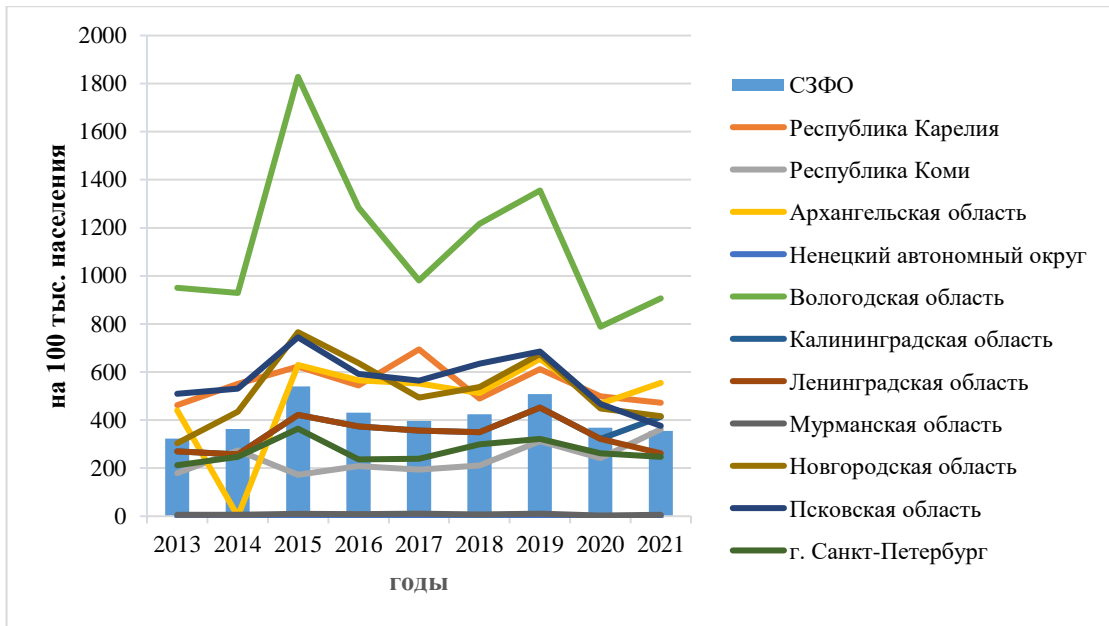


Рисунок 17 – Динамика обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей по субъектам СЗФО за период 2013-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

При анализе возрастной структуры (дети 0-17 лет включительно и взрослые – 18 лет и старше) и структуры городского и сельского населения пострадавших от присасывания клещей за наблюдаемый период было выявлено, что доля пострадавшего детского населения составила 25,0%, доля взрослых – 75,0% (Рисунки 18 и 19).



Рисунок 18 – Возрастная структура пострадавших от присасывания клещей в РФ (среднегодовые данные, 2013-2021 гг.)

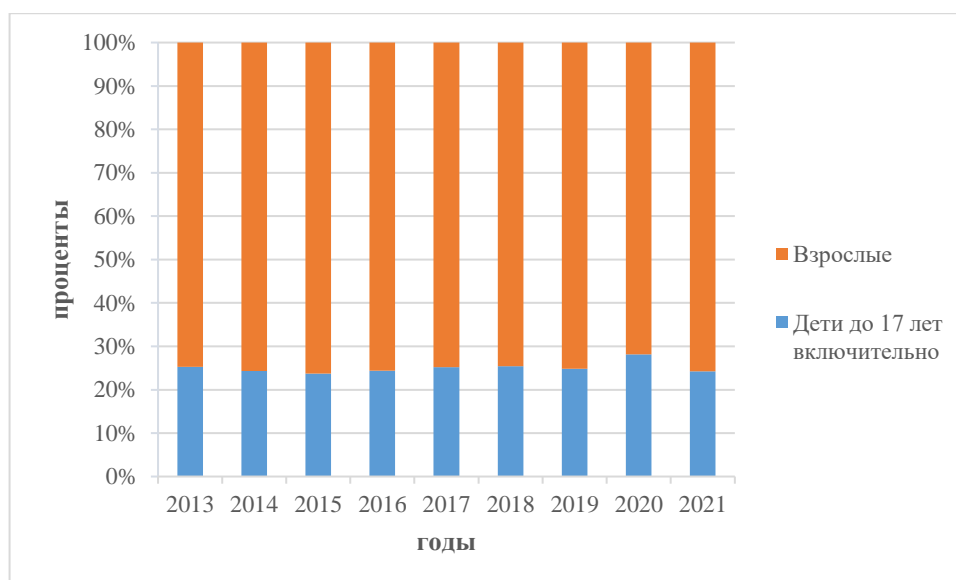


Рисунок 19 – Возрастная структура пострадавших от присасывания клещей в РФ в период 2013-2021 гг. (долевое участие)

Среди городского и сельского населения в структуре пострадавших преобладала доля горожан (75,6%) по сравнению с сельским населением (24,4%) (Рисунки 20 и 21).

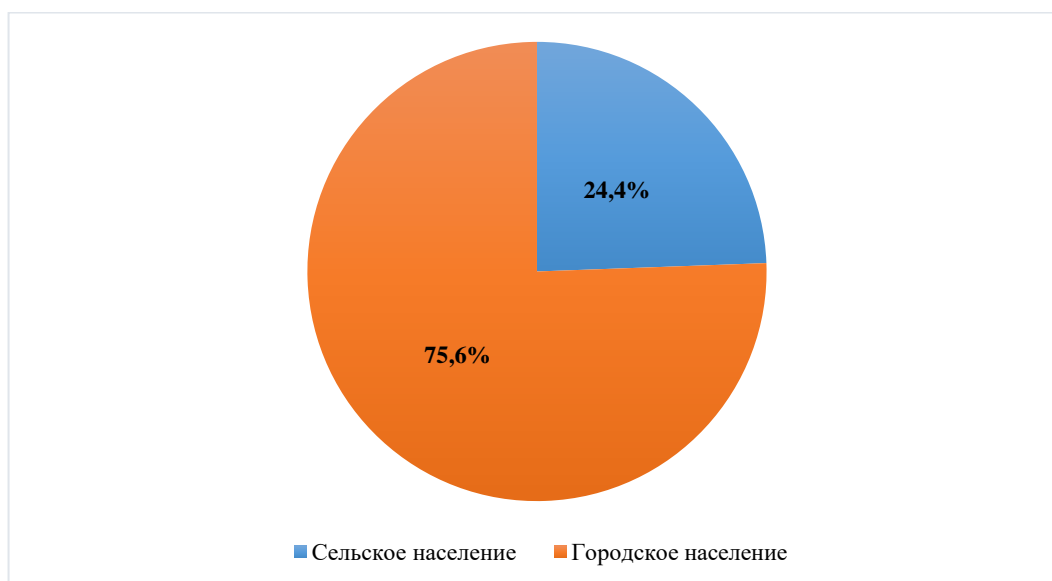


Рисунок 20 – Удельный вес городского и сельского населения пострадавшего от присасывания клещей в РФ (среднегодовые данные, 2013-2021 гг.)

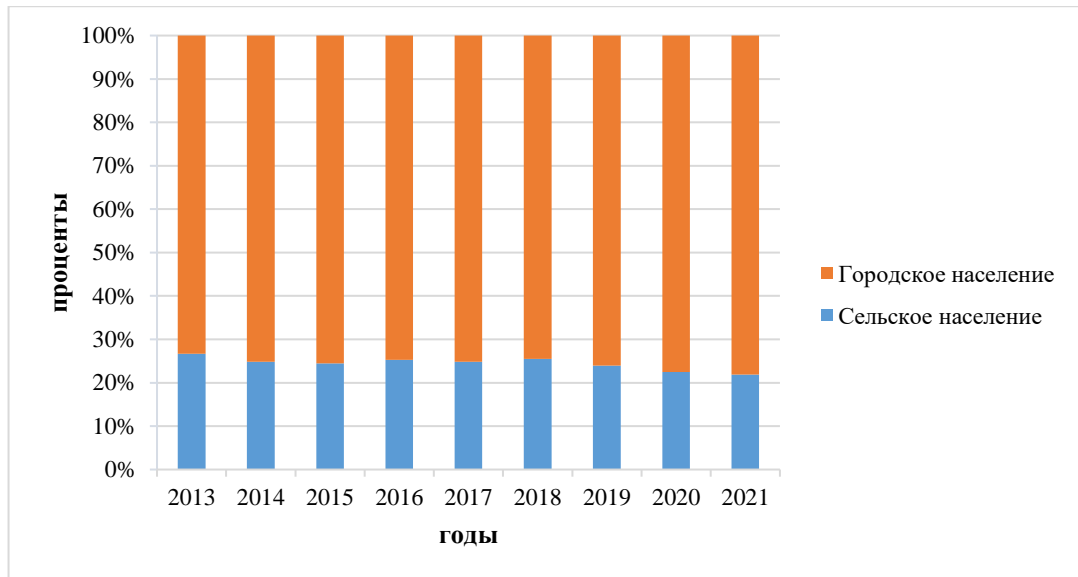


Рисунок 21 – Удельный вес городского и сельского населения пострадавших от присасывания клещей в РФ в период 2013-2021 гг.

Таким образом, за изучаемый период (2013-2021 гг.) были выявлены три ФО РФ с 12 регионами, где регистрируются наиболее высокие показатели обращаемости населения по поводу присасывания клещей: УФО (Тюменская, Свердловская области); СФО (Томская, Кемеровская, Новосибирская области, Республика Алтай); СЗФО (Вологодская, Псковская, Новгородская, Калининградская, Архангельская области и Республика Карелия). Было установлено, что в возрастной структуре населения, пострадавшего от присасывания клещей доля детского населения составляет 25,0%. Три четверти пострадавших приходится на городское население, что может быть связано с повышением мобильности горожан из-за улучшения возможностей передвижения, а, следовательно, и ростом посещений природных очагов клещевых инфекций с целью отдыха, сбора ягод, грибов и т.д., что приводит к увеличению контактов населения с иксодовыми клещами-переносчиками.

3.2. Динамика, территориальное распределение и структура заболеваемости клещевым энцефалитом на территории Российской Федерации в целом и по субъектам (2005-2021 гг.)

Анализ многолетней динамики заболеваемости населения КЭ в РФ, проведенный за период 2005-2021 гг. выявил дальнейшее снижение заболеваемости КЭ (с 3,16 в 2005 г. до 0,66 и 0,69 на 100 тыс. населения в 2020 г. и 2021 г. соответственно). В 2020 г. и 2021 г. было зарегистрировано всего 967 и 1010 случаев заболевания КЭ, что почти в 2 раза меньше абсолютного числа случаев, выявленных в 2019 г. (1775 случаев), это один из самых низких показателей заболеваемости КЭ

за всю его историю изучения (Таблица 22). При этом показатель обращаемости населения за медицинской помощью по поводу присасывания клещей в 2020-2021 гг., как было отмечено выше, в РФ снизился незначительно. Вероятно, резкое снижение регистрируемой заболеваемости КЭ в РФ в 2020-2021 гг. обусловлено не столько снижением контактов населения с природными очагами в этот период из-за часто повторяющихся локдаунов, сколько резким перераспределением объемов оказания медицинской помощи в пользу больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, снижением объемов лабораторной диагностики по выявлению возбудителя и соответственно регистрации случаев заболевания.

В целом снижение уровня заболеваемости КЭ в период 2005-2019 гг. (до периода пандемии COVID-19) обусловлено как программой массовой вакцинопрофилактики против КЭ (специфическая профилактика), так и другими неспецифическими факторами, такими как своевременная обращаемость населения по поводу присасывания клещей в медицинские организации, где помимо удаления клеща по показаниям вводится специфический иммуноглобулин против КЭ, исследование клещей в диагностических лабораториях все чаще методом ПЦР (выявление РНК вируса КЭ), реже методом ИФА (определение антигена вируса КЭ), а также информационно-просветительская работа с населением.

Таблица 22 – Заболеваемость КЭ в ФО РФ и в РФ в целом в период 2005-2021 гг.

Территории	Показатели	Годы																	Среднеголетний показатель заболеваемости ± стандартное отклонение
		2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
РФ	абс.	4551	3494	3138	2796	3720	3094	3533	2716	2236	1978	2304	2035	1934	1727	1775	967	1010	2530±947
	на 100 тыс.	3,16	2,44	2,20	1,97	2,62	2,18	2,47	1,90	1,56	1,36	1,58	1,39	1,32	1,18	1,21	0,66	0,69	1,76±0,67
ЦФО	абс.	40	66	69	57	142	75	71	95	40	46	61	72	72	57	70	23	29	64±26
	на 100 тыс.	0,11	0,18	0,19	0,15	0,38	0,20	0,18	0,25	0,10	0,12	0,16	0,18	0,18	0,15	0,18	0,06	0,07	0,17±0,07
СЗФО	абс.	318	375	345	314	534	396	328	338	285	275	325	254	248	212	256	123	110	296±96
	на 100 тыс.	2,31	2,74	2,54	2,32	3,96	2,94	2,41	2,48	2,08	2,00	2,35	1,83	1,79	1,52	1,83	0,88	0,79	2,16±0,7
ЮФО	абс.	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	3	0	1	0,6±1
	на 100 тыс.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,01	0,02	0,00	0,01	0,00
СКФО	абс.	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	на 100 тыс.	-	-	-	-	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ПФО	абс.	639	485	504	409	786	539	537	466	272	395	532	324	280	351	291	107	213	418±163
	на 100 тыс.	2,07	1,58	1,66	1,35	2,60	1,79	1,80	1,56	0,91	1,33	1,79	1,09	0,94	1,19	0,99	0,36	0,73	1,39±0,5
УФО	абс.	1269	555	514	468	525	526	836	370	311	317	231	290	347	296	292	164	262	446±259
	на 100 тыс.	10,32	4,53	4,20	3,82	4,29	4,29	6,92	3,05	2,56	2,59	1,88	2,36	2,81	2,40	2,36	1,33	2,12	3,6±2,1
СФО	абс.	2230	1930	1650	1509	1676	1489	1717	1410	1295	914	1115	1057	945	778	774	489	377	1256±496
	на 100 тыс.	11,24	9,78	8,40	7,71	8,57	7,62	8,92	7,32	6,72	4,74	5,78	5,47	4,89	4,03	4,50	2,85	2,21	6,5±2,4
ДФО	абс.	55	82	56	39	57	69	44	37	33	31	37	38	39	31	89	61	18	48±19
	на 100 тыс.	0,83	1,25	0,86	0,60	0,88	1,07	0,70	0,59	0,53	0,50	0,59	0,61	0,63	0,50	1,08	0,75	0,22	0,7±0,2

Среднегодовой показатель заболеваемости КЭ в РФ за изученный период составил $1,76 \pm 0,67$ на 100 тыс. населения (Рисунок 22). В общей динамике заболеваемости КЭ следует выделить пять небольших подъемов – в 2005, 2009, 2011, 2015 и 2019 гг., при этом каждый подъем заболеваемости сменялся резким или плавным снижением. Территориальное распределение заболеваемости КЭ в изучаемый период, по-прежнему, характеризовалось неравномерностью. Так, по среднегодовым данным нами были выявлены ФО с наиболее высокими показателями заболеваемости КЭ – СФО ($6,5 \pm 2,4$ на 100 тыс. населения), УФО ($3,6 \pm 2,1$ на 100 тыс. населения) и СЗФО ($2,16 \pm 0,7$ на 100 тыс. населения), то есть те же ФО, где регистрировались наиболее высокие показатели обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей (Рисунок 23).

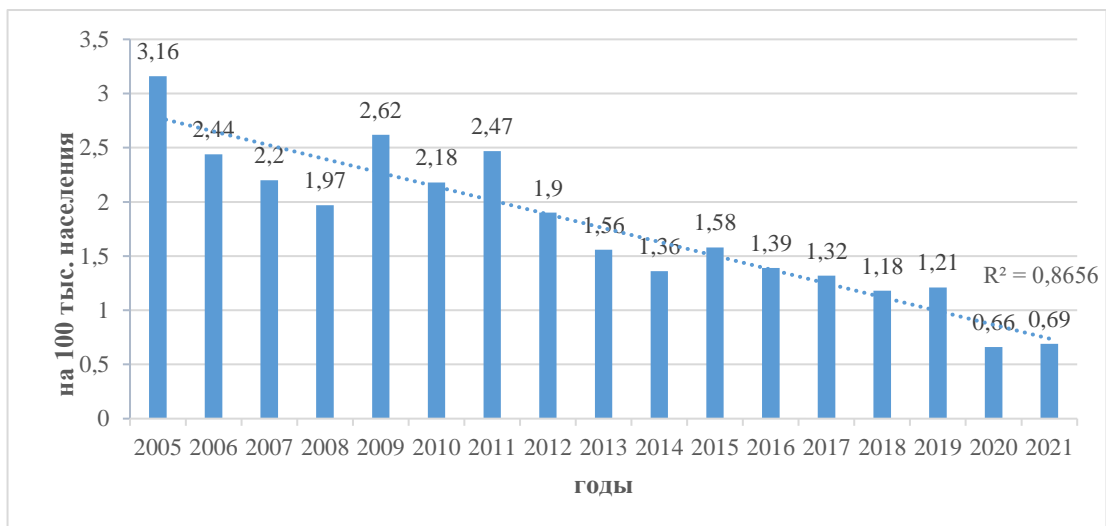


Рисунок 22 – Динамика заболеваемости КЭ в РФ в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

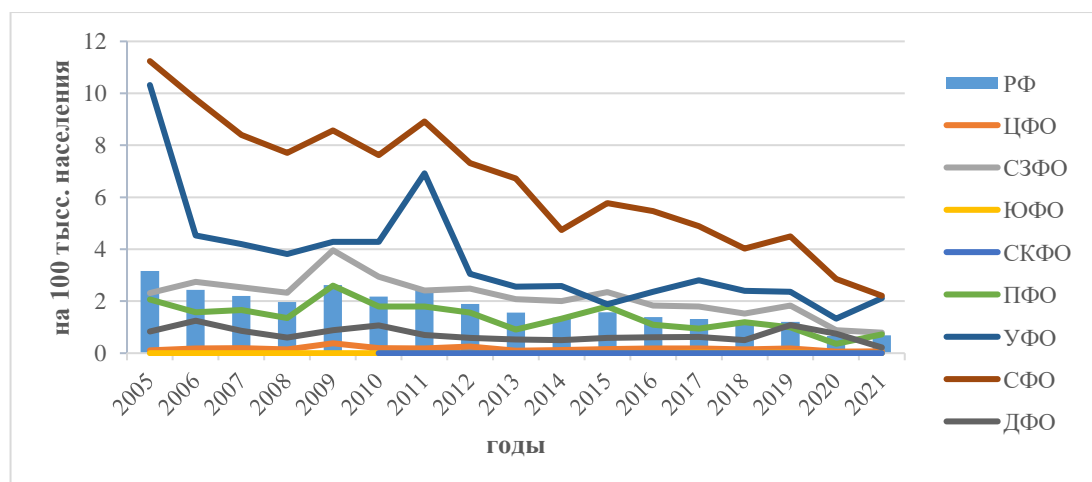


Рисунок 23 – Динамика заболеваемости КЭ по ФО РФ в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Далее внутри каждого ФО с наивысшими средними показателями заболеваемости КЭ нами были выделены наиболее неблагополучные субъекты РФ (Таблица 23). Наибольший вклад в заболеваемость КЭ в СФО внесли: Красноярский край (14,9±6,2 на 100 тыс. населения), Республика Алтай (14,9±8,7 на 100 тыс. населения), Томская область (14,5±9,6 на 100 тыс. населения), Республика Хакасия (10,5±7,8 на 100 тыс. населения), Республика Тыва (10,4±5,4 на 100 тыс. населения) (Рисунок 24); в УФО: Курганская (7,4±5,9 на 100 тыс. населения), Тюменская (6,17±3,6 на 100 тыс. населения) и Свердловская (3,7±2,0 на 100 тыс. населения) области (Рисунок 25); в СЗФО: Архангельская (5,8±2,2 на 100 тыс. населения), Вологодская (5,4±2,2 на 100 тыс. населения) области, Республика Карелия (5,4±2,1 на 100 тыс. населения) (Рисунок 26).

Таблица 23 – Наиболее эндемичные ФО и субъекты РФ по заболеваемости КЭ в период 2005-2021 гг.

Субъекты РФ	Количество случаев за 17 лет (абс.значения)	Средний показатель за 17 лет (на 100 тыс. населения)±стандартное отклонение
УФО		
Курганская область	1179	7,4±5,9
Свердловская область	2766	3,7±2,0
Тюменская область	1446	6,2±3,6
Ханты-Мансийский автономный округ	304	1,2±0,6
Ямало-Ненецкий автономный округ	18	0,2±0,2
Челябинская область	1860	3,1±2,0
СФО		
Республика Алтай	529	14,9±8,7
Республика Бурятия	947	7,0±3,6
Республика Тыва	521	10,4±5,4
Республика Хакасия	957	10,5±7,8
Алтайский край	759	1,8±0,7
Забайкальский край	681	3,7±1,4
Красноярский край	6660	14,9±6,2
Иркутская область	1860	4,6±2,7
Кемеровская область	2363	5,0±1,5
Новосибирская область	5509	5,5±1,4
Омская область	566	1,7±0,9
Томская область	2305	14,5±9,6
СЗФО		
г. Санкт-Петербург	883	1,1±0,4
Республика Карелия	613	5,4±2,1
Республика Коми	227	1,5±0,7
Архангельская область	1179	5,8±2,2
Ненецкий автономный округ	1	0,1±0,5
Вологодская область	1113	5,4±2,2
Калининградская область	185	1,1±0,6
Ленинградская область	475	1,6±1,0
Мурманская область	22	0,2±0,1
Новгородская область	129	1,2±0,8
Псковская область	209	1,8±1,5

Примечание: с 2019 г. Республика Бурятия и Забайкальский край входят в ДФО, но в диссертационной работе для корректного анализа данных эти субъекты РФ учитывались в СФО.

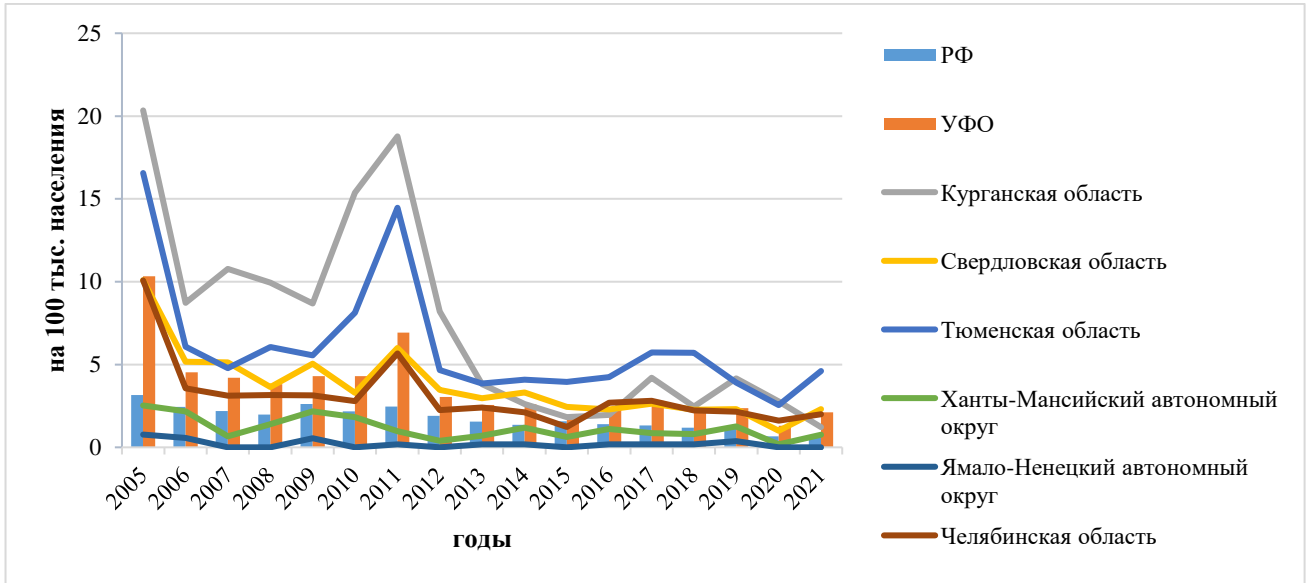


Рисунок 24 – Заболеваемость КЭ по субъектам УФО в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

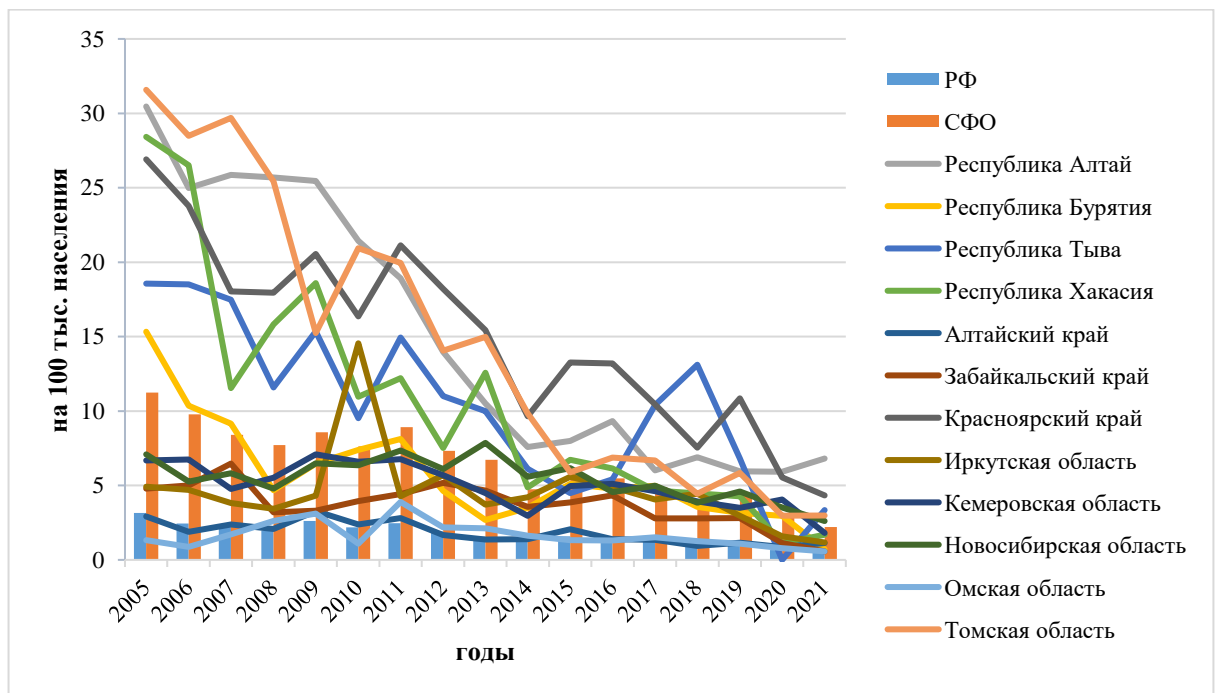


Рисунок 25 – Заболеваемость КЭ по субъектам СФО в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

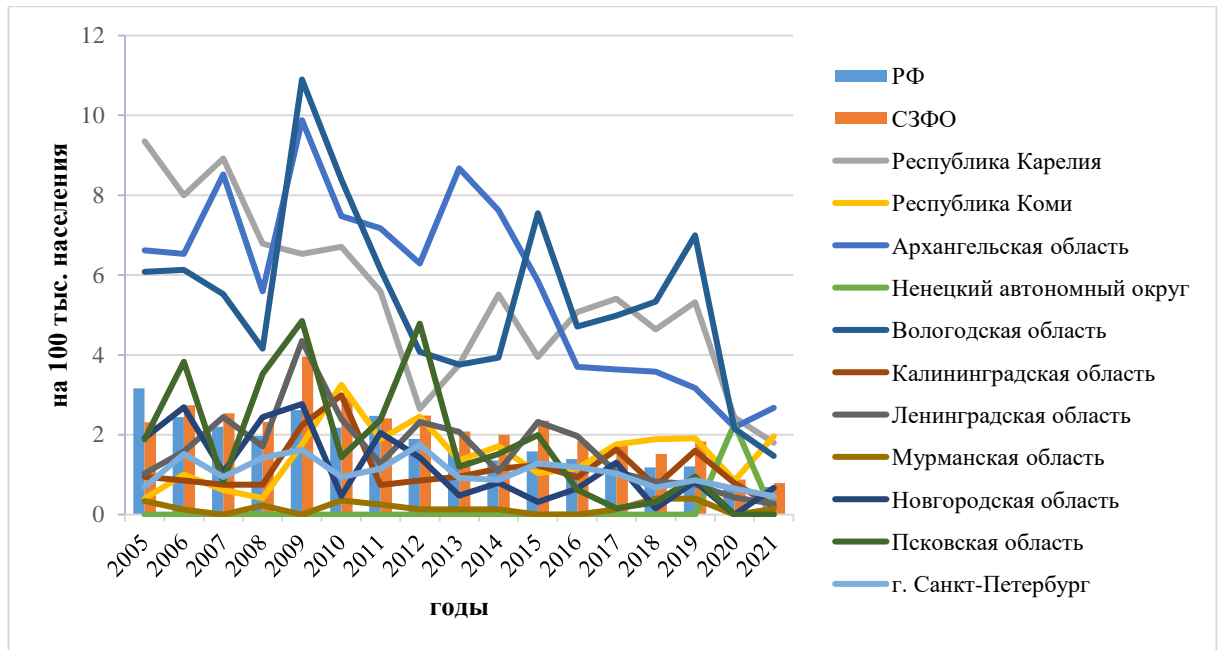


Рисунок 26 – Заболеваемость КЭ по субъектам СЗФО в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

КЭ является единственной инфекцией, передающейся иксодовыми клещами, против которой разработана специфическая профилактика – вакцинопрофилактика. Ежегодно в РФ вакцинируется около 3 млн. человек. Масштабы вакцинопрофилактики КЭ в различных регионах страны неодинаковы. На сегодняшний день единственной территорией, где широко внедрена программа массовой вакцинопрофилактики является Свердловская область, где охват населения вакцинопрофилактикой достигает 80% и более, а эпидемиологическая эффективность возросла до 98,1% [324]. В остальных субъектах УФО РФ масштабы вакцинации не превышают 40% [319], о чем свидетельствуют высокие показатели заболеваемости в соседних областях: Курганская область – 7,4 (на 100 тыс. населения), Тюменская область – 6,17 (на 100 тыс. населения).

Тем не менее, несмотря на кампанию массовой вакцинопрофилактики, проводимую в Свердловской области и достигнутый успех, выраженный в клиническом патоморфозе заболевания (среди вакцинированных больных КЭ преобладают лихорадочные формы заболевания) показатели заболеваемости продолжают превышать средние показатели в УФО и среднероссийские. За изученный период динамика заболеваемости КЭ в Свердловской области практически полностью повторяет тренды, наблюдаемые в регионе и по стране (Рисунок 27).

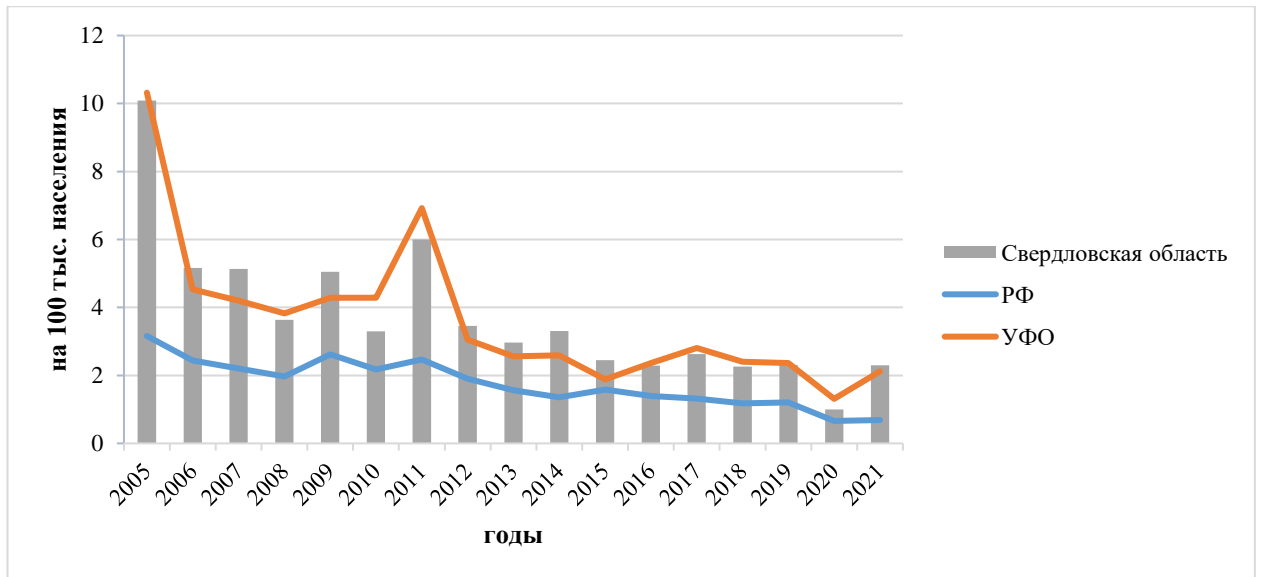


Рисунок 27 – Динамика заболеваемости КЭ в Свердловской области, УФО и РФ в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

В целом в РФ заболеваемость вакцинированных лиц достигает 5-7%, в отдельных регионах колеблется от 3,7% до 24% [32; 72; 107; 210; 300]. В Европе, в Австрии, где охват вакцинопрофилактикой составляет 85% и более, заболеваемость среди вакцинированных лиц составляет не более 5% [7]. Причинами более высоких показателей заболеваемости среди вакцинированных лиц в отдельных регионах РФ могут быть как гипердиагностика случаев заболевания КЭ среди вакцинированных, поскольку в настоящее время отсутствуют стандарты постановки диагноза у данной категории пациентов, и каждый случай заболевания разбирается индивидуально на комиссии, так и отличие вакцинных штаммов от природных циркулирующих на большей части территории РФ. В настоящее время на большей части территории РФ доминирует сибирский подтип вируса КЭ, а зарегистрированные вакцины в РФ изготавливаются либо из штаммов дальневосточного подтипа (отечественные вакцины), либо из штаммов европейского подтипа (зарубежные вакцины). Несоответствие природных штаммов вакцинным может играть роль в выработке защитных титров антител (нейтрализующих антител) против доминирующего сибирского подтипа вируса [272; 273]. В Европе природные штаммы соответствуют вакцинным, доминирующим является европейский подтип вируса КЭ.

В главе 7 настоящего исследования будут рассмотрены вопросы разработки критериев постановки диагноза у вакцинированных пациентов при разных типах гуморального иммунитета у вакцинированных лиц с характеристикой нейтрализующей активности сывороток крови вакцинированных лиц против сибирского подтипа вируса КЭ.

Анализ возрастной структуры в изучаемый период заболеваемости КЭ среди детского (0-17 лет включительно) и взрослого (18 лет и старше) населения в РФ выявил преобладание

заболеваемости среди взрослого (86,0%) по сравнению с детским (14,0%) населением (Рисунки 28 и 29).



Рисунок 28 – Доля взрослого и детского населения в возрастной структуре заболеваемости КЭ за изученный период (2005-2021 гг.)

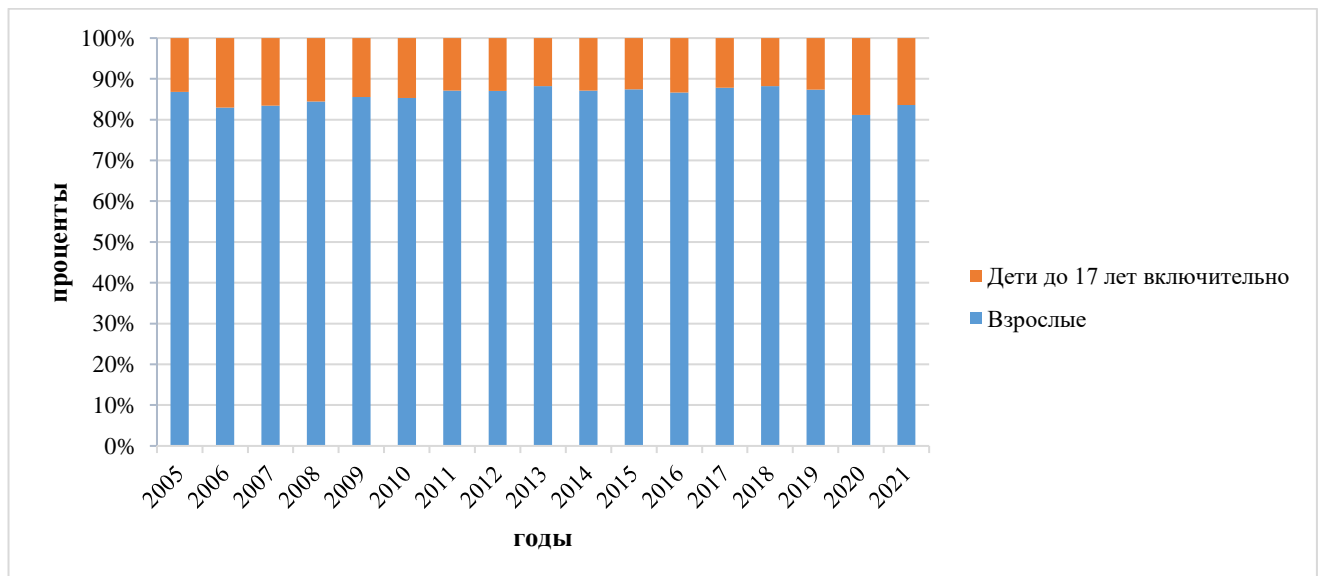


Рисунок 29 – Динамика заболеваемости КЭ среди взрослых и детей в РФ за период 2005-2021 гг.

При анализе удельного веса сельского и городского населения заболевших КЭ за наблюдаемый период установлено преобладание городского населения (66,1%), доля сельского населения составила 33,9% (Рисунки 30 и 31).



Рисунки 30 – Доля городского и сельского населения среди заболевших КЭ в РФ в период 2005-2021 гг.

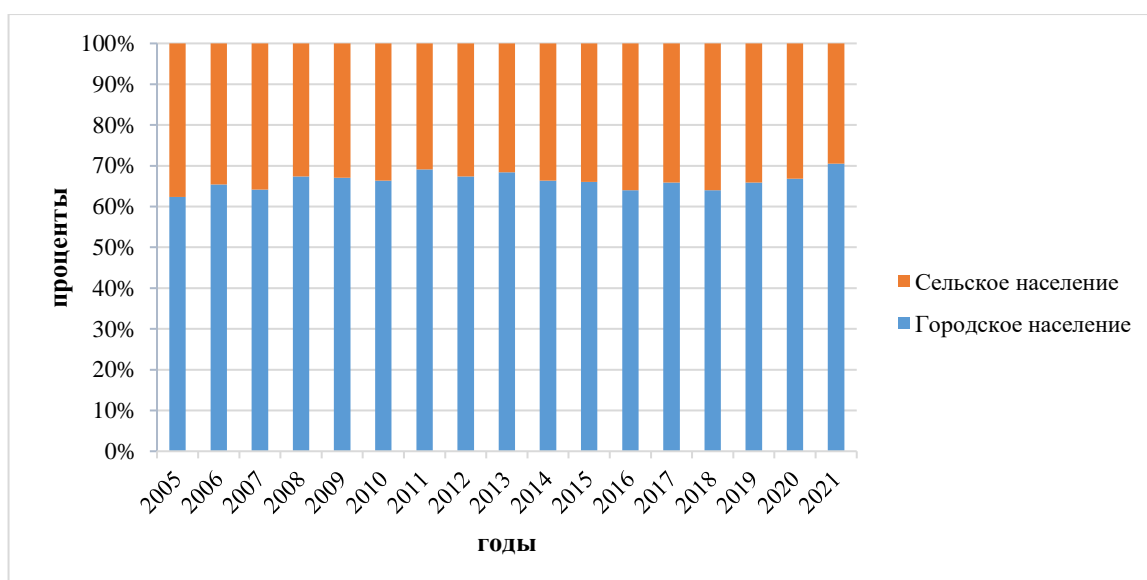


Рисунок 31 – Динамика заболеваемости КЭ среди городского и сельского населения в РФ в период 2005-2021 гг.

Показатели летальности при КЭ.

За период наблюдения (2005-2021 гг.) в РФ было зарегистрировано 649 случаев летального исхода от КЭ. Среднероссийский показатель летальности составил 1,5%. Самые высокие показатели летальности в РФ были зафиксированы в 2017 и 2020 гг. (по 1,9%), а превышающие средний показатель зафиксированы в 2005, 2009, 2012, 2013, 2016-2021 гг. Самый низкий показатель летальности был выявлен в 2011 г. – 1,1%, несмотря на высокие показатели заболеваемости КЭ в РФ в этом году (Таблицы 24 и 25).

Таблица 24 – Показатели летальности (%) по ФО РФ и в РФ за период 2005-2021 гг.

Терри- тория	Годы																
	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
РФ	1,6	1,5	1,3	1,4	1,7	1,4	1,1	1,7	1,7	1,5	1,2	1,6	1,9	1,6	1,6	1,9	1,7
ЦФО	2,5	0	0	5,3	4,2	2,7	0	3,2	7,5	0	1,6	1,4	0	5,3	0	4,3	3,4
СЗФО	0,9	1,3	0,9	1,6	2,8	1,0	1,2	1,8	2,1	1,5	2,2	1,6	0,8	2,4	1,6	1,6	1,8
ЮФО	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0
СКФО	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ПФО	1,4	1,9	0,6	1,0	0,8	1,3	0,9	1,5	1,1	1,0	1,1	0,9	0,7	0,3	0,3	0	1,9
УФО	2,0	1,4	0,4	1,3	1,7	1,9	1,7	1,4	3,2	1,9	0,9	1,4	2,6	1,4	1,7	3,0	1,5
СФО	1,3	1,1	1,6	1,0	1,0	1,0	0,8	1,7	1,4	1,2	1,0	1,8	2,6	1,8	1,9	1,6	1,3
ДФО	7,3	9,8	12,5	15,4	17,5	10,1	1,8	5,4	6,1	6,5	2,7	7,9	7,7	3,2	3,4	3,3	5,5

Таблица 25 – Показатели летальности (%) при КЭ по ФО и среди взрослых и детей за период 2005-2021 гг.

Летальность	Абсолютное число летальных случаев/число заболевших	Показатель летальности (%)
ФО		
ЦФО	25/1085	2,3
СЗФО	81/5036	1,6
ЮФО	1/10	10,0
СКФО	0/0	0
ПФО	74/7130	1,0
УФО	129/7573	1,7
СФО	274/21355	1,3
ДФО	65/816	8,0
Возраст		
0-17 лет включительно	30/6041	0,5
18 лет и старше	619/36967	1,7

Самые высокие показатели летальности при КЭ были отмечены преимущественно в ДФО, где средний показатель на протяжении всего изучаемого периода превышал среднероссийский, составив в среднем 8%, в ЦФО – 2,3% (2005, 2008-2010, 2012, 2013, 2015, 2016, 2018, 2020, 2021 гг.), в УФО – 1,7% (2005, 2009-2011, 2013, 2014, 2017, 2019, 2020 гг.), в СЗФО – 1,6% (2008, 2009, 2012, 2013, 2015, 2016, 2018-2021 гг.). В СФО превышение среднероссийского показателя летальности наблюдалось только в отдельные годы (2007, 2012, 2016-2020 гг.), за период наблюдения летальность составила 1,3%. В ПФО значения были выше среднероссийского только в 2006 г. и 2009 г. (по 1,9%). В ЮФО за весь период наблюдения был зарегистрирован только один случай летального исхода от КЭ (в 2018 г.), всего в регионе в данном году было выявлено 2 случая заболевания КЭ, таким образом, летальность в 2018 г. составила 50%. Случаев

заболевания КЭ на территории СКФО за изучаемый период зарегистрировано не было (Рисунок 32).

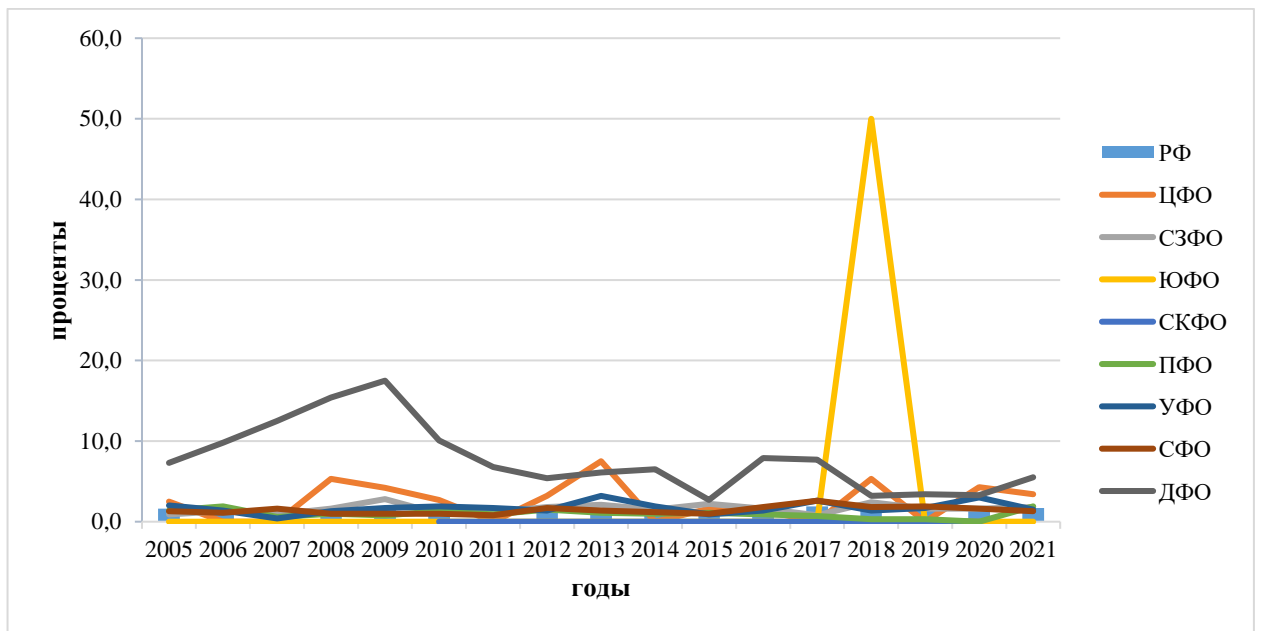


Рисунок 32 – Динамика летальности при КЭ по ФО РФ за период 2005-2021 гг.

Доля детей 0-17 лет включительно за весь период наблюдения, у которых был зарегистрирован летальный исход, составила 4,6%, доля взрослых (18 лет и старше) с летальным исходом в среднем составила 95,4% (Рисунки 33 и 34).



Рисунок 33 – Возрастная структура летальных исходов при КЭ в РФ за период 2005-2021 гг.

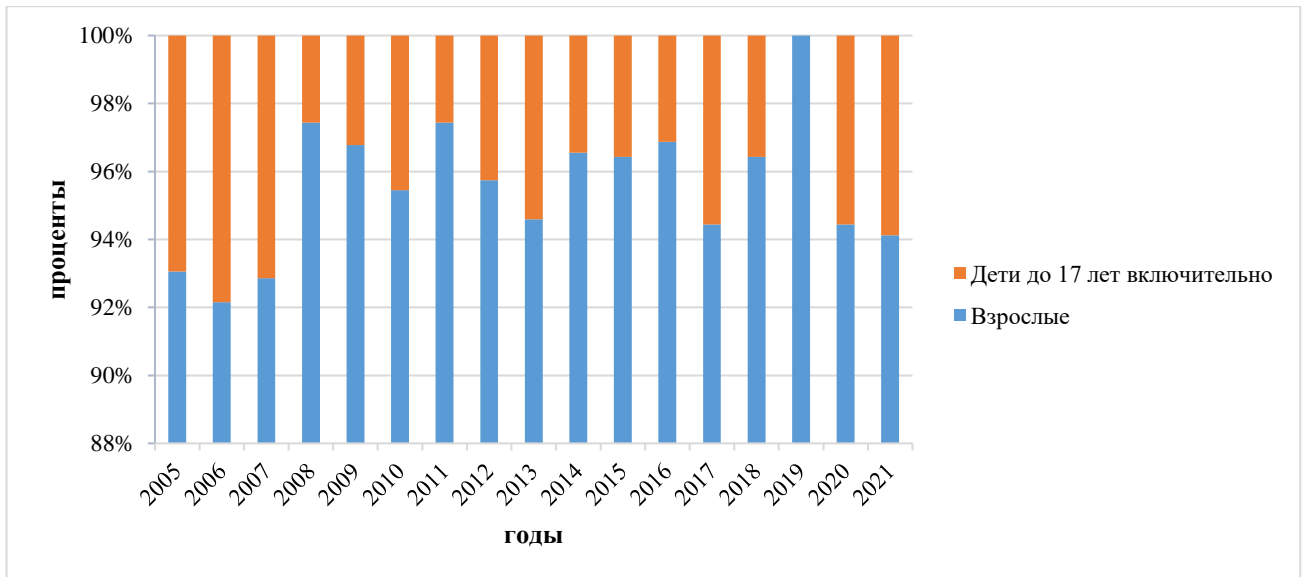


Рисунок 34 – Динамика летальности при КЭ среди взрослых и детей в РФ за период 2005-2021 гг.

Таким образом, за 17-летний наблюдения среднемноголетний показатель заболеваемости населения КЭ в РФ составил 1,76 на 100 тыс. населения. Выявлены наиболее эндемичные ФО и субъекты РФ внутри этих округов: СФО – Красноярский край, Республики Алтай, Хакасия, Тыва; УФО – Курганская и Свердловская области; СЗФО – Архангельская, Вологодская области, Республика Карелия. В возрастной структуре заболеваемости преобладали взрослые (86,0%) городские (66,1%) жители. За период наблюдения от КЭ в РФ умерли 649 человек, из них 30 детей, средний показатель летальности составил 1,5%, при этом среди детей – 0,5%, среди взрослых – 1,7%. Наибольший показатель летальности за все годы изучения был отмечен в ДФО с некоторой тенденцией к снижению в 2018-2020 гг. Вероятно высокий уровень летальности в ДФО связан с особенностями генетической популяции вируса КЭ, циркулирующей в данном регионе, на территории которого доминирует дальневосточный подтип вируса, и с циркуляцией высокопатогенных штаммов возбудителя. Хотя в последние годы исследователи [154; 155] указывают на увеличение доли слабовирулентных штаммов в структуре популяции вируса КЭ, чем, по-видимому, обусловлено снижение уровня летальности в данном регионе в отдельные годы. Выше среднероссийского уровня летальность зарегистрирована в ЦФО, УФО и СЗФО – 2,3%, 1,7% и 1,6 соответственно. Как заболеваемость, так и летальные исходы, которые регистрируются на территории ЦФО обусловлены случаями заболевания на территории природных очагов (Ярославская, Ивановская, Костромская, Тверская, Московская области), так и завозными случаями заболевания из различных эндемичных регионов.

В главе 3.5 на примере Свердловской области – территории эндемичной по КЭ будет детально рассмотрена структура, уровни, факторы риска заболеваемости КЭ.

3.3. Динамика, территориальное распределение и структура заболеваемости болезнью Лайма на территории Российской Федерации в целом и по субъектам (2005-2021 гг.)

С целью оценки эпидемиологической ситуации по БЛ на территории РФ, по ФО и отдельным субъектам РФ в период с 2005 по 2021 гг. проведен анализ динамики, территориального распределения и структуры заболеваемости БЛ.

За анализируемый период на территории РФ было зарегистрировано 119883 случаев заболевания БЛ, среднемноголетний показатель заболеваемости населения составил $4,89 \pm 1,1$ на 100 тыс. населения. Случаи заболевания БЛ регистрировались во всех ФО (регистрация случаев заболевания БЛ в СКФО началась с 2010 г.) (Таблица 26, Рисунок 35). В общей динамике заболеваемости БЛ следует выделить четыре подъема – в 2009, 2011, 2015 и 2019 гг., которые совпадают с подъемами заболеваемости КЭ в эти годы (Рисунок 35). Последний подъем (2019 г.) характеризовался резким снижением заболеваемости в 2020-2021 гг. почти в 2 раза. Такая же тенденция наблюдалась при заболеваемости КЭ, вероятные причины этого феномена уже были описаны в главе 3.2, и, вероятно, прежде всего, связаны со снижением доступности лабораторной диагностики в период пандемии COVID-19. Кроме того, в последние годы наблюдается увеличение доли безэритемной формы БЛ против эритемной, что затрудняет клиническую диагностику заболевания. Структура клинических форм острого течения БЛ будет рассмотрена в главе 3.5 на примере Свердловской области – одного из наиболее эндемичных регионов по БЛ в РФ. Как ранее обсуждалось, обращаемость населения по поводу присасывания клещей в 2020-2021 гг. снизилась незначительно по сравнению с 2019 г., поэтому данный фактор не является приоритетным в случае снижения заболеваемости БЛ в РФ в целом.

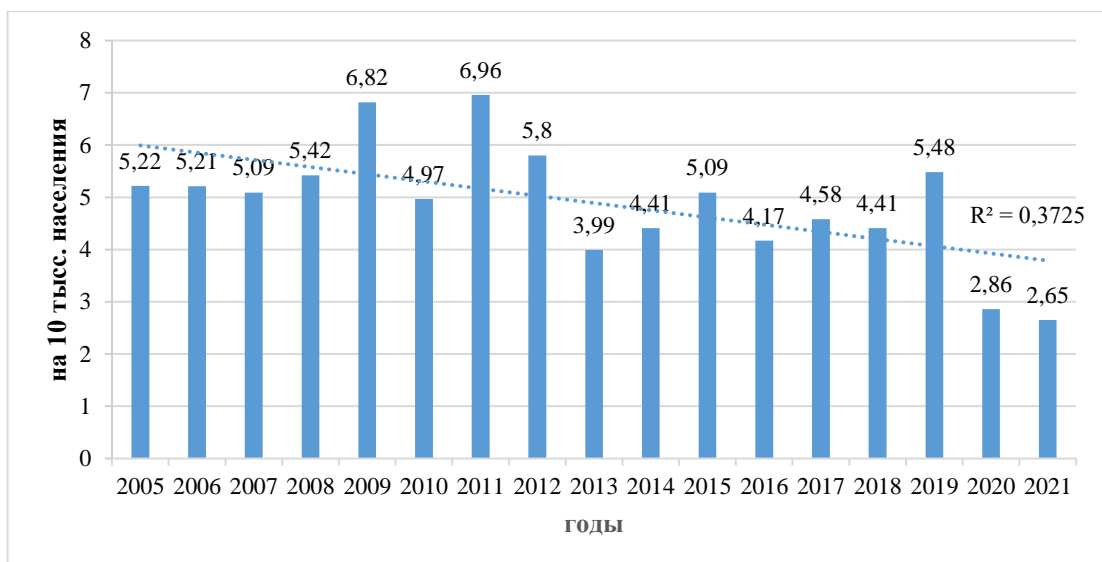


Рисунок 35 – Динамика заболеваемости БЛ в РФ в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Анализ многолетней динамики заболеваемости БЛ населения страны в целом и отдельных субъектов РФ, в частности, показал незначительную тенденцию к снижению заболеваемости БЛ (кроме 2019 г.) во всех ФО, за исключением ЦФО и ЮФО (Рисунок 36).

Таблица 26 – Заболеваемость БЛ в ФО и в РФ в целом в период 2005-2021 гг.

Территории	Показатели	Годы																	Среднегодовой показатель заболеваемости ± стандартное отклонение
		2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
РФ	абс.	7514	7451	7247	7696	9688	7055	9942	8288	5712	6439	7429	6101	6712	6482	8048	4204	3875	7052±1544
	на 100 тыс.	5,22	5,21	5,09	5,42	6,82	4,97	6,96	5,80	3,99	4,41	5,09	4,17	4,58	4,41	5,48	2,86	2,65	4,89±1,1
ЦФО	абс.	1457	1460	1273	1961	2555	1508	2547	2865	1468	1725	2503	1925	2067	2471	3514	2218	1797	2077±586
	на 100 тыс.	3,87	3,90	3,41	5,27	6,88	4,06	6,63	7,44	3,80	4,45	6,44	4,93	5,28	6,29	8,93	5,63	4,57	5,4±1,5
СЗФО	абс.	1062	1373	1284	1200	1722	1209	1412	1256	787	1074	1112	774	870	690	869	337	418	1026±349
	на 100 тыс.	7,71	10,04	9,45	8,87	12,77	8,99	10,37	9,21	5,75	7,81	8,05	5,59	6,27	4,95	6,22	2,41	2,99	7,5±2,6
ЮФО	абс.	40	23	54	48	57	70	42	67	82	76	115	173	278	215	244	59	60	100±76
	на 100 тыс.	0,18	0,10	0,24	0,21	0,25	0,51	0,30	0,48	0,59	0,55	0,82	1,06	1,70	1,31	1,48	0,36	0,36	0,62±0,4
СКФО	абс.	-	-	-	-	-	17	41	23	35	26	40	40	33	40	53	6	17	19±19
	на 100 тыс.	-	-	-	-	-	0,18	0,43	0,24	0,37	0,27	0,42	0,41	0,34	0,41	0,54	0,06	0,17	0,2±0,1
ПФО	абс.	2156	1806	1935	1627	2234	1602	1901	1333	802	1185	1281	868	818	938	1030	287	388	1305±572
	на 100 тыс.	7,00	5,90	6,36	5,37	7,40	5,32	6,36	4,47	2,69	3,98	4,31	2,92	2,76	3,17	3,50	0,98	1,33	4,3±1,9
УФО	абс.	1362	940	1143	1065	1332	996	1742	992	908	988	704	724	921	774	799	442	445	957±314
	на 100 тыс.	11,08	7,67	9,34	8,70	10,88	8,12	14,42	8,19	7,46	8,09	5,74	5,89	7,47	6,27	6,47	3,58	3,6	7,8±2,6
СФО	абс.	1219	1491	1318	1548	1488	1382	1942	1505	1415	1160	1370	1266	1491	1123	1169	641	616	1303±309
	на 100 тыс.	6,14	7,56	6,71	7,91	7,61	7,07	10,08	7,82	7,34	6,01	7,10	6,55	7,72	5,82	6,80	3,74	3,61	6,8±1,5
ДФО	абс.	218	358	240	247	300	271	315	247	215	181	266	331	234	231	370	214	134	257±60
	на 100 тыс.	3,30	5,45	3,68	3,80	4,63	4,20	5,01	3,94	3,44	2,90	4,28	5,34	3,78	3,74	4,51	2,62	1,64	3,9±0,9

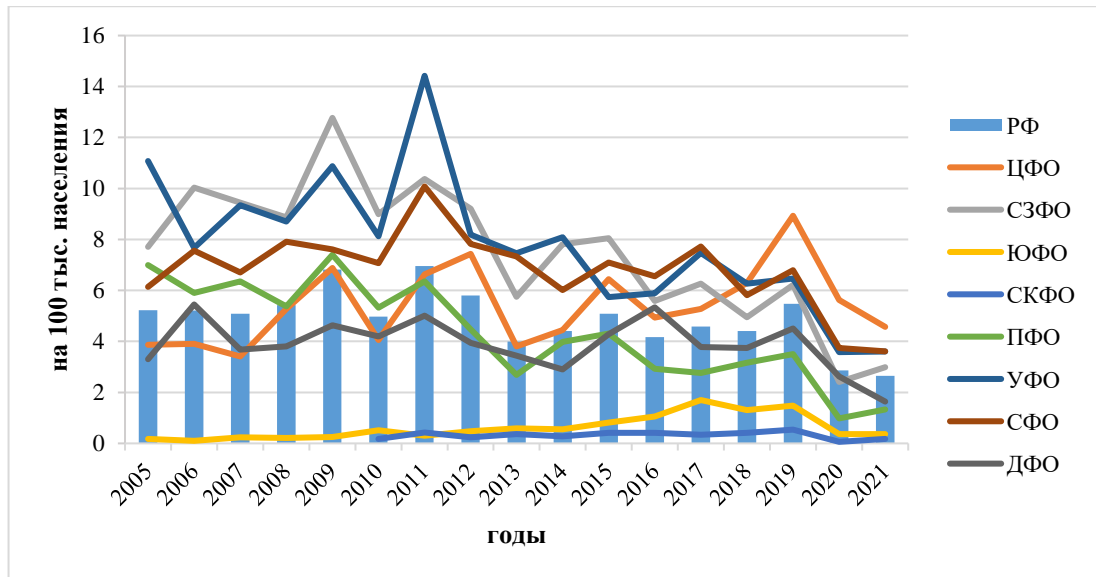


Рисунок 36 – Динамика заболеваемости БЛ по ФО и в РФ в 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Территориальное распределение заболеваемости БЛ в изучаемый период по-прежнему характеризовалось неравномерностью. Так, по среднеголетним данным нами были выявлены регионы с наиболее высокими показателями заболеваемости БЛ – УФО ($7,8 \pm 2,6$ на 100 тыс. населения), СЗФО ($7,5 \pm 2,6$ на 100 тыс. населения) и СФО ($6,8 \pm 1,5$ на 100 тыс. населения), т.е. те же регионы, что и в случае обращаемости населения по поводу присасывания клещей и заболеваемости КЭ. Всего за 17-летний период из всех зарегистрированных случаев БЛ, 42% пришлось на территории УФО и СЗФО (Рисунок 37).

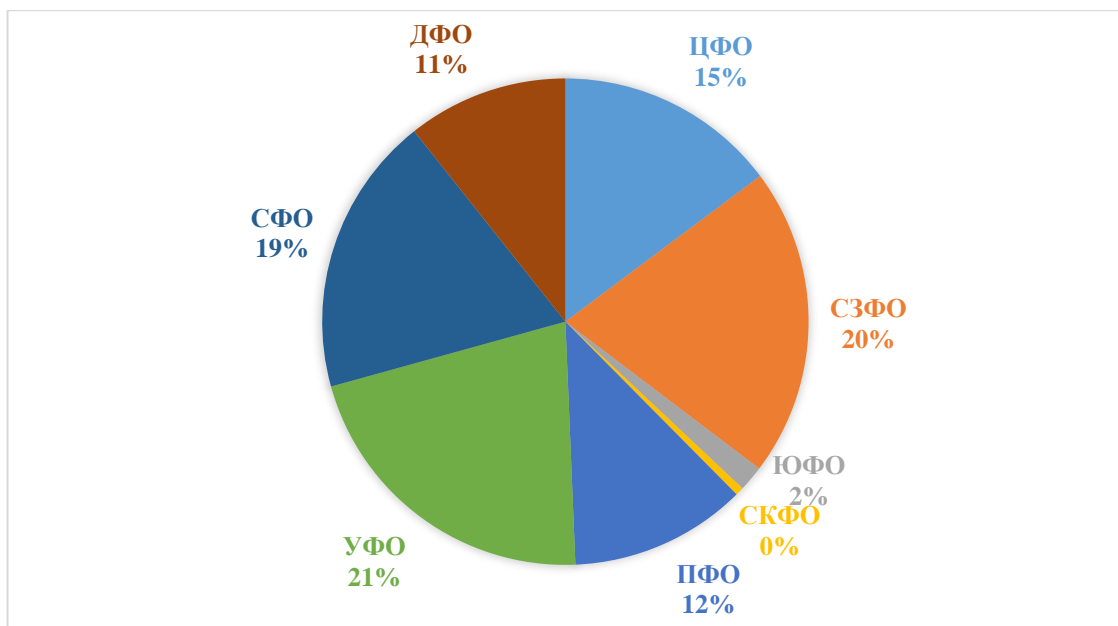


Рисунок 37 – Заболеваемость БЛ по ФО РФ в период 2005-2021 гг.

Далее внутри каждого ФО со средними наивысшими показателями заболеваемости БЛ нами были выделены наиболее неблагополучные субъекты РФ. Наибольший вклад в заболеваемость БЛ в УФО внесли: Свердловская (14,9±5,3 на 100 тыс. населения), Курганская (5,7±3,0 на 100 тыс. населения) и Тюменская (5,6±3,2 на 100 тыс. населения) области; в СЗФО: Вологодская (22,1±9,7 на 100 тыс. населения), Калининградская (10,2±5,8 на 100 тыс. населения), Псковская (8,5±7,6 на 100 тыс. населения), Новгородская области (6,7±3,8 на 100 тыс. населения), Республика Карелия (6,5±2,2 на 100 тыс. населения), г. Санкт-Петербург (6,4±2,3 на 100 тыс. населения), Архангельская (5,0±2,1 на 100 тыс. населения) и Ленинградская области (4,9±3,0 на 100 тыс. населения); в СФО: Томская область (18,2±9,0 на 100 тыс. населения), Республика Тыва (14,7±12,1 на 100 тыс. населения), Республика Хакасия (9,7±4,5 на 100 тыс. населения), Красноярский край (10,2±3,1 на 100 тыс. населения), Республика Алтай (9,3±2,6 на 100 тыс. населения), Новосибирская (8,6±3,2 на 100 тыс. населения); Кемеровская (6,9±2,5 на 100 тыс. населения), Иркутская области (5,1±1,6 на 100 тыс. населения) (Таблица 27, Рисунки 38, 40 и 41).

Таблица 27 – Наиболее эндемичные по заболеваемости БЛ ФО и субъекты РФ в период 2005-2021 гг.

Субъекты РФ	Количество случаев за 17 лет (абс. значение)	Средний показатель за 17 лет (на 100 тыс. населения) ± стандартное отклонение
УФО		
Курганская область	902	5,7±3,0
Свердловская область	10980	14,9±5,3
Тюменская область	1324	5,6±3,2
Ханты-Мансийский автономный округ	437	1,7±0,9
Ямало-Ненецкий автономный округ	40	0,4±0,3
Челябинская область	2594	4,3±2,5
СФО		
Республика Алтай	335	9,3±2,6
Республика Бурятия	456	2,8±1,0
Республика Тыва	786	14,7±12,1
Республика Хакасия	888	9,7±4,5
Алтайский край	717	1,7±0,6
Забайкальский край	767	4,2±2,5
Красноярский край	5046	10,2±3,1
Иркутская область	2096	5,1±1,6
Кемеровская область	3246	6,9±2,5
Новосибирская область	3951	8,6±3,2
Омская область	335	1,0±0,6
Томская область	3256	18,2±9,0
СЗФО		
г. Санкт-Петербург	5360	6,4±2,3
Республика Карелия	719	6,5±2,2
Республика Коми	145	1,0±0,6
Архангельская область	1015	5,0±2,1
Ненецкий автономный округ	2	0,3±0,8

Продолжение Таблицы 27

Вологодская область	4545	22,1+9,7
Калининградская область	1654	10,2+5,8
Ленинградская область	1420	4,9+3,0
Мурманская область	69	0,3+0,5
Новгородская область	727	6,7+3,8
Псковская область	1006	8,5+7,6

Примечание: с 2019 г. Республика Бурятия и Забайкальский край входят в ДФО, но в диссертационной работе для корректного анализа данных эти субъекты РФ учитывались в СФО.

Среди всех субъектов самая высокая среднемноголетняя заболеваемость БЛ была выявлена в Вологодской области, среднемноголетний показатель превысил среднероссийский в 4,6 раза, в Томской области – в 3,7 раза, Свердловской области – в 3 раза, и Республике Тыва – почти в 3 раза (Таблица 27).

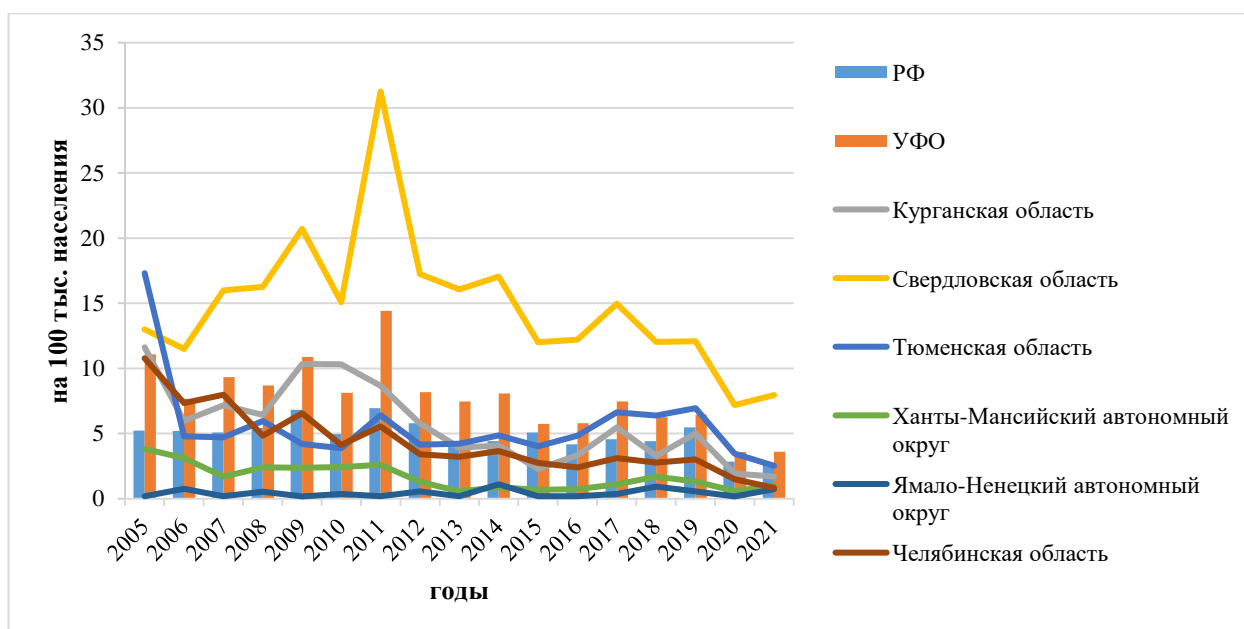


Рисунок 38 – Заболеваемость БЛ по субъектам УФО в 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Заболеваемость БЛ в Свердловской области, так же как и в УФО в целом, была выше средней по России. Динамика заболеваемости БЛ практически полностью повторяла тренды, наблюдаемые в регионе и в России (Рисунок 39).

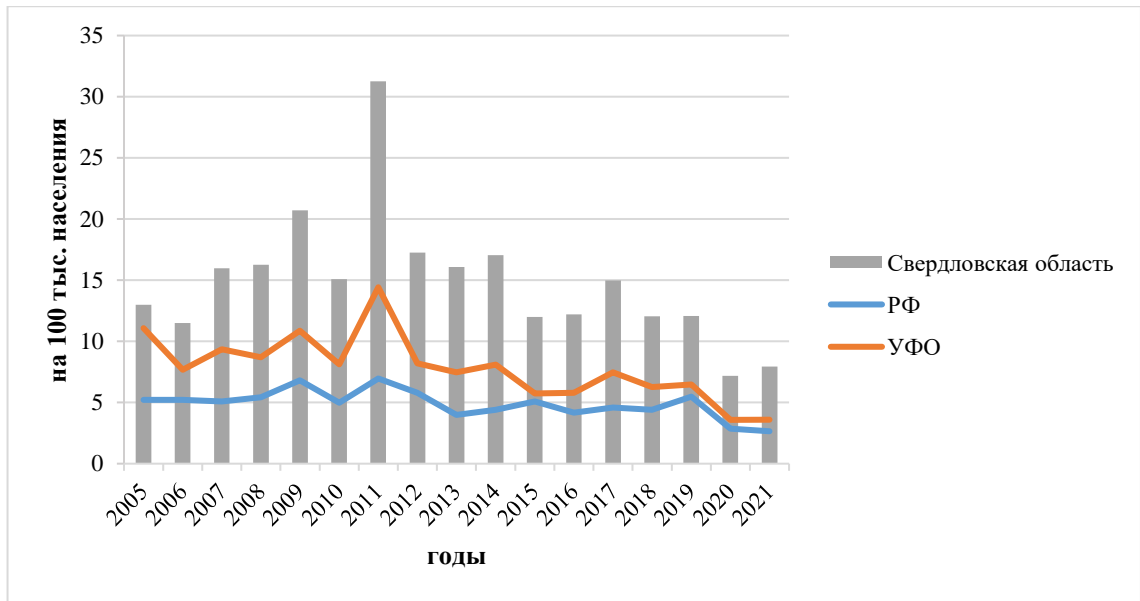


Рисунок 39 – Динамика заболеваемости БЛ в УФО РФ и Свердловской области в период 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

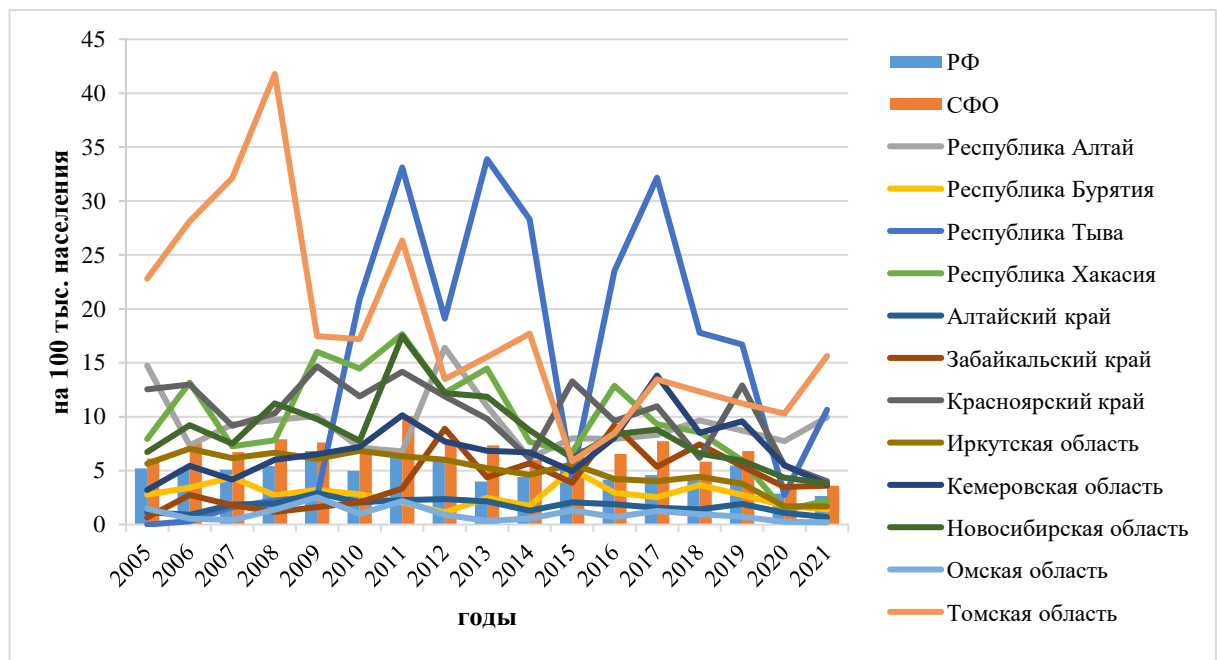


Рисунок 40 – Заболеваемость БЛ по субъектам СФО в 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

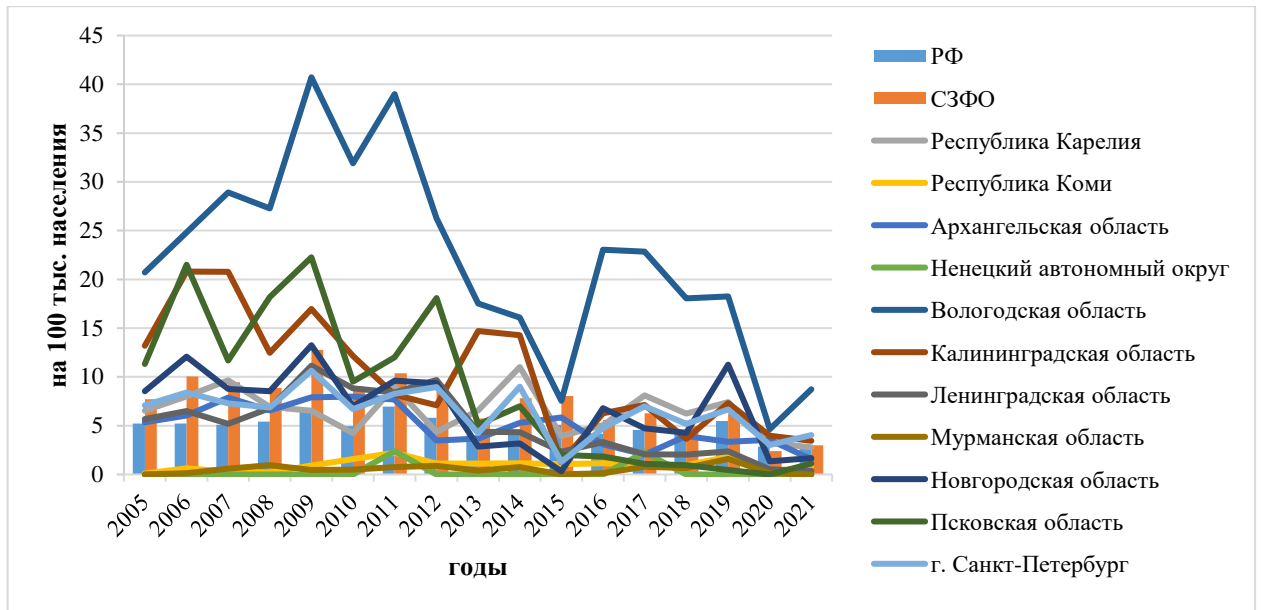


Рисунок 41 – Заболеваемость БЛ по субъектам СЗФО в 2005-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Анализ возрастной структуры заболеваемости БЛ среди детского (0-17 лет включительно) и взрослого (18 лет и старше) населения в РФ выявил преобладание в заболеваемости БЛ взрослого населения (90,1%) по сравнению с детским (9,9%) (Рисунки 42 и 43).



Рисунок 42 – Возрастная структура заболевших БЛ в РФ за период 2005-2021 гг.

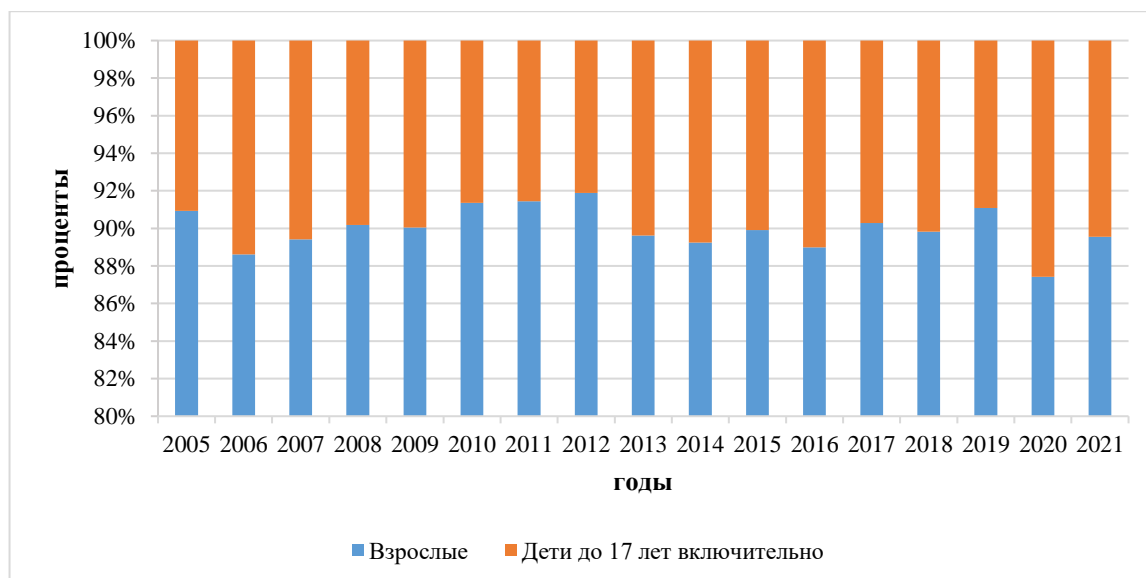


Рисунок 43 – Динамика заболеваемости БЛ среди взрослого и детского населения в РФ в период 2005-2021 гг.

При анализе удельного веса сельского и городского населения в структуре заболеваемости БЛ преобладали горожане (81,3%) по сравнению с сельскими жителями (18,7%) (Рисунки 44 и 45).

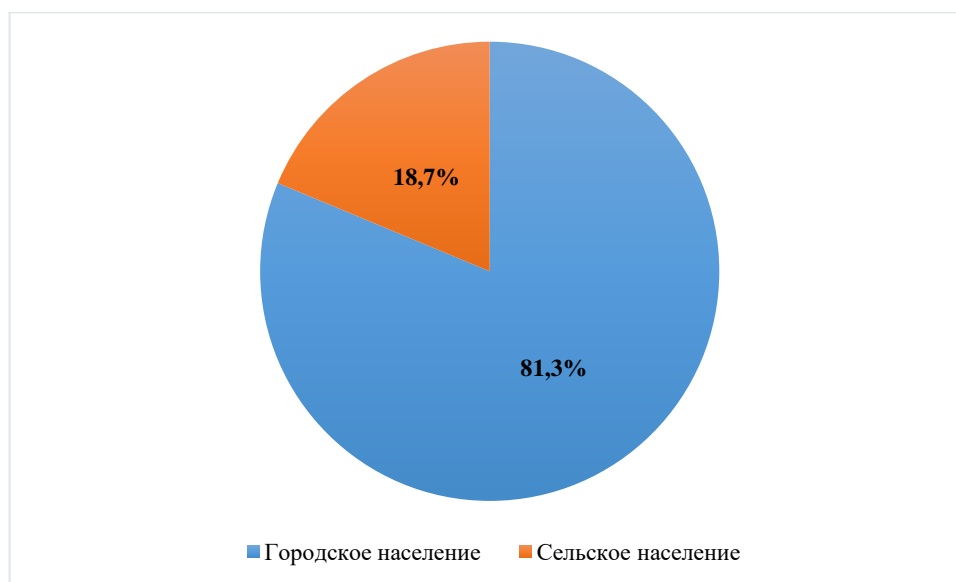


Рисунок 44 – Доля сельского и городского населения в структуре заболеваемости БЛ в РФ в период 2005-2021 гг.

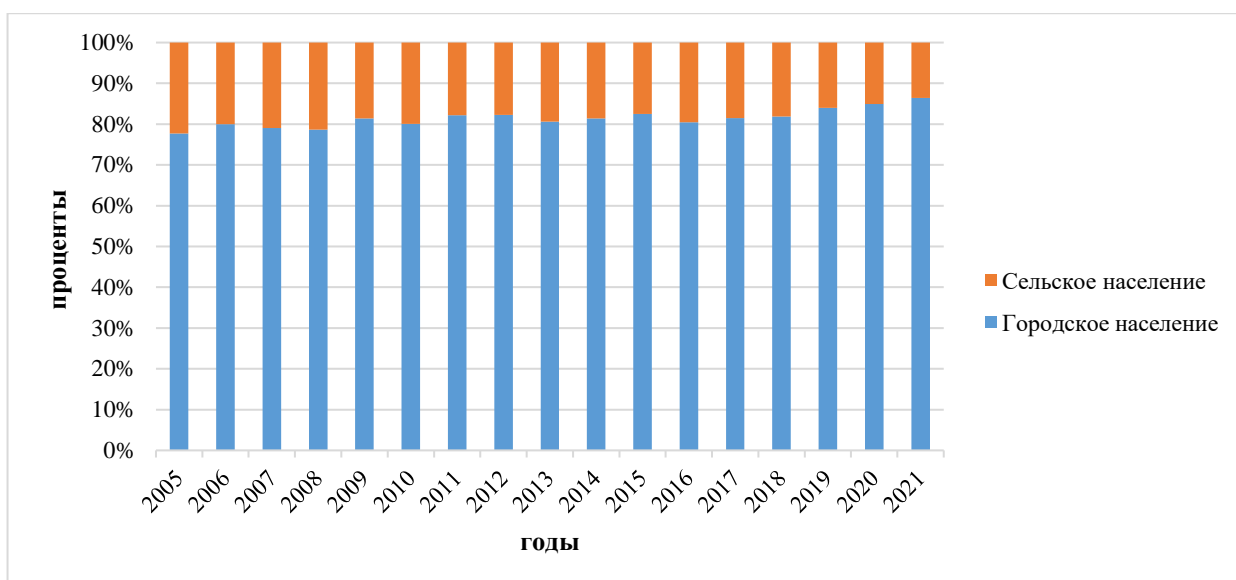


Рисунок 45 – Динамика заболеваемости БЛ сельского и городского населения в РФ в период 2005-2021 г.

За 17-летний период наблюдения было зарегистрировано 3 случая летального исхода от БЛ только среди взрослого населения – по одному случаю в 2009 г. в ЦФО (г. Москва), в 2010 г. и 2012 г. в СФО (Забайкальский край).

Таким образом, за период наблюдения 2005-2021 гг. среднемноголетний показатель заболеваемости населения БЛ в РФ составил 4,89 на 100 тыс. населения. Выявлены наиболее эндемичные ФО и субъекты РФ внутри этих округов: СФО – Томская область, Республики Тыва, Хакасия, Алтай, Красноярский край, Новосибирская, Кемеровская, Иркутская области; УФО – Свердловская, Курганская, Тюменская области; СЗФО – Вологодская, Калининградская, Псковская, Новгородская области, Республика Карелия, г. Санкт-Петербург, Архангельская и Ленинградская области. В возрастной структуре заболеваемости преобладали взрослые (90,1%) городские (81,3%) жители. За период наблюдения от БЛ в РФ умерло 3 взрослых человек из г. Москва и Забайкальского края.

В главе 3.5 на примере Свердловской области – территории эндемичной по БЛ будет детально рассмотрена структура, уровни, факторы риска заболеваемости БЛ.

3.4. Динамика, территориальное распределение и структура заболеваемости моноцитарным эрлихиозом и гранулоцитарным анаплазмозом человека на территории Российской Федерации и по субъектам (2013-2021 гг.)

Среди инфекций, передающихся иксодовыми клещами эпидемиологической значимостью характеризуются моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ, риккетсиоз, вызываемый *Ehrlichia chaffeensis* и *Ehrlichia muris*) и гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ, риккетсиоз, вызываемый *Anaplasma phagocytophilum*), официальная регистрация случаев заболевания которыми в РФ ведется только с 2013 г.

В этой связи проведен анализ заболеваемости МЭЧ и ГАЧ в период 2013-2021 гг., который показал, что в последние годы заболеваемость данными инфекциями имеет выраженную тенденцию к снижению как среди взрослого, так и среди детского населения (Рисунки 46 и 47).

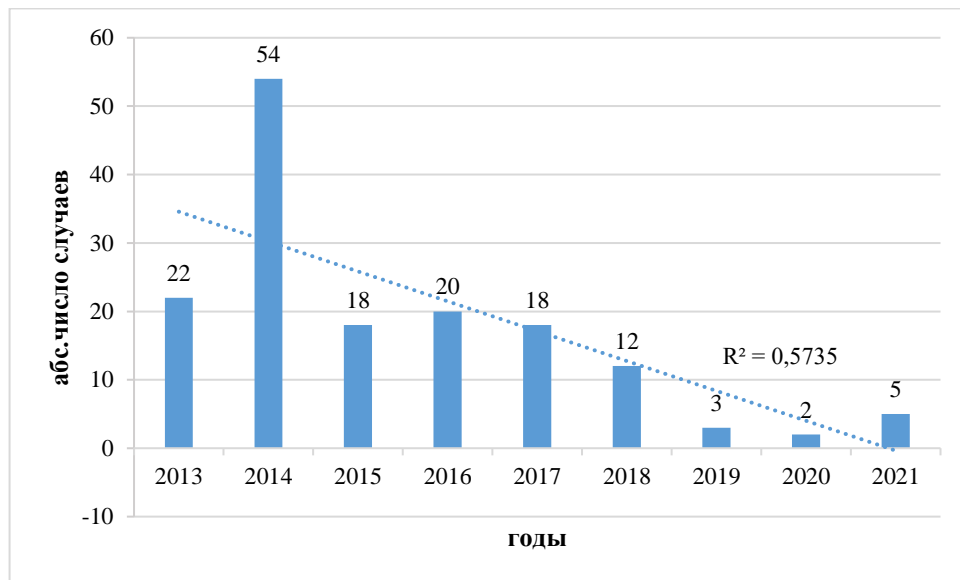


Рисунок 46 – Заболеваемости МЭЧ в период 2013-2021 гг. (абс. число случаев)

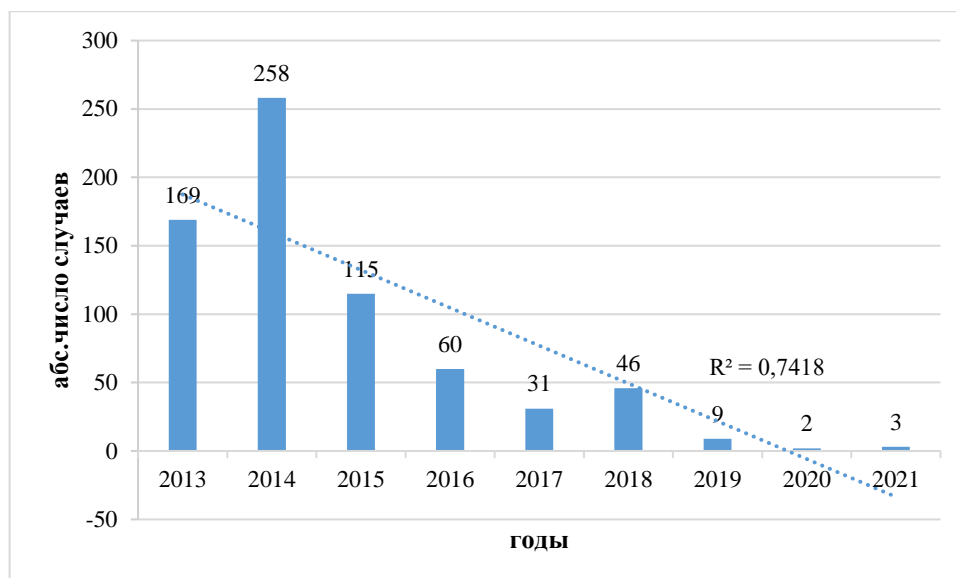


Рисунок 47 – Заболеваемости ГАЧ в период 2013-2021 гг. (абс. число случаев)

За 9-летний период наблюдения было зарегистрировано 154 случая заболевания МЭЧ и 693 случая ГАЧ. Среднегодовой показатель заболеваемости МЭЧ составил $0,01 \pm 0,01$ на 100 тыс. населения, ГАЧ – $0,05 \pm 0,06$ на 100 тыс. населения. Максимальное число зарегистрированных случаев как МЭЧ, так и ГАЧ наблюдалось в 2014 г. и составило 54 ($0,04$ на 100 тыс. населения) и 258 ($0,18$ на 100 тыс. населения) случаев соответственно. Среди заболевших МЭЧ в 2014 г. 8 случаев были зарегистрированы среди детей до 17 лет включительно, среди заболевших ГАЧ на детей до 17 лет включительно пришлось 47 случаев заболевания. В 2020 г. и 2021 г. было зарегистрировано только 2 и 5 случаев заболевания МЭЧ, соответственно, при этом среди детского населения в эти годы – 1 и 2 случая, соответственно. В 2020 г. было зарегистрировано 2 случая ГАЧ, а в 2021 г. – 3 случая и только среди взрослого населения (Таблицы 28 и 29, Рисунки 48 и 49). Резкое снижение регистрируемой заболеваемости данными инфекциями в РФ в последние годы вероятно связано с ухудшением качества диагностики данных нозологий, а не снижением активности природных очагов МЭЧ и ГАЧ на территории РФ. Это может быть обусловлено как отсутствием настороженности клиницистов в отношении данных заболеваний, так и, прежде всего, отсутствием в настоящее время на рынке зарегистрированных серологических тест-систем для выявления специфических антител к возбудителям МЭЧ и ГАЧ. Единственный отечественный производитель ИФА наборов для выявления специфических антител к возбудителям МЭЧ и ГАЧ компания «Омникс» (г. Санкт-Петербург) выпускает их на сегодняшний день только для использования в научных целях.

Таблица 28 – Заболеваемость МЭЧ в России в 2013-2021 гг.

Территории	Показатели	Годы									Среднеголетний показатель заболеваемости ± стандартное отклонение
		2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
РФ	абс.	22	54	18	20	18	12	3	2	5	17±15
	на 100 тыс.	0,02	0,04	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01±0,01
ЦФО	абс.	0	1	0	1	1	0	0	0	1	менее 1 случая
	на 100 тыс.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
СЗФО	абс.	4	9	5	1	1	2	0	0	0	более 1 случая
	на 100 тыс.	0,03	0,07	0,04	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02±0,02
ЮФО	абс.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	на 100 тыс.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
СКФО	абс.	0	1	1	0	0	0	0	0	0	менее 1 случая
	на 100 тыс.	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,003±0,004
ПФО	абс.	5	13	2	3	0	0	0	0	0	более 1 случая
	на 100 тыс.	0,02	0,04	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01±0,01
УФО	абс.	3	11	2	1	3	1	0	0	0	более 1 случая
	на 100 тыс.	0,02	0,09	0,02	0,01	0,02	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02±0,03
СФО	абс.	9	17	8	13	11	6	3	1	2	8±5
	на 100 тыс.	0,05	0,09	0,04	0,07	0,06	0,03	0,02	0,01	0,01	0,05±0,03
ДФО	абс.	1	2	0	1	2	3	0	1	2	более 1 случая
	на 100 тыс.	0,02	0,03	0,00	0,02	0,03	0,05	0,00	0,01	0,02	0,02±0,02

Таблица 29 – Заболеваемость ГАЧ в России в 2013-2021 гг.

Территории	Показатели	Годы									Среднеголетний показатель заболеваемости ± стандартное отклонение
		2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
РФ	абс.	169	258	115	60	31	46	9	2	3	77±83
	на 100 тыс.	0,12	0,18	0,08	0,04	0,02	0,03	0,01	0,00	0,00	0,05±0,06
ЦФО	абс.	4	26	2	5	2	0	3	1	2	5±8
	на 100 тыс.	0,01	0,07	0,01	0,01	0,01	0	0,01	0,00	0,01	0,02±0,06
СЗФО	абс.	45	37	27	2	2	10	0	1	0	14±17
	на 100 тыс.	0,33	0,27	0,2	0,01	0,01	0,07	0,00	0,01	0,00	0,1±0,1

Продолжение Таблицы 29

ЮФО	абс.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	на 100 тыс.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
СКФО	абс.	0	0	1	1	0	2	3	0	0	менее 1 случая
	на 100 тыс.	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,02	0,03	0,00	0,00	0,01±0,01
ПФО	абс.	30	104	53	6	0	0	0	0	0	21±34
	на 100 тыс.	0,1	0,35	0,18	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07±0,1
УФО	абс.	25	49	13	21	13	11	1	0	0	15±15
	на 100 тыс.	0,21	0,4	0,11	0,17	0,11	0,09	0,01	0,00	0,00	0,12±0,1
СФО	абс.	64	41	19	25	13	12	2	0	1	20±20
	на 100 тыс.	0,33	0,21	0,1	0,13	0,07	0,06	0,01	0,00	0,01	0,1±0,1
ДФО	абс.	1	1	0	0	1	11	0	0	0	2±3
	на 100 тыс.	0,02	0,02	0	0	0,02	0,18	0,00	0,00	0,00	0,03±0,2

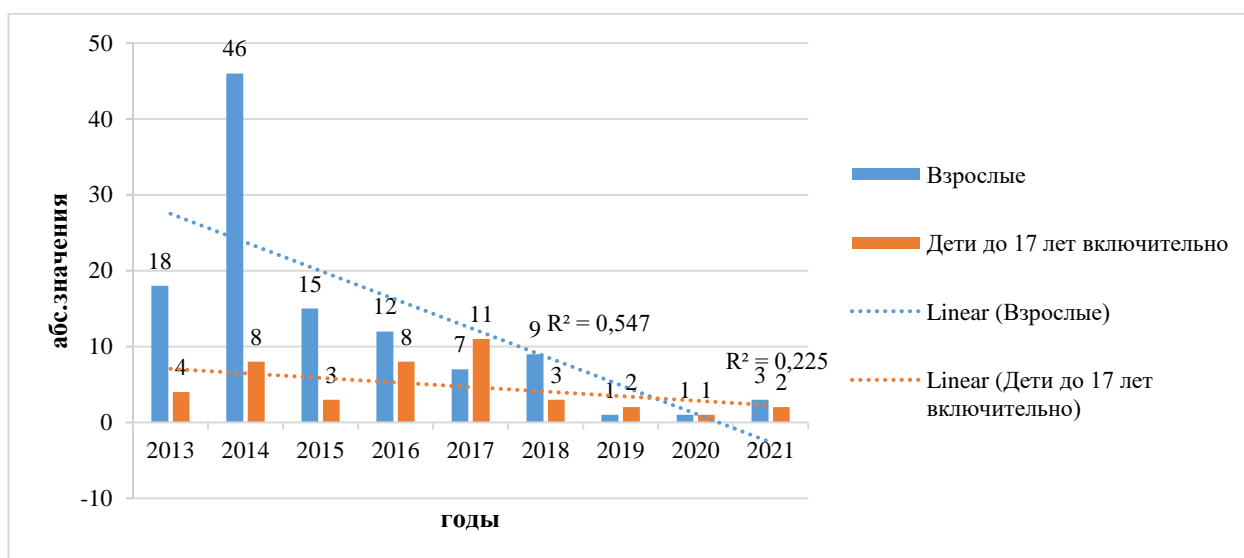


Рисунок 48 – Динамика заболеваемости МЭЧ в период 2013-2021 гг. (абс. число случаев) среди взрослых и детей

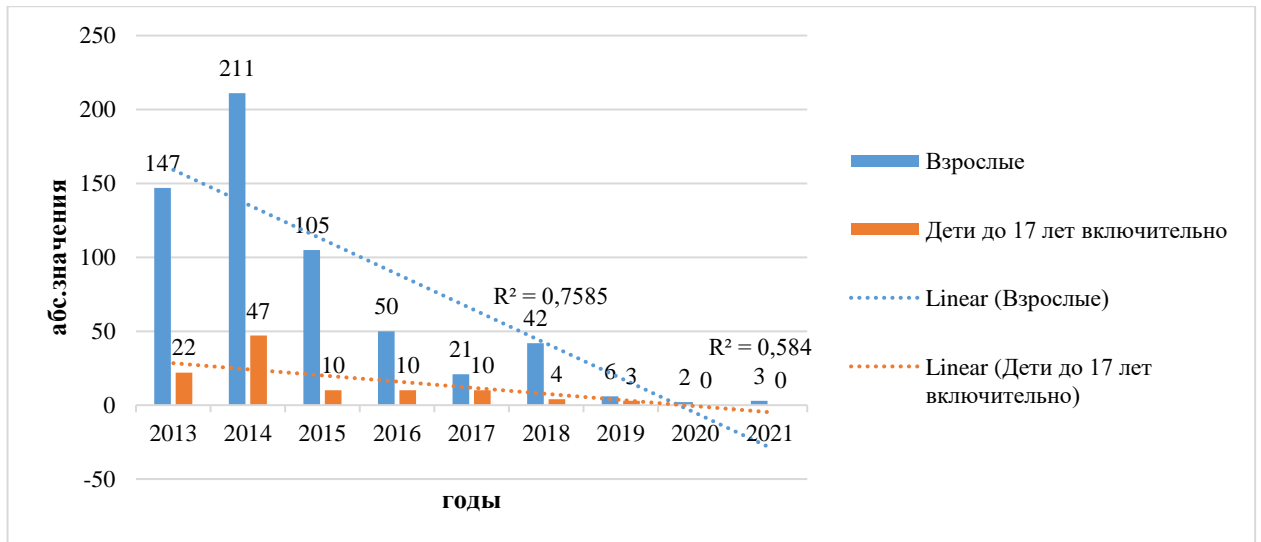


Рисунок 49 – Динамика заболеваемости ГАЧ в период 2013-2021 гг. (абс. число случаев) среди взрослых и детей

Превышение среднемноголетнего уровня регистрируемой заболеваемости МЭЧ отмечено в СФО ($0,05 \pm 0,03$ на 100 тыс. населения), УФО ($0,02 \pm 0,03$ на 100 тыс. населения), СЗФО ($0,02 \pm 0,02$ на 100 тыс. населения) и ДФО ($0,02 \pm 0,02$ на 100 тыс. населения). В ЦФО, СКФО и ПФО заболеваемость МЭЧ была ниже среднероссийского показателя (Таблица 30, Рисунок 50).

Наибольший вклад в заболеваемость МЭЧ (усредненные показатели) в СФО внесли: Республика Алтай ($0,7 \pm 1,1$ на 100 тыс. населения), Томская область ($0,2 \pm 0,2$ на 100 тыс. населения), Республика Тыва ($0,2 \pm 0,5$ на 100 тыс. населения), Республика Хакасия ($0,16 \pm 0,16$ на 100 тыс. населения), Красноярский край ($0,09 \pm 0,08$ на 100 тыс. населения), Кемеровская область ($0,05 \pm 0,07$ на 100 тыс. населения), Забайкальский край ($0,04 \pm 0,1$ на 100 тыс. населения); в УФО: Тюменская ($0,07 \pm 0,09$ на 100 тыс. населения), Челябинская ($0,03 \pm 0,07$ на 100 тыс. населения) области; в СЗФО: Вологодская область ($0,15 \pm 0,14$ на 100 тыс. населения), Республика Карелия ($0,09 \pm 0,15$ на 100 тыс. населения), Новгородская область ($0,04 \pm 0,09$ на 100 тыс. населения); в ДФО: Приморский край ($0,05 \pm 0,07$ на 100 тыс. населения).

Таблица 30 – Наиболее эндемичные по заболеваемости МЭЧ ФО и субъекты РФ в период 2013-2021 гг.

Субъекты РФ	Количество случаев за 9 лет (абс. значение)	Средний показатель за 9 лет (на 100 тыс. населения) \pm стандартное отклонение
УФО		
Курганская область	0	0,00
Свердловская область	0	0,00
Тюменская область	12	0,07\pm0,09
Ханты-Мансийский автономный округ	1	0,007 \pm 0,02
Ямало-Ненецкий автономный округ	0	0
Челябинская область	8	0,03\pm0,07

Продолжение Таблицы 30

СФО		
Республика Алтай	14	0,7+1,1
Республика Бурятия	1	0,001
Республика Тыва	7	0,2+0,5
Республика Хакасия	6	0,16+0,16
Алтайский край	0	0,00
Забайкальский край	4	0,04+0,1
Красноярский край	19	0,09+0,08
Иркутская область	3	0,01+0,1
Кемеровская область	11	0,05+0,07
Новосибирская область	0	0,00
Омская область	0	0,00
Томская область	13	0,2+0,2
СЗФО		
г. Санкт-Петербург	2	0,004±
Республика Карелия	4	0,07+0,15
Республика Коми	0	0,00
Архангельская область	0	0,00
Ненецкий автономный округ	0	0,00
Вологодская область	14	0,13+0,14
Калининградская область	0	0,00
Ленинградская область	0	0,00
Мурманская область	0	0,00
Новгородская область	2	0,04+0,09
Псковская область	0	0,00
ДФО		
Республика Саха	0	0,00
Камчатский край	0	0,00
Приморский край	8	0,05+0,07
Хабаровский край	1	0,008
Амурская область	0	0,00
Магаданская область	0	0,00
Сахалинская область	0	0,00
Еврейская автономная область	0	0,00
Чукотский автономный округ	0	0,00

Примечание: с 2019 г. Республика Бурятия и Забайкальский край входят в ДФО, но в диссертационной работе для корректного анализа данных эти субъекты РФ учитывались в СФО.

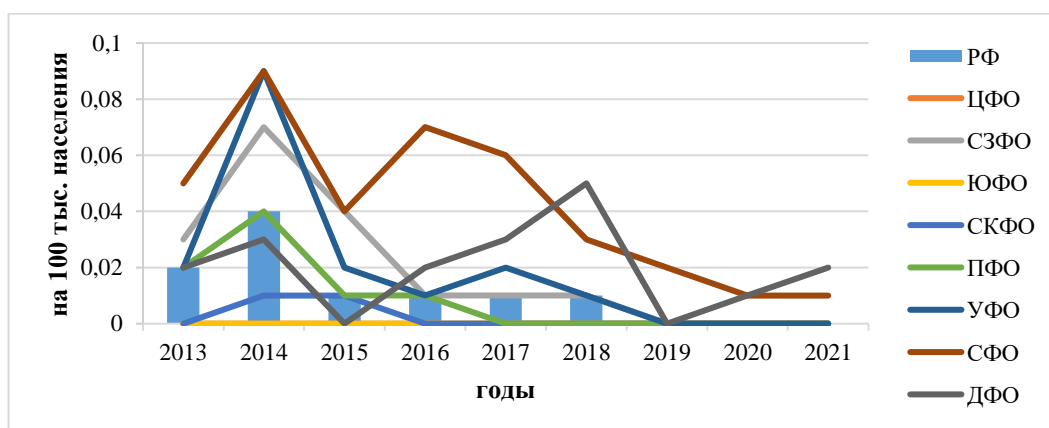


Рисунок 50 – Динамика заболеваемости МЭЧ по ФО РФ в период 2013-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Превышение среднемноголетнего уровня регистрируемой заболеваемости ГАЧ отмечено в УФО (0,05±0,06 на 100 тыс. населения), СЗФО (0,1±0,1 на 100 тыс. населения), СФО (0,1±0,1 на 100 тыс. населения) и ПФО (0,07±0,1 на 100 тыс. населения). На территориях ЦФО, СКФО и ДФО заболеваемость ГАЧ была ниже среднего уровня по стране (Таблица 30).

Наибольший вклад в заболеваемость ГАЧ в УФО внесли: Тюменская (0,07±0,09 на 100 тыс. населения), Челябинская (0,03±0,07 на 100 тыс. населения), Курганская (0,05±0,14 на 100 тыс. населения) области, Ханты-Мансийский автономный округ (0,06±0,08 на 100 тыс. населения), Свердловская область (0,02±0,06 на 100 тыс. населения); в СФО: Республика Алтай (1,0±1,3 на 100 тыс. населения), Республика Хакасия (0,56±1,3 на 100 тыс. населения), Томская область (0,2±0,38 на 100 тыс. населения), Красноярский край (0,2±0,2 на 100 тыс. населения), Алтайский край (0,1±0,2 на 100 тыс. населения), Омская (0,1±0,13 на 100 тыс. населения), Иркутская (0,05±0,06 на 100 тыс. населения) области, Забайкальский край (0,02 на 100 тыс. населения); в СЗФО: Вологодская (0,8±1,0 на 100 тыс. населения), Новгородская (0,34±0,45 на 100 тыс. населения), Архангельская (0,16±0,38 на 100 тыс. населения) области, Республика Карелия (0,02 на 100 тыс. населения); в ПФО: Пермский край (0,7±1,16 на 100 тыс. населения) и Кировская область (0,19±0,28 на 100 тыс. населения) (Таблица 31, Рисунок 51).

Таблица 31 – Наиболее эндемичные по заболеваемости ГАЧ ФО и субъекты РФ в период 2013-2021 гг.

Субъекты РФ	Количество случаев за 9 лет (абс. значение)	Средний показатель за 9 лет (на 100 тыс. населения) ± стандартное отклонение
УФО		
Курганская область	4	0,05±0,14
Свердловская область	7	0,02±0,06
Тюменская область	90	0,79±0,6
Ханты-Мансийский автономный округ	8	0,06±0,08
Ямало-Ненецкий автономный округ	0	0,00
Челябинская область	24	0,09±0,17
СФО		
Республика Алтай	20	1,0±1,3
Республика Бурятия	0	0,00
Республика Тыва	0	0,00
Республика Хакасия	27	0,56±1,3
Алтайский край	23	0,1±0,2
Забайкальский край	2	0,02
Красноярский край	52	0,2±0,2
Иркутская область	10	0,05±0,06
Кемеровская область	2	0,01
Новосибирская область	0	0,00
Омская область	17	0,1±0,13
Томская область	23	0,2±0,38

Продолжение Таблицы 31

СЗФО		
г. Санкт-Петербург	1	0,002
Республика Карелия	1	0,02
Республика Коми	0	0,00
Архангельская область	17	0,16+0,38
Ненецкий автономный округ	0	0,00
Вологодская область	86	0,8+1,0
Калининградская область	0	0,00
Ленинградская область	0	0,00
Мурманская область	0	0,00
Новгородская область	19	0,34+0,45
Псковская область	0	0,00
ПФО		
Республика Башкортостан	0	0,00
Республика Марий Эл	0	0,00
Республика Мордовия	0	0,00
Республика Татарстан	0	0,00
Удмуртская Республика	0	0,00
Чувашская Республика	0	0,00
Пермский край	170	0,7+1,16
Кировская область	22	0,19+0,28
Нижегородская область	0	0,00
Оренбургская область	0	0,00
Пензенская область	0	0,00
Самарская область	0	0,00
Саратовская область	0	0,00
Ульяновская область	1	0,009

Примечание: с 2019 г. Республика Бурятия и Забайкальский край входят в ДФО, но в диссертационной работе для корректного анализа данных эти субъекты РФ учитывались в СФО.

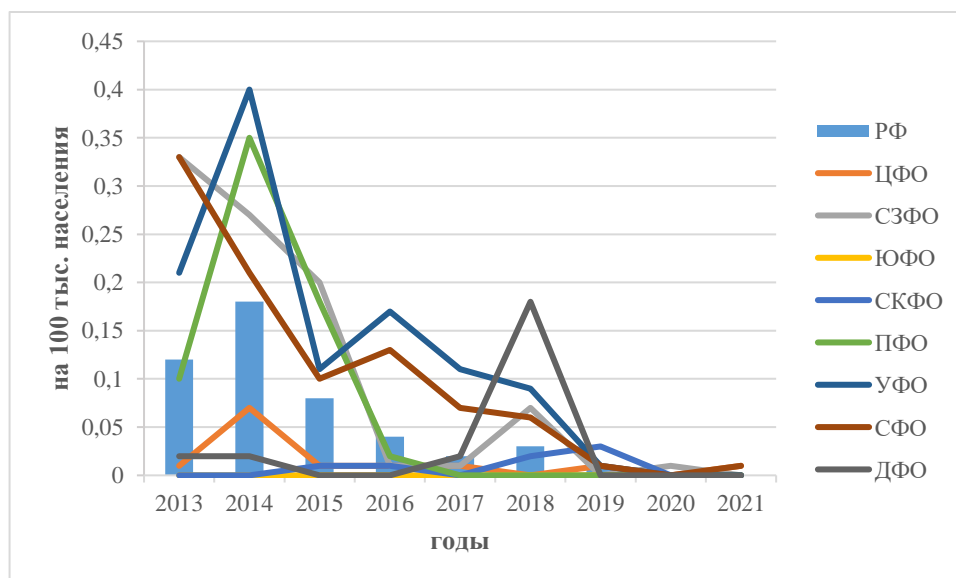


Рисунок 51 – Динамика заболеваемости ГАЧ по ФО РФ в период 2013-2021 гг. (на 100 тыс. населения)

Анализ возрастной структуры в изучаемый период заболеваемости МЭЧ среди детского (0-17 лет включительно) и взрослого (18 лет и старше) населения в РФ выявил преобладание взрослого (74,0%) по сравнению с детским (26,0%) населением (Рисунки 52 и 53).

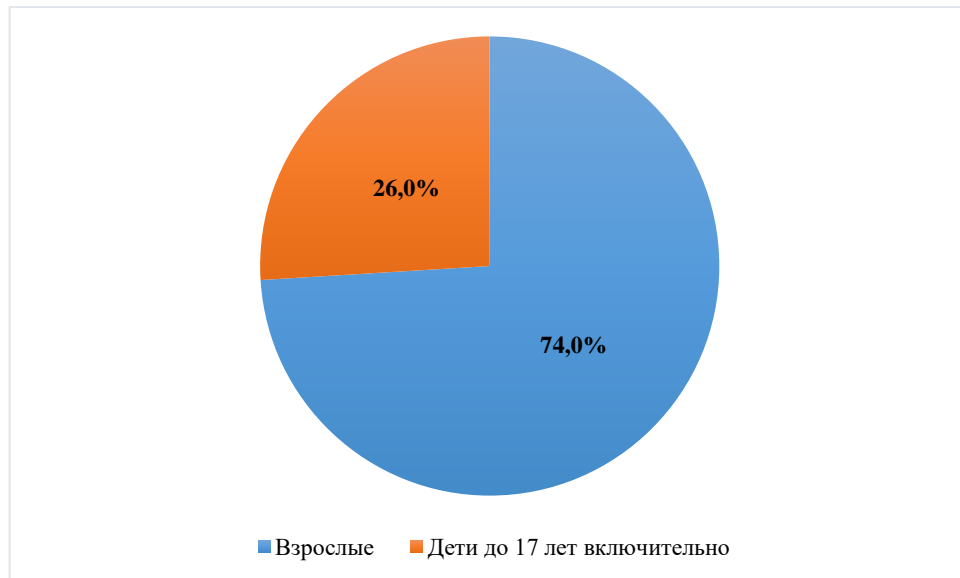


Рисунок 52 – Доля взрослого и детского населения в возрастной структуре заболеваемости МЭЧ за изученный период (2013-2021 гг.)

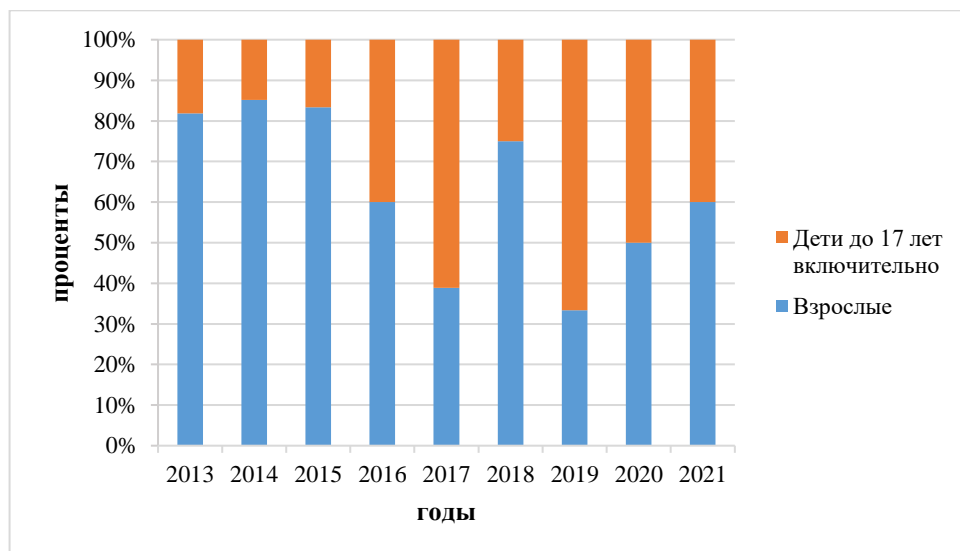


Рисунок 53 – Динамика заболеваемости МЭЧ взрослых и детей в РФ за период 2013-2021 гг. (в процентах)

При анализе возрастной структуры в изучаемый период заболеваемости ГАЧ среди детского (0-17 лет включительно) и взрослого (18 лет и старше) населения в РФ также выявлено преобладание взрослого (84,7%) по сравнению с детским (15,3%) населением (Рисунки 54 и 55).



Рисунки 54 – Доля взрослого и детского населения в возрастной структуре заболеваемости ГАЧ за изученный период (2013-2021 гг.)

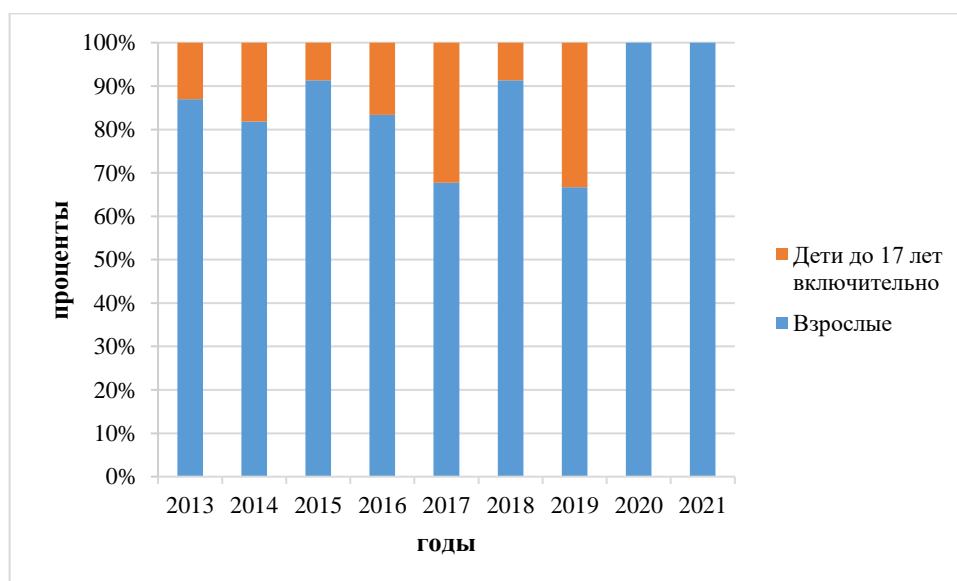


Рисунок 55 – Динамика заболеваемости ГАЧ взрослых и детей в РФ период 2013-2021 гг. (в процентах)

При анализе удельного веса сельского и городского населения заболевших МЭЧ за наблюдаемый период установлено преобладание городского населения (76,0%), доля сельского населения составила 24,0% (Рисунки 56, и 57).



Рисунки 56 – Доля городского и сельского населения среди заболевших МЭЧ в РФ за период 2013-2021 гг.

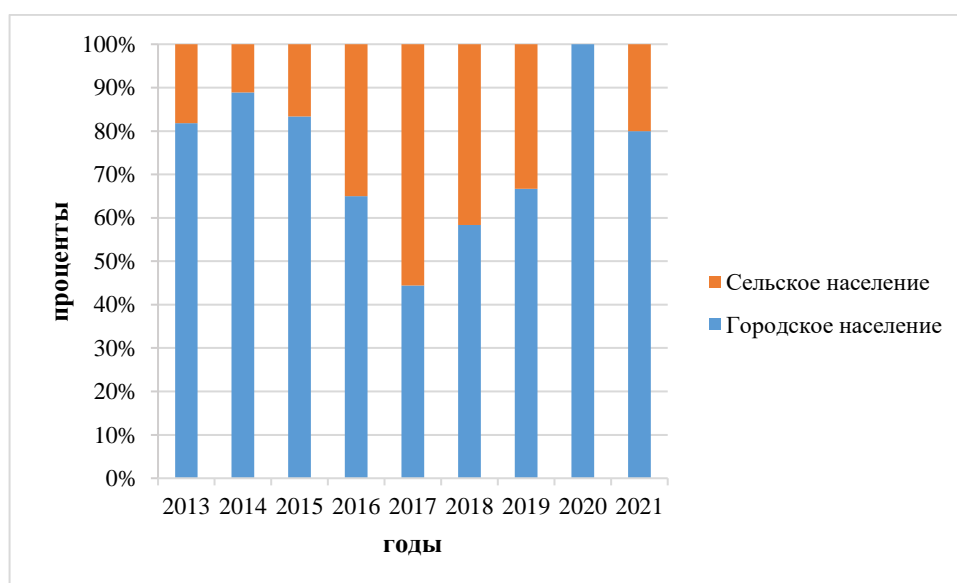


Рисунок 57 – Динамика заболеваемости МЭЧ среди городского и сельского населения в РФ в период 2013-2021 гг.

При изучении удельного веса сельского и городского населения заболевших ГАЧ за наблюдаемый период установлено преобладание городского населения (74,9), доля сельского населения составила 25,1% (Рисунки 58 и 59).

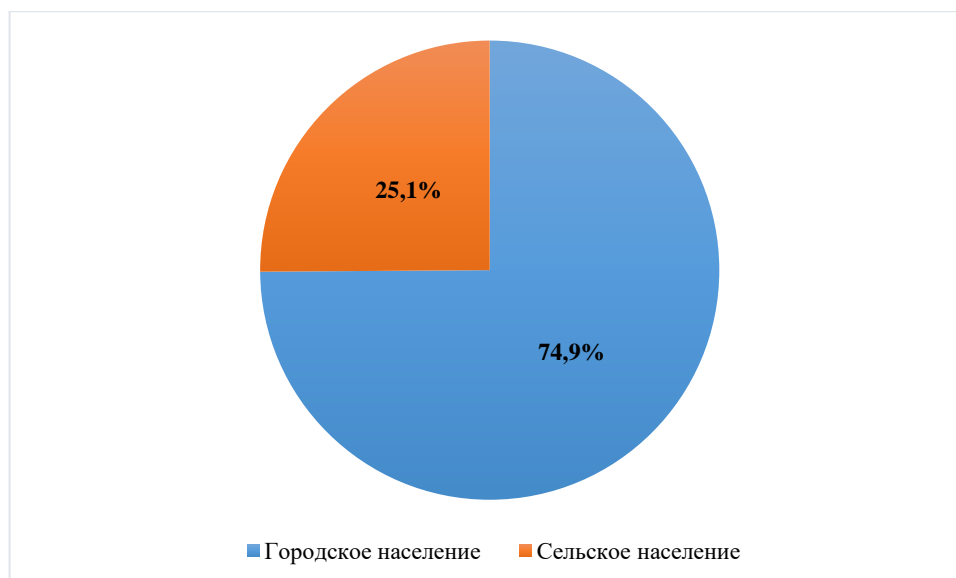


Рисунок 58 – Доля городского и сельского населения среди заболевших ГАЧ в РФ в период 2013-2021 гг.

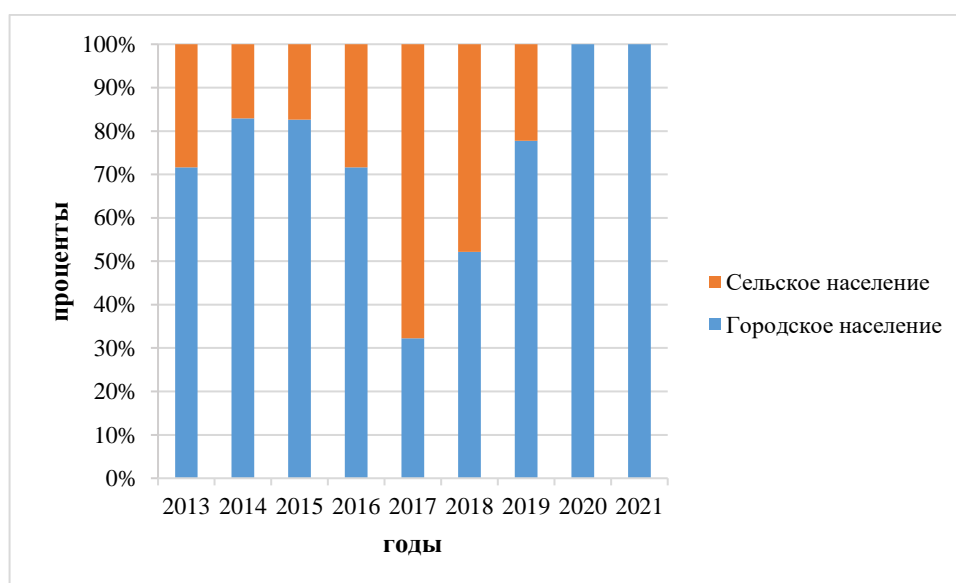


Рисунок 59 – Динамика заболеваемости ГАЧ среди городского и сельского населения в РФ в период 2013-2021 гг.

За все годы изучения летальных исходов при МЭЧ и ГАЧ зафиксировано не было.

Таким образом, в последние годы наблюдается резкое снижение заболеваемости как МЭЧ, так и ГАЧ. Наиболее эндемичными по МЭЧ ФО с субъектами являются: СФО – Республика Алтай, Томская область, Республики Тыва, Хакасия, Красноярский край, Кемеровская область, Забайкальский край; УФО – Тюменская и Челябинская области; СЗФО – Вологодская область, Республика Карелия, Новгородская область; ДФО – Приморский край.

Наиболее эндемичными по ГАЧ ФО с субъектами являются: УФО – Тюменская, Челябинская, Курганская области, Ханты-Мансийский автономный округ, Свердловская область; СФО – Республики Алтай, Хакасия, Томская область, Красноярский и Алтайский края, Омская, Иркутская области, Забайкальский край; СЗФО – Вологодская, Новгородская, Архангельская области, Республика Карелия; ПФО – Пермский край и Кировская область.

Случаи МЭЧ и ГАЧ чаще регистрируются среди взрослого населения, преимущественно горожан. Летальных исходов от МЭЧ и ГАЧ за период наблюдения зарегистрировано не было.

3.5. Сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса клещевого энцефалита и болезни Лайма (на примере Свердловской области) (2005-2021 гг.)

Сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса КЭ и БЛ будет рассмотрен в данной главе на примере Свердловской области.

Территория Свердловской области является высокоэндемичной по КЭ и БЛ, как было ранее описано при анализе проявлений эпидемического процесса по субъектам РФ. Несмотря на то, что Свердловская область является единственным субъектом РФ, где активно проводится программа массовой вакцинопрофилактики и ее эпидемиологическая эффективность достигла более 98% [324], показатель заболеваемости КЭ в области продолжает превышать среднероссийский уровень в 2,1 раза, и средний показатель по УФО (РФ – $1,76 \pm 0,67$, УФО – $3,6 \pm 2,1$, Свердловская область – $3,7 \pm 2,0$ на 100 тыс. населения). Сохраняющиеся высокие показатели заболеваемости КЭ в Свердловской области, вероятно, связаны с общебиологическими закономерностями регуляции активности эпидемического процесса, на проявление которых оказывают существенное влияние как антропогенная трансформация естественных природных ландшафтов приводящая к увеличению численности населения на территориях природных очагов КЭ из-за интенсивного заселения пригородных зон, строительства крупных промышленных объектов, так и возросшая частота контактов населения с очагами за счет увеличения мобильности населения. Кроме того, в литературе дискутируется вопрос несоответствия циркулирующих природных штаммов вируса КЭ вакцинным. На территории Свердловской области доминирует сибирский подтип возбудителя, в то время как в основе отечественных и зарубежных вакцин лежат штаммы дальневосточного или европейского подтипов, то есть отличные от природных [249; 272; 273], с чем также может быть связана заболеваемость вакцинированных лиц.

Многолетняя динамика заболеваемости КЭ в Свердловской области характеризуется волнообразным течением с цикличностью в 3 года. Резкие подъемы заболеваемости КЭ отмечались в 1990, 1993, 1996 и 1999 гг. Пик заболеваемости КЭ пришелся на 1996 г., когда был

зарегистрирован 1861 случай заболевания КЭ, при уровне заболеваемости 42,1 на 100 тыс. населения, было отмечено 38 летальных исходов КЭ при показателе летальности – 2,0% [204].

За изучаемый период (2005-2021 гг.) самый высокий показатель заболеваемости КЭ был зафиксирован в 2005 г. – 10,1 на 100 тыс. населения (448 случаев заболевания), и начиная с этого года в области наметилась тенденция к снижению заболеваемости КЭ (Рисунок 60). Самый низкий уровень заболеваемости был отмечен в 2020 г., когда показатель заболеваемости составил 1,0 на 100 тыс. населения и было зарегистрировано всего 43 случая заболевания, т.е. в 10 раз меньше по сравнению с 2005 г. В 2019 и 2021 гг. уровень заболеваемости был одинаковым (2,3 на 100 тыс. населения), было зарегистрировано 100 и 99 случаев заболевания КЭ соответственно.

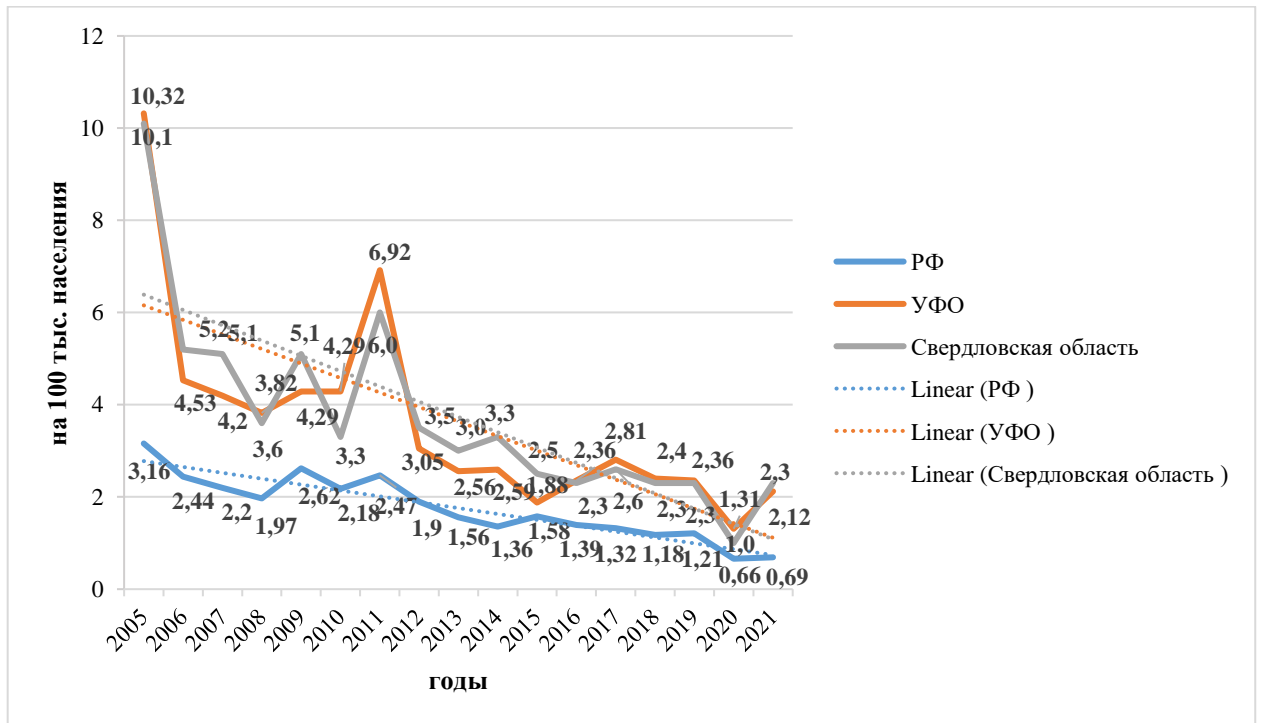


Рисунок 60 – Динамика заболеваемости КЭ в Свердловской области за период 2005-2021 г.

В ходе исследования было установлено, что для территории Свердловской области характерен трансмиссивный механизм передачи, доля которого в структуре механизмов и путей заражения вирусом КЭ в изученный период составила 77,0%, на алиментарный путь пришелся лишь 1,0%, доля неустановленного пути передачи составила 22,0% (Рисунок 61). Случаи алиментарного заражения вирусом КЭ были связаны с употреблением сырого козьего молока. Среди неустановленного пути передачи, связанного с отрицанием факта присасывания клеща или употребления в пищу сырого козьего молока, а также продуктов из него приготовленных,

был лесной фактор – посещение леса, либо пребывание в черте города (зачастую в лесопарковой зоне).

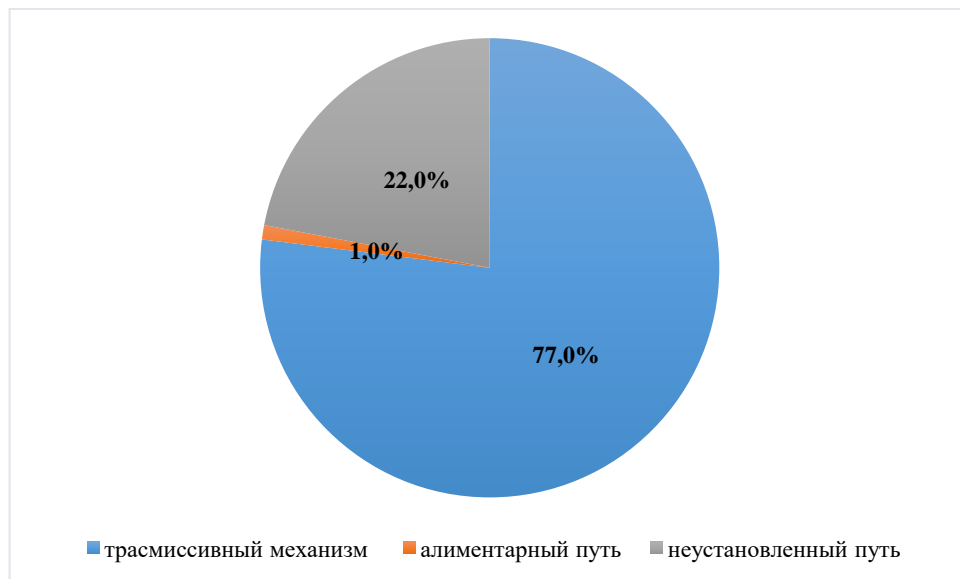


Рисунок 61. Доля механизмов и путей передачи вируса КЭ в Свердловской области в период 2005-2021 гг.

Одним из важных аспектов исследования эпидемиологических особенностей того или иного инфекционного заболевания является изучение его сезонности [320]. Для территории Свердловской области характерна строгая весенне-летняя сезонность, которая обусловлена в основном активностью основных переносчиков возбудителя – клещей *I. persulcatus*. Кроме того, на территории области, вирус КЭ выявляют в клещах *I. trianguliceps*, *I. apronophorus*, *I. lividus*, *D. pictus*, *D. marginatus* [204]. Пик инфицирования приходится на май (35,0%) и июнь (38,7%). Всего на эти 2 месяца приходится 73,7% от общего числа случаев заражения. На июль месяц приходится 17,3%, на апрель – 4% и август – 3,8%. В марте, сентябре, октябре и ноябре за период наблюдения были зарегистрированы только единичные случаи инфицирования КЭ (0,2%, 0,9%, 0,04%, 0,04 % соответственно). За период наблюдения самые ранние случаи заражения вирусом КЭ были зарегистрированы 1 марта 2008 г. (употребление сырого козьего молока в Ачитском районе) и 4 марта 2015 г. (присасывание клеща при посещении парка в г. Екатеринбург). Самый поздний случай регистрации заражения вирусом КЭ был отмечен 6 ноября 2013 г. (лесной фактор в Краснотурьинском районе).

За изучаемый период случаи КЭ регистрировались во всех возрастных группах, включая детское население. Среди заболевших преобладали лица трудоспособного возраста – от 20 до 60 лет (60,4%), причем 67,4% составляли мужчины. Особенность распределения заболевания КЭ по половому признаку связана с большей мобильностью мужского населения, которое чаще

осуществляет свою профессиональную и бытовую деятельность в условиях природных, включая антропогенные, очагов КЭ.

Чаще всего КЭ болели лица в возрасте 60 лет и старше (24,6%), на возрастную группу 50-59 лет приходилось 18% случаев заболевания. На группу 40-49 лет, 30-39 лет, 20-29 лет пришлось 15,5%, 13,6% и 13,3% случаев КЭ соответственно. На протяжении анализируемого периода КЭ регистрировался и среди детского населения. Наибольший удельный вес за анализируемый период пришелся на детей в возрасте 7-14 лет – 5,4%, доля детей 3-6 лет составила 4,1%, 15-19 лет – 3,9%, до 2 лет – 1,6% (Рисунки 62 и 63).

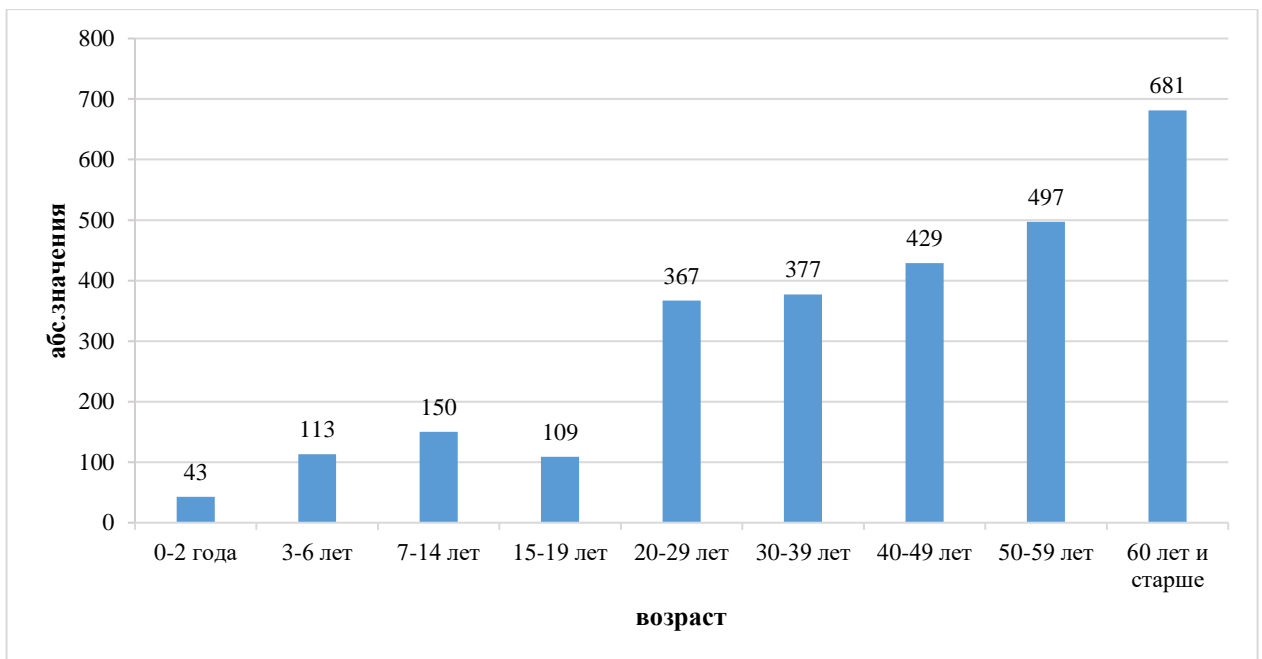


Рисунок 62 – Возрастной состав заболевших КЭ в Свердловской области в период 2005-2021 гг. (абс. значения)

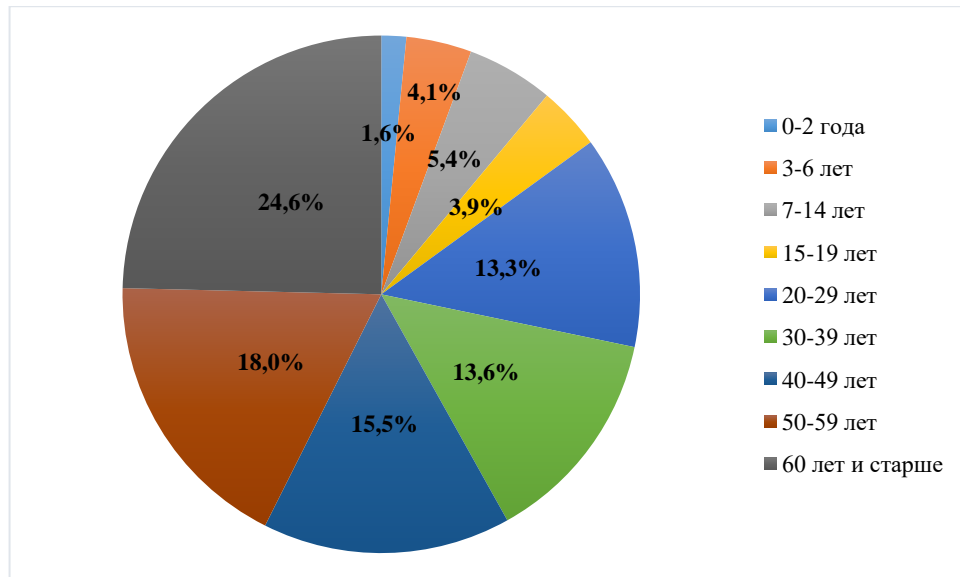


Рисунок 63 – Удельный вес заболевших в зависимости от возраста в Свердловской области за период 2005-2021 гг.

Основные закономерности развития эпидемического процесса в Свердловской области сходны с таковыми в других эндемичных по КЭ регионах РФ [320]. Сохранение напряженной эпидемиологической ситуации на территории области в последние годы связано с неуклонным ростом заболеваемости среди непривитого населения (85,4%) с преобладанием городского 86,1%, при относительно низкой заболеваемости жителей сельской местности (13,9%) [320]. Высокая доля городских жителей в заболеваемости КЭ объясняется тем, что города в Свердловской области расположены в непосредственном окружении природных очагов этой инфекции. Высокая степень активности очагов и возрастающая активность контакта с ними горожан (сбор ягод, грибов, рыбалка, прогулки по лесу, расширение зон отдыха, работа в саду др.) увеличивают риск заражения и способствуют повышению уровня заболеваемости КЭ, несмотря на высокий охват прививками населения Свердловской области в целом. Играть свою роль и такие социальные факторы как отсутствие должного санитарно-эпидемиологического контроля за освоением лесов для целей огородничества и садоводства, возросшая мобильность населения в связи с развитием дорожной сети и т.д. [320]. За изучаемый период заражения вирусом КЭ в 41,7% случаев происходили в антропогенных очагах – садовые участки, парки, кладбища, в т.ч. в черте города, в 60,6% случаях при посещении природного очага КЭ – работы в лесу, связанные с бытовыми, производственными нуждами, сенокос, сбор ягод, грибов, рыбалка, прогулки по лесу. Только 10,8% пострадавших от присасывания клещей были ранее вакцинированы против КЭ, из них получили неполный курс вакцинации (одну или две прививки) 12,8%.

Анализ заболевших за изучаемый период по социальному составу показал, что среди них преобладали служащие – 30,4%, пенсионеры составили 24,2%, безработные – 20,2%. Лица, чья работа профессионально связана с лесом составили всего 0,4%. Среди заболевших высока доля школьников и детей до 7 лет – 6,1% и 6,0%, соответственно (Рисунок 64).

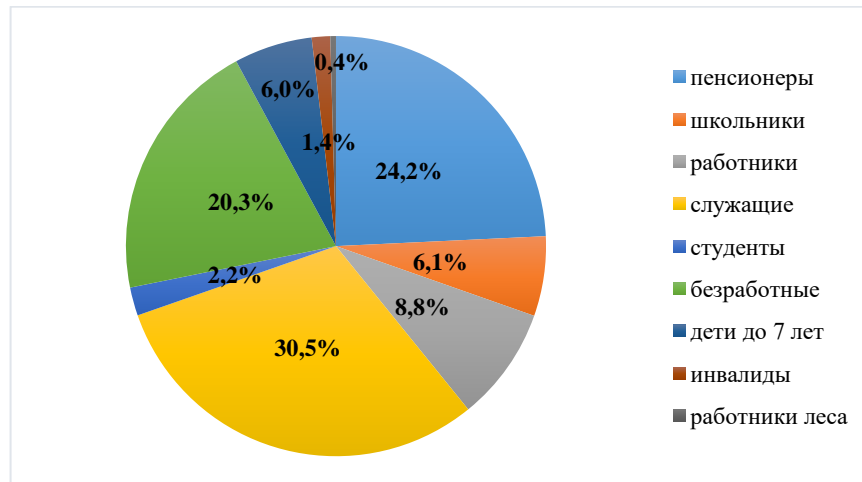


Рисунок 64 – Распределение заболевших КЭ по социальному составу в Свердловской области за период 2005-2021 гг.

Анализ сезонного распределения случаев КЭ в Свердловской области показал, что заболеваемость регистрируется с апреля по ноябрь (Рисунки 65 и 66). Максимальное число больных, поступивших в инфекционные стационары (клинические больницы) области наблюдается в июне месяце (40,8%) [320].

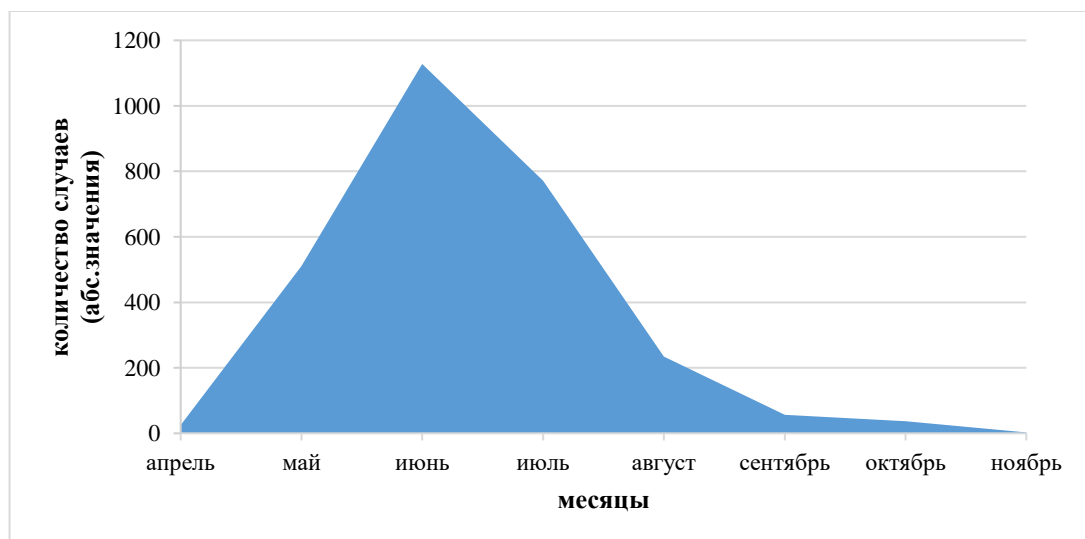


Рисунок 65 – Сезонное распределение случаев КЭ на территории Свердловской области за период 2005-2021 гг.

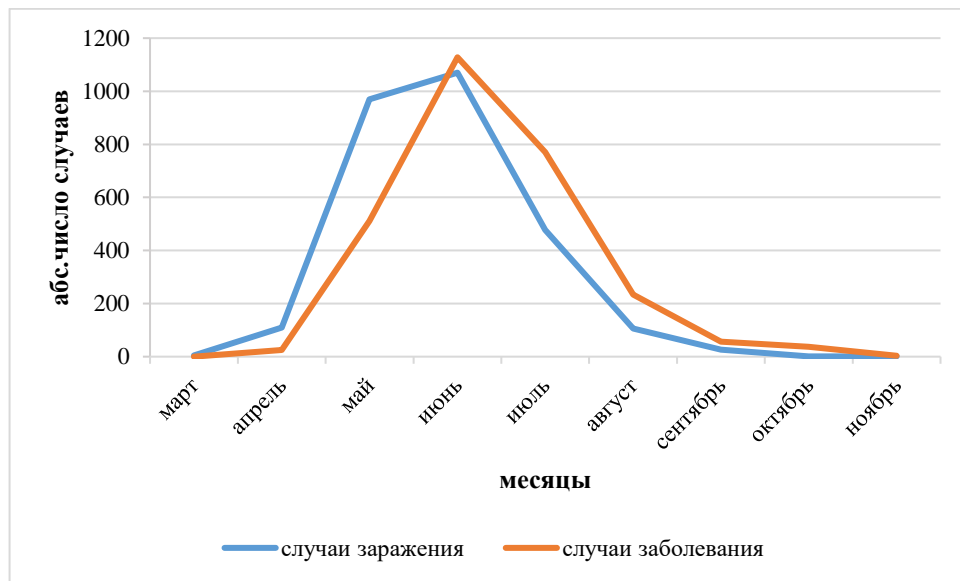


Рисунок 66 – Динамика случаев заражения и заболевания КЭ по месяцам за период 2005-2021 г.

За изученный период 82,4% случаев заражений КЭ произошло в различных районах Свердловской области и только 1,5% связаны с выездом за ее пределы (Челябинская, Курганская области, Пермский край, редко другие регионы). Случаи заражения вирусом КЭ в черте г. Екатеринбурга составили 16,1%.

За весь период наблюдения на территории Свердловской области регистрировались все клинические формы КЭ: лихорадочная, стертая, менингеальная, очаговые, за исключением 2011 г. (стертая форма не регистрировалась). Их структура характеризовалась преобладанием лихорадочной формы, доля которой в среднем составила 43,3% (для числа случаев среднее арифметическое±стандартное отклонение составило 70 ± 25 , при этом минимальное количество случаев было 25, максимальное – 150). Доля менингеальной и стертой форм – 23,3% (38 ± 19 , минимальное количество случаев – 8, максимальное – 92) и 21,6% (35 ± 57 , минимальное количество случаев – 0, максимальное – 234), соответственно, доля очаговых форм – 11,8% (19 ± 10 , минимальное количество случаев – 4, максимальное – 44) (Рисунки 67 и 68). В структуре клинических форм за 17 лет доля всех форм изменилась не существенно. Доля лихорадочной формы увеличилась за счет сокращения доли стертой.

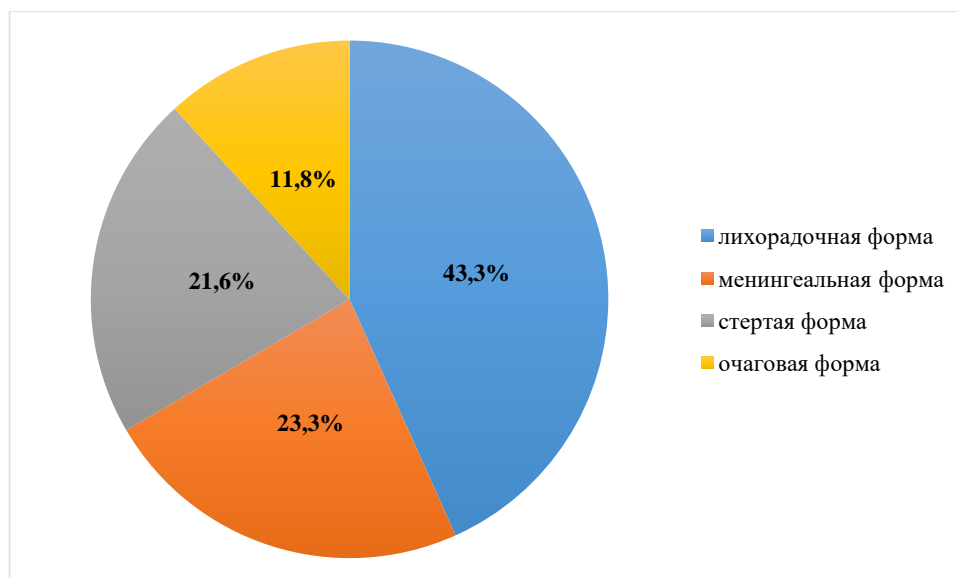


Рисунок 67 – Структура клинических форм КЭ на территории Свердловской области в период 2005-2021 г.

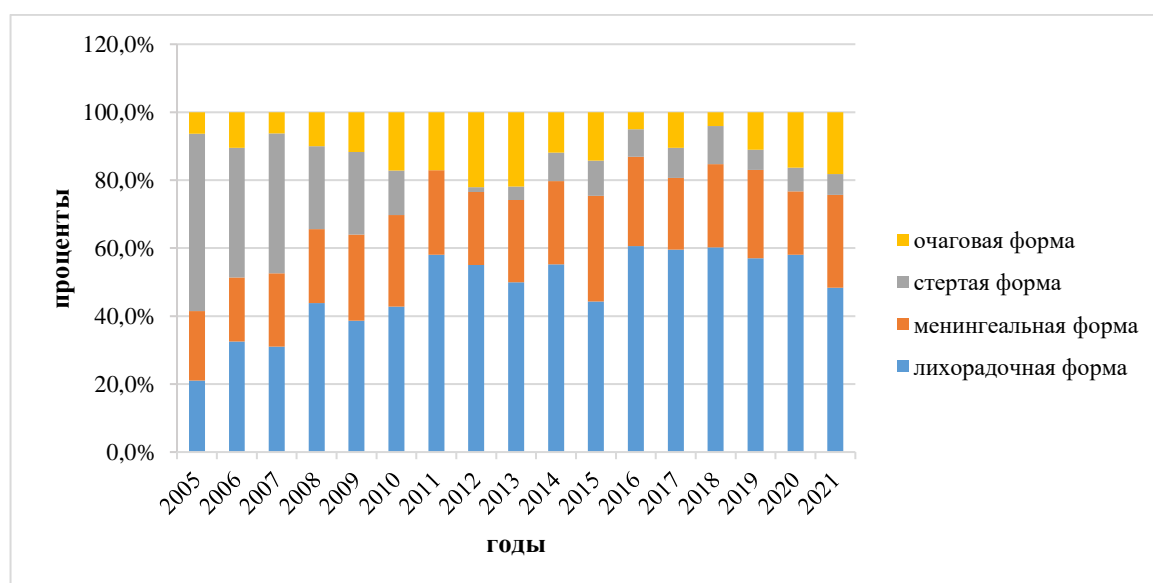


Рисунок 68 – Динамика клинических форм КЭ на территории Свердловской области (2005-2021 гг.) (в процентах)

В группе вакцинированных пациентов в последние годы очаговые формы не регистрируются. На Рисунке 69 представлена динамика клинических форм КЭ среди невакцинированных и вакцинированных пациентов за период 2005-2021 гг.

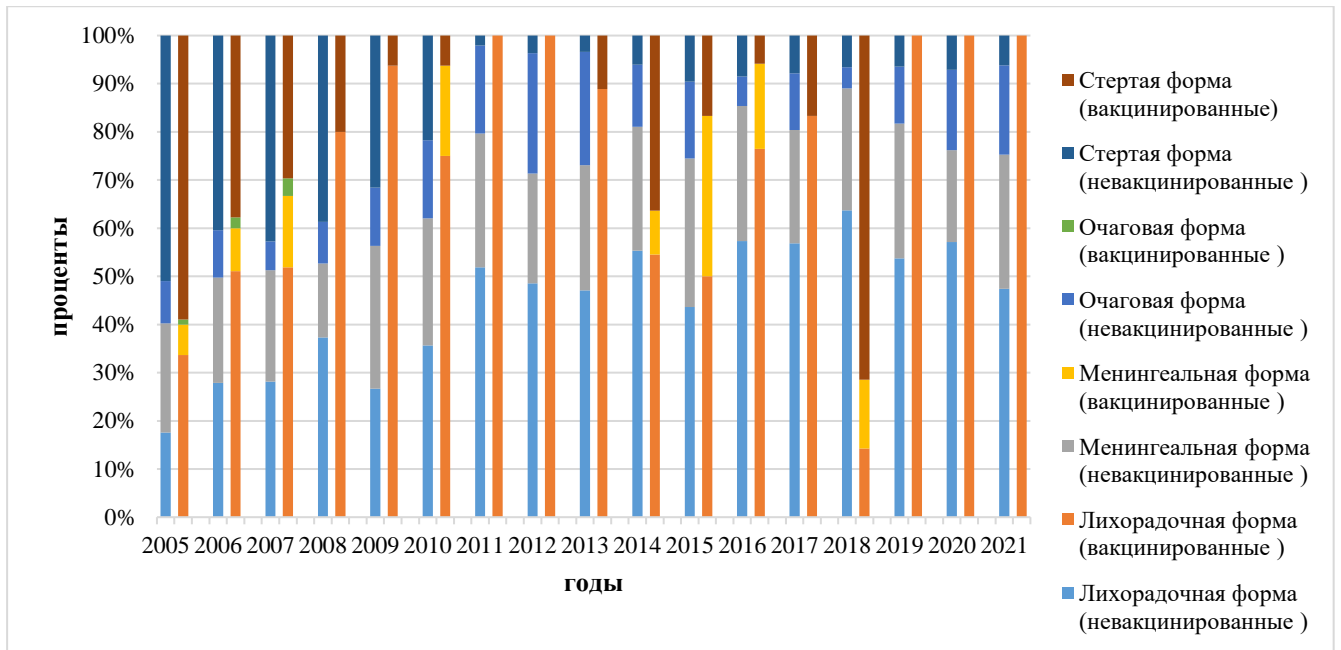


Рисунок 69. Динамика клинических форм КЭ среди невакцинированных и вакцинированных пациентов на территории Свердловской области в период 2005-2021 гг.

За период наблюдения очаговые формы КЭ в 98% случаев встречались среди непривитых пациентов, либо лиц, получивших не полный курс вакцинации. Тем не менее 2% лиц с очаговыми формами КЭ получили полный курс прививок с последующей ревакцинацией. Летальных исходов среди вакцинированных за изученный период зарегистрировано не было.

На территории Свердловской области доминирующим подтипом (генотипом) вируса КЭ является сибирский подтип возбудителя. Вакцины отечественного и зарубежного производства изготавливаются на основе штаммов дальневосточного и европейского подтипов, т.е. штаммов отличных от доминирующего природного подтипа на данной территории. Ранее существовало представление, что наиболее тяжелые формы заболевания связаны с дальневосточным подтипом вируса, средней степени тяжести – с сибирским, а легкое течение ассоциировалось с европейским подтипом. На сегодняшний день получены данные о том, что все подтипы вируса КЭ могут вызывать различные формы заболевания от инаппарантных до очаговых с летальным исходом, в т.ч. и у вакцинированных пациентов. Таким образом, на территории Свердловской области тяжелые формы заболевания связаны с сибирским подтипом вируса, в том числе у вакцинированных больных. Кроме того, с данным подтипом связывают хронические формы заболевания [453]. Последние находки дальневосточного подтипа в Свердловской области были выявлены в 2003 г. [120], европейского в 2005 г. [192]. На протяжении изучения вируса КЭ произошла смена подтипа вируса КЭ дальневосточного на сибирский [120].

За период наблюдения летальный исход от КЭ на территории Свердловской области был зарегистрирован у 55 пациентов (2,0%). Среди детского населения (0-17 лет включительно) за

изучаемый период случаев летальных исходов зарегистрировано не было. Все пациенты, умершие от КЭ не имели в анамнезе ни одной прививки от КЭ. В то время как на соседних территориях – в Челябинской и Курганской областях среди пациентов, имевших в анамнезе завершённый курс вакцинации с многократными ревакцинациями были зарегистрированы случаи летального исхода [107; 196]. Описание случаев будет приведено в главе 9 диссертационного исследования.

В структуре заболеваемости КЭ за изученный период доля городского населения составила 66,1%, доля сельского – 33,9% (Рисунки 70 и 71).

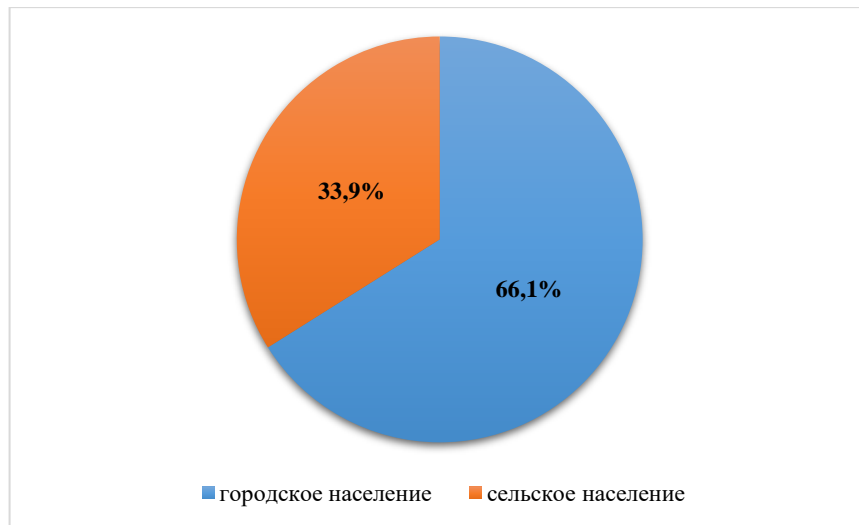


Рисунок 70 – Удельный вес городского и сельского населения в структуре заболеваемости КЭ на территории Свердловской области в период 2005-2021 гг.

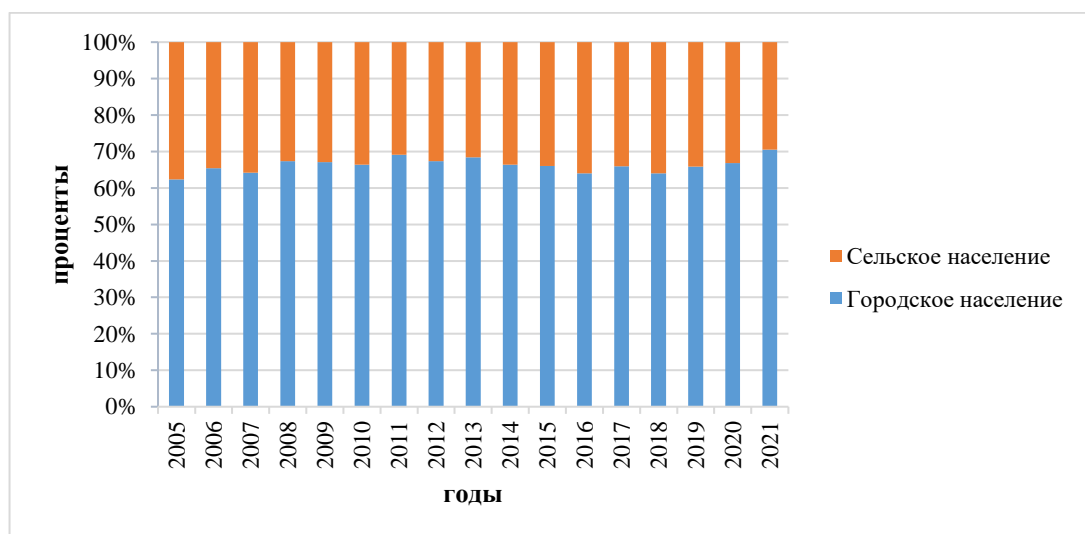


Рисунок 71 – Динамика заболеваемости КЭ городского и сельского населения в Свердловской области за период 2005-2021 гг.

Не менее актуальной проблемой для Свердловской области является БЛ [301]. БЛ зарегистрирована на территории 56 из 59 административных районов области. Самый низкий и самый высокий показатели заболеваемости за изученный период составили 7,19 (в 2020 г.) и 31,25 (в 2011 г.) на 100 тыс. населения (Рисунок 72) [301].

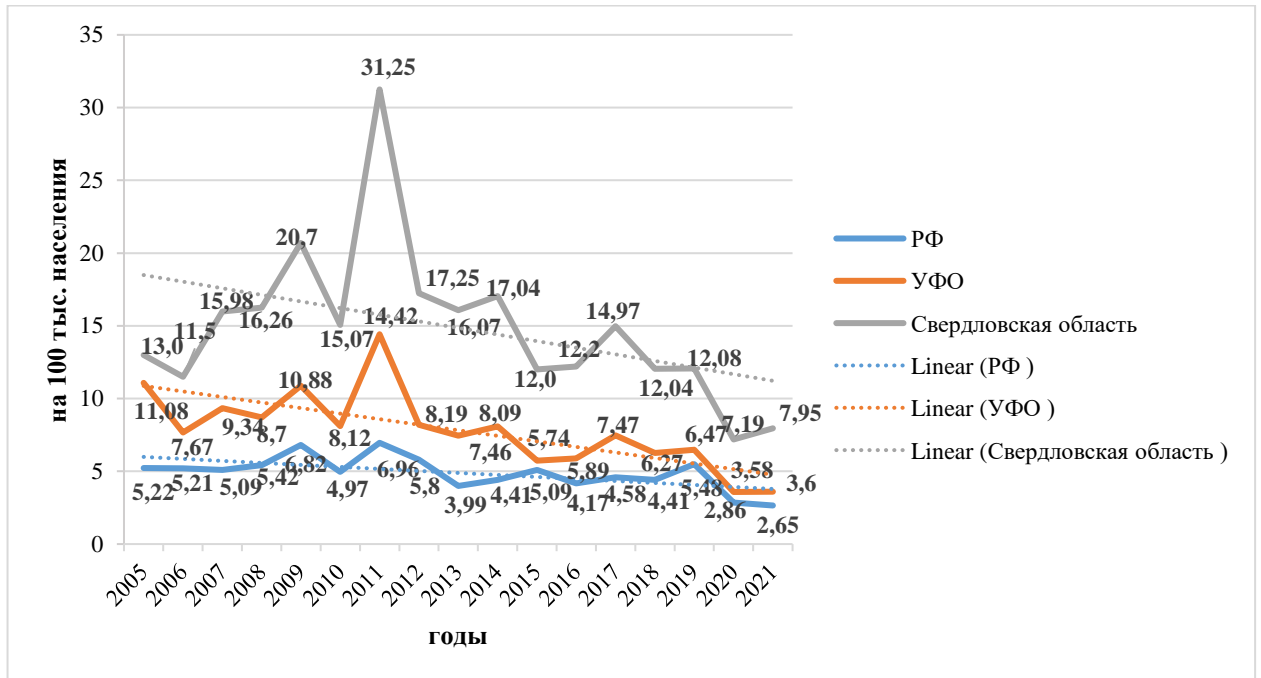


Рисунок 72 – Динамика заболеваемости БЛ в Свердловской области за период 2005-2021 гг.

Заболеваемость БЛ в Свердловской области по среднескользящим данным превышает данные в РФ в 3 раза и в УФО почти в 2 раза [301].

В ходе исследования было установлено, что доля трансмиссивного механизма передачи составила 88,6%, доля неустановленного пути передачи, связанного либо с посещением леса, либо садового участка, парка, кладбища и т.д., когда отрицался факт присасывания клеща – 11,3%. Также за период наблюдения был зафиксирован алиментарный путь заражения боррелиями через употребление козьего молока (0,1%) (Рисунок 73). В настоящее время в литературе обсуждается роль алиментарного пути заражения при употреблении сырого козьего или коровьего молока при БЛ [165; 174].

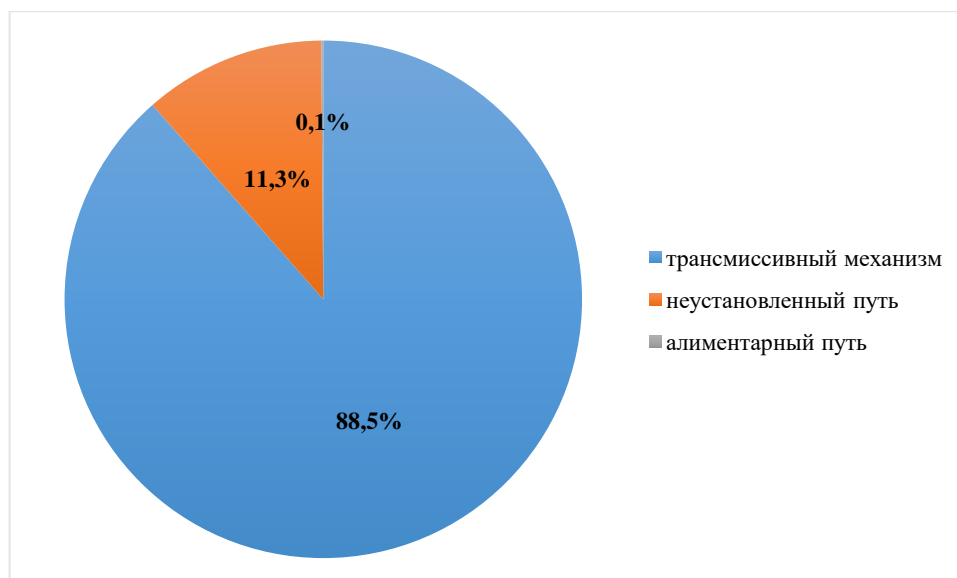


Рисунок 73. Механизмы и пути заражения боррелиями в Свердловской области за период 2005-2021 гг.

Анализ распределения лиц, заболевших БЛ по социальному составу показал, что среди них преобладали пенсионеры – 40,0%. Служащие составили 27,0%, безработные – 14,6%. Производственный фактор, как и при КЭ, не имел решающего значения. Доля лиц, профессионально связанных с работой в лесу, была низкой и составила 0,2%. Также отмечена высокая заболеваемость БЛ среди работников различных специальностей (10,4%) и детей до 7 лет (4,9%) (Рисунок 74).

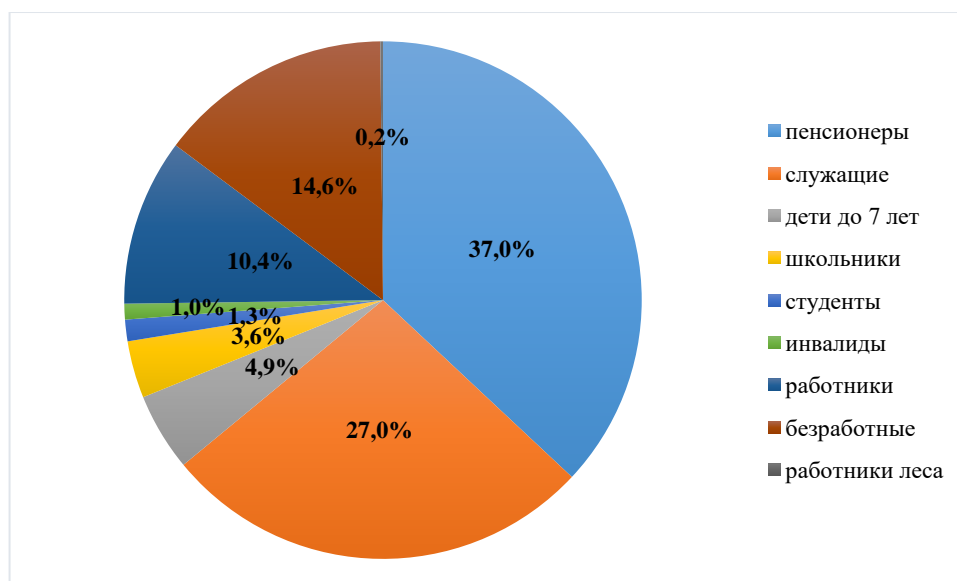


Рисунок 74 – Распределение заболевших БЛ в Свердловской области по социальному составу за период 2005-2021 гг. (в процентах)

Основной причиной контакта населения с клещами и заражения возбудителями БЛ, также, как и вирусом КЭ, было посещение леса с целью отдыха, сбора ягод, грибов или иными целями (43,6%), около трети (33,5%) случаев заболевания связаны с работой и отдыхом на садовых участках.

За изучаемый период случаи БЛ по половому признаку распределились примерно одинаково: мужчины – 50,9%, женщины – 49,1% (Рисунок 75). Случаи заболевания БЛ регистрировались во всех возрастных группах, включая детское население (Рисунок 76). Заболеваемость БЛ характеризовалась самым высоким уровнем в группах в возрасте 50-59 лет и 60 лет и старше. Чаще всего БЛ болели лица в возрасте 60 лет и старше (39,5%), на возрастную группу 50-59 лет пришлось 20,1% случаев заболеваний. Среди детского населения наибольший удельный вес за анализируемый период пришелся на детей в возрасте 3-6 лет (3,8%), доля детей 7-14 лет составила 3,4%, 15-19 лет – 2,0%, до 2 лет – 1,0%.

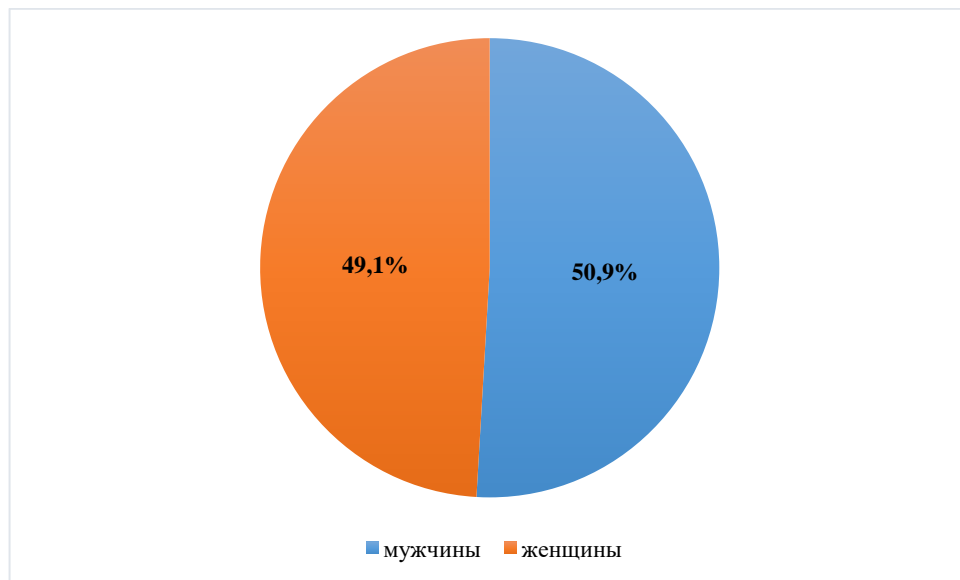


Рисунок 75 – Доля мужчин и женщин среди заболевших БЛ на территории Свердловской области в период 2005-2021 гг.

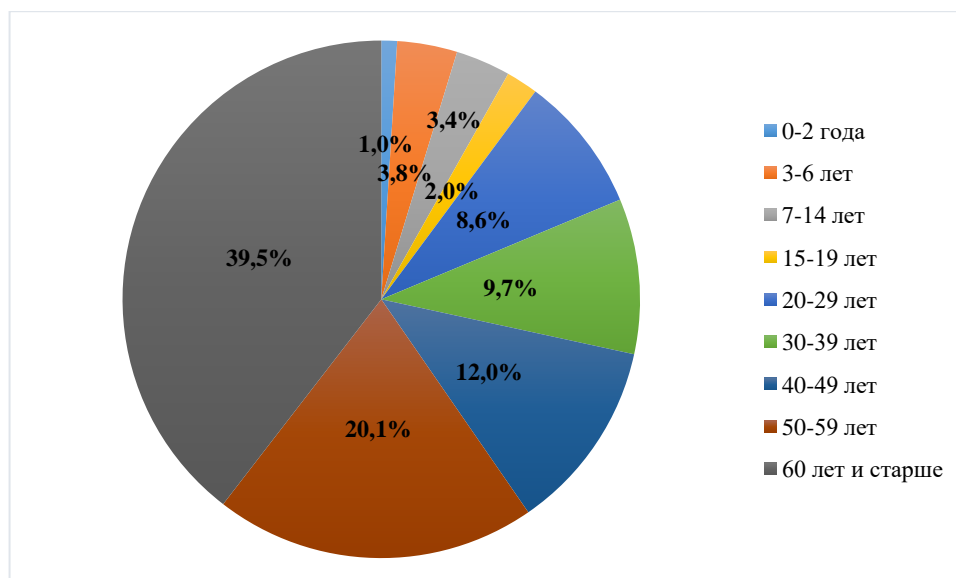


Рисунок 76 – Возрастной состав заболевших БЛ на территории Свердловской области за период 2005-2021 гг.

Случаи инфицирования возбудителями БЛ за изучаемый период регистрировались в основном с марта по октябрь. По одному предполагаемому случаю заражения были зарегистрированы в феврале (2014 г.) и декабре (2016 г.), не связанные с фактом присасывания клеща (черта города и лесной фактор, соответственно). Пик заражения боррелиями пришелся на июнь (36,9%) и май (35,4%). В июле было зарегистрировано 16,3% случаев заражения, в августе – 5,1%, в апреле – 3,9%, сентябре – 1,8%, апреле – 0,7%, марте и ноябре по 0,1%, декабре – 0,01% (Рисунок 77).

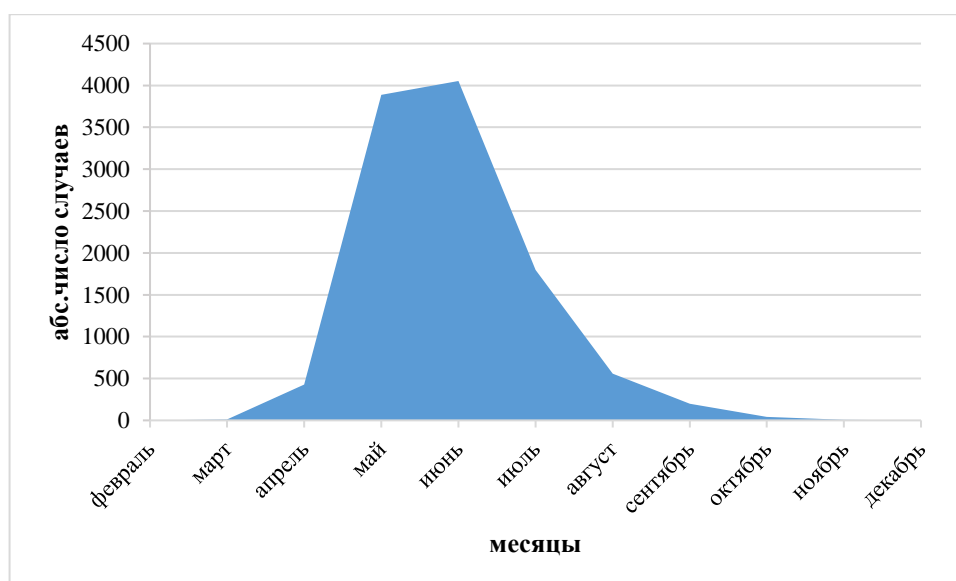


Рисунок 77 – Сезонные случаи заражения возбудителями БЛ на территории Свердловской области в период 2005-2021 г.

Анализ сезонного распределения случаев БЛ показал, что заболевание регистрируется с марта по декабрь (Рисунок 78). Пик заболеваемости приходится на июнь (38,0%) и июль (28,1%) и составляет 66,1% от всех случаев заболеваний БЛ. Самый ранний случай заболевания БЛ за изучаемый период был зафиксирован 3 марта 2018 г. (связан с присасыванием клеща в г. Нижний Тагил), самый поздний – 01.12.2016 г. (лесной фактор, при посещении садового участка в Березовском районе). Вероятно, в данном случае клещ был занесен ранее на садовый участок или в дом. Следует отметить, что практически все случаи заболевания БЛ, зарегистрированные в декабре были связаны с поздним обращением за медицинской помощью, т.к. присасывание клеща или посещение леса, садового участка и т.д. происходило в конце сезона активности клещей – июне, июле, августе, сентябре, ноябре и один случай в начале декабря, как сказано выше.

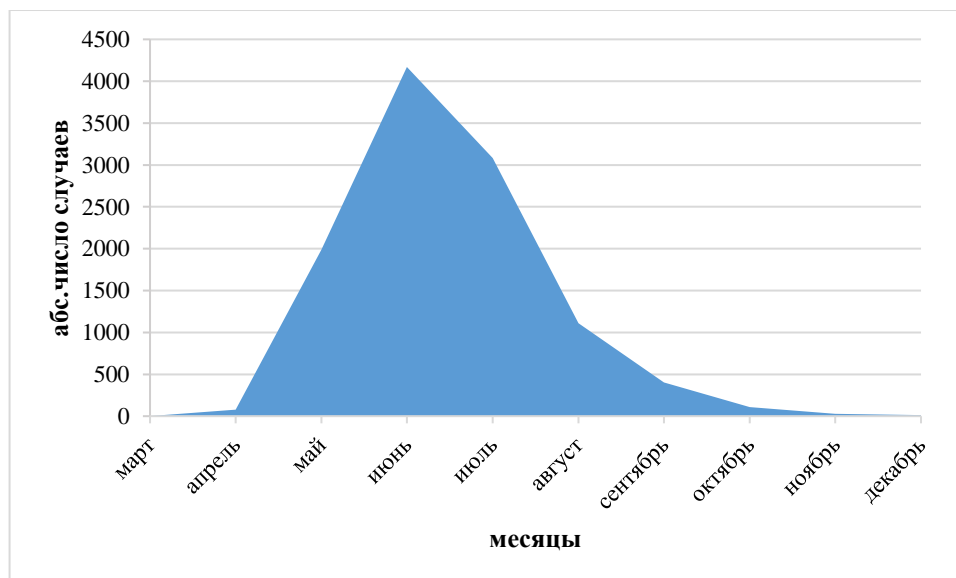


Рисунок 78 – Сезонное распределение заболеваемости БЛ на территории Свердловской области за период 2005-2021 г.

Таким образом, пик случаев заболевания БЛ регистрировался в июне, но случаи инфицирования чаще были зарегистрированы в мае и июне, в то время как случаи заболевания и госпитализации с диагнозом БЛ – в июне и июле. При этом, несмотря на совпадение пиков заражения и заболевания в июне, интервал между случаями заражения боррелиями и заболеванием БЛ составил примерно 1 месяц, что, по-видимому, определяется длительностью инкубационного периода заболевания (Рисунок 79).

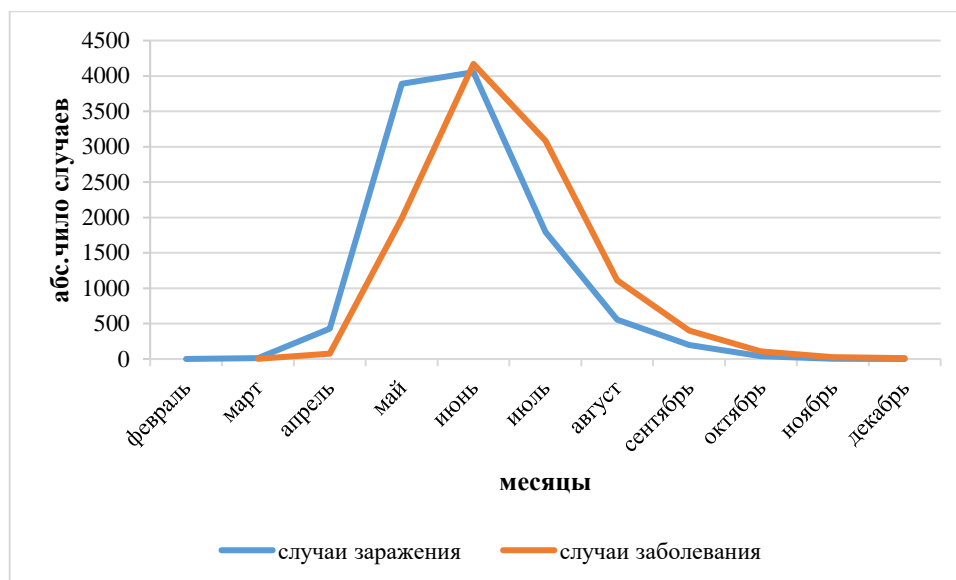


Рисунок 79. Динамика случаев заражения и заболевания БЛ по месяцам на территории Свердловской области за период 2005-2021 г.

Причиной контакта населения с клещами и заражения возбудителями БЛ в 43,4% случаев было посещение леса с целью отдыха, сбора ягод, грибов, рыбалки или осуществления работ в лесу, связанных с бытовыми и производственными нуждами, в 56,6% случаев заболевания были связаны с работой и отдыхом на садовых участках, посещения парков, кладбища, в т.ч. в черте города (Рисунок 80). Случаи профессиональных заболеваний (работы в лесу) были зарегистрированы всего в 0,9% случаев от общего числа заболевших БЛ. В 12,6% инфицирование боррелиями произошло непосредственно в черте г. Екатеринбурга при посещении лесопарковой зоны.

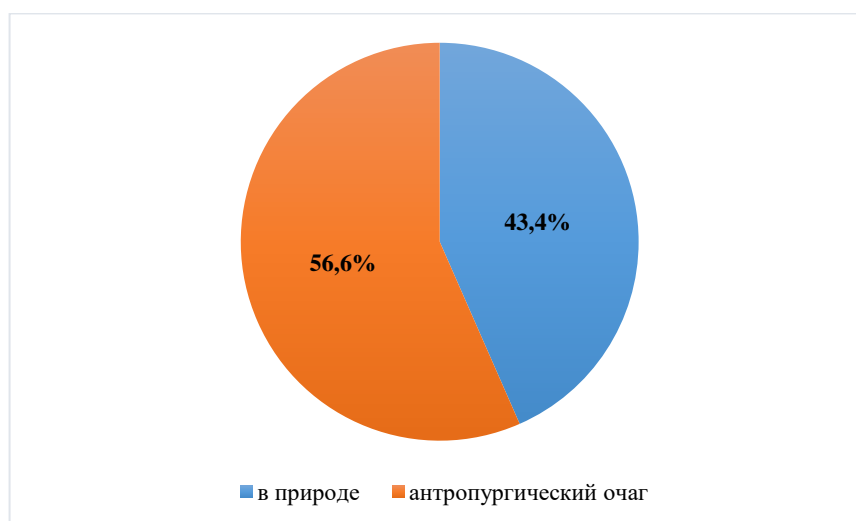


Рисунок 80 – Заражение возбудителями БЛ в природе и антропоургическом очаге за период 2005-2021 гг.

Анализ клинических проявлений БЛ выявил, что на территории Свердловской области регистрируются две клинические формы заболевания – эритемная и безэритемная. За изученный период преобладала эритемная форма заболевания, ее доля составила 62,7% (для числа случаев среднее арифметическое±стандартное отклонение составило 405 ± 150 , минимальное количество случаев было 204, максимальное – 868), доля безэритемной формы – 37,3% (241 ± 85 , минимальное количество случаев – 106, максимальное – 475) (Рисунок 81).



Рисунок 81 – Клинические формы БЛ в Свердловской области в период 2005-2021 гг.

За период наблюдения при анализе структуры клинических форм во все годы в динамике преобладала эритемная форма заболевания. Клиническая диагностика безэритемной формы БЛ представляет трудности, т.к. среди клинических проявлений нет патогномичного симптома – мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща и диагноз ставится по результатам серологической диагностики, редко применяются молекулярно-биологические методы исследования. Детальный разбор безэритемных форм заболевания и их этиологических агентов будут рассмотрены в главе 7 диссертационного исследования (Рисунок 82).

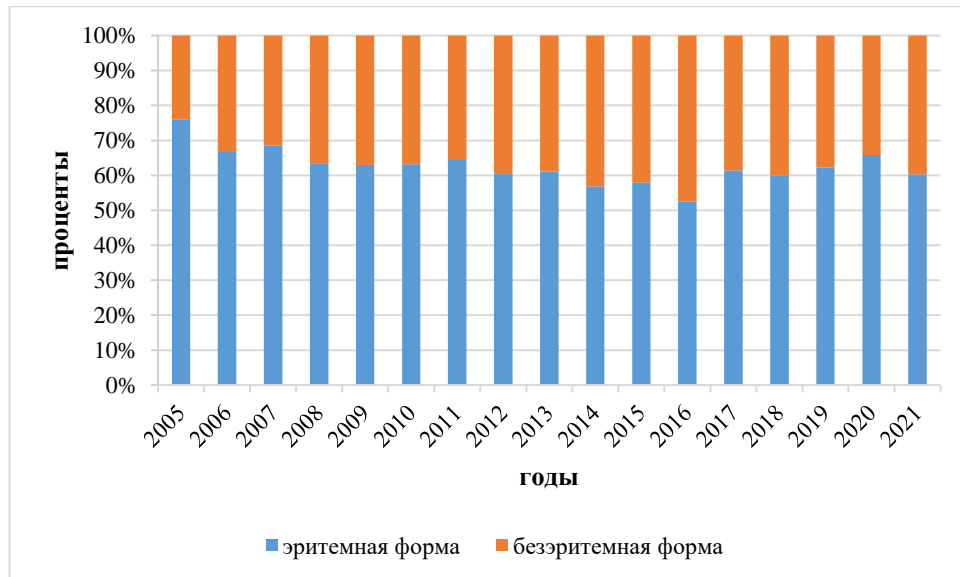


Рисунок 82 – Динамика структуры клинических форм заболевания БЛ (%) на территории Свердловской области в период 2005-2021 гг.

В структуре заболеваемости БЛ за изученный период доля городского населения составила 92,9%, доля сельского – 7,1% (Рисунки 83 и 84).

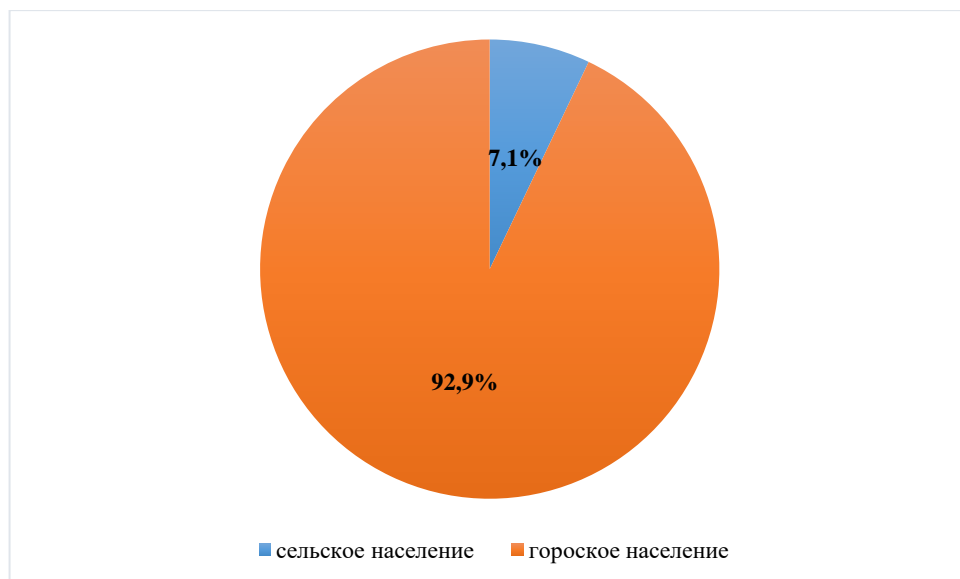


Рисунок 83 – Удельный вес городского и сельского населения в структуре заболеваемости БЛ на территории Свердловской области в период 2005-2021 гг.

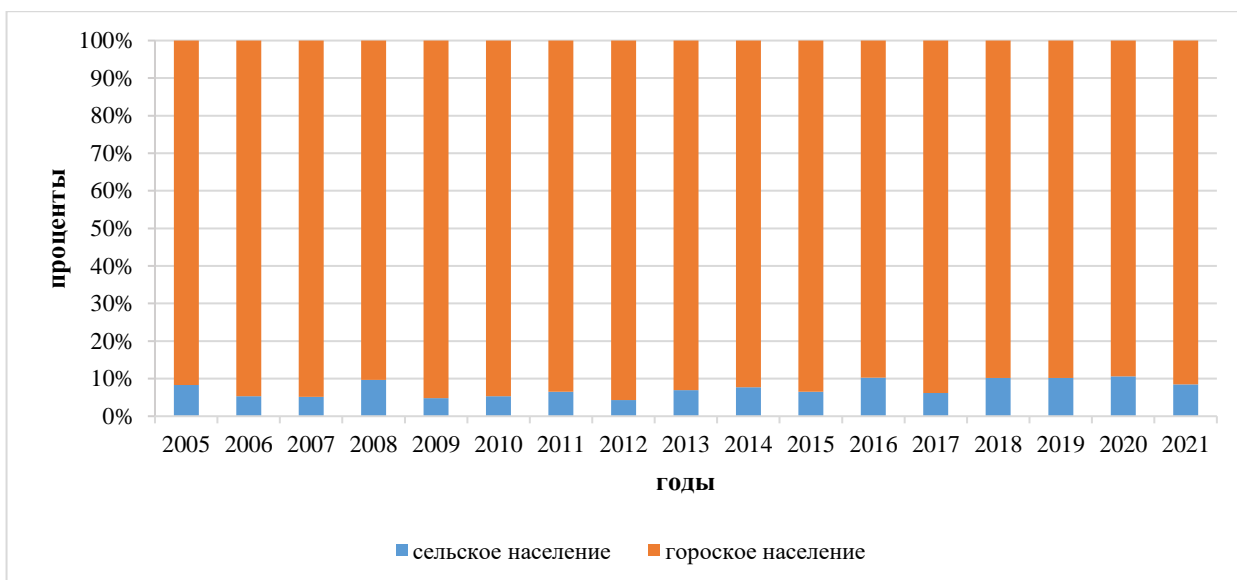


Рисунок 84 – Динамика заболеваемости городского и сельского населения в Свердловской области за период 2005-2021 гг.

За изученный период было выявлено, что 73,4% случаев заражений БЛ происходит на территории Свердловской области в различных районах и только 4,2% связаны с выездом за ее пределы. В основном это Челябинская, Курганская области, Пермский край, Республика Башкортостан, редко другие регионы. Случаи заражения боррелиями в черте г. Екатеринбурга составили 22,4%.

Важной особенностью эпидемиологии трансмиссивных клещевых инфекций на территории Свердловской области является доминирование сибирского подтипа вируса КЭ [80; 93; 120; 314; 315]. Обнаружены два геновида боррелий, патогенных для человека – *B. afzelii* и *B. garinii* [95; 124].

В связи с ежегодной регистрацией на территории Свердловской области случаев заболеваний КЭ и БЛ возникла необходимость сравнения динамики, структуры, а также групп риска и территорий риска заражения возбудителями данных инфекций.

Сравнивая динамику заболеваемости и распространенности КЭ и БЛ следует отметить их различия: низкий уровень заболеваемости КЭ в сравнении с БЛ. При совпадении периодов роста и снижения заболеваемости данными инфекциями за весь период наблюдения отмечается более высокая интенсивность этих показателей при БЛ (Рисунок 85).

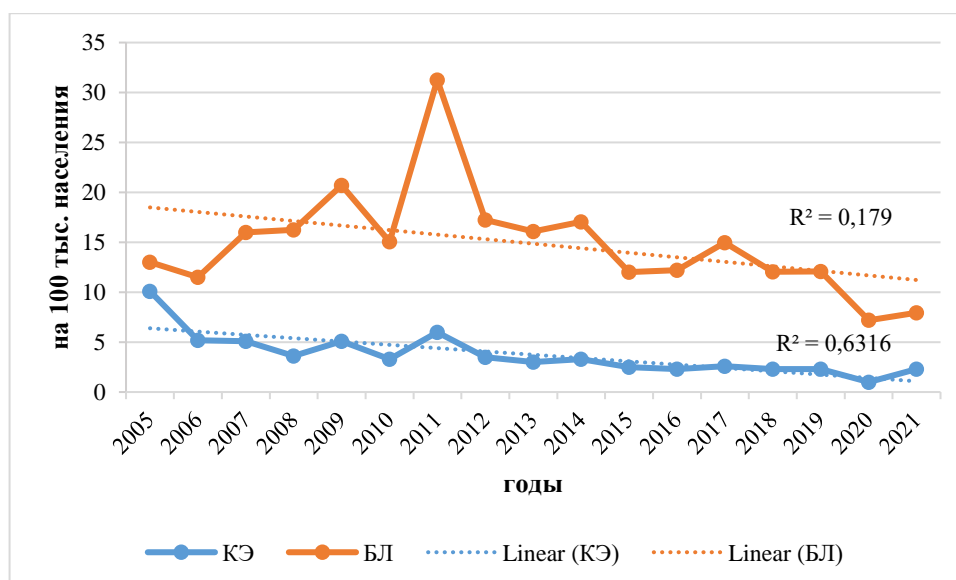


Рисунок 85 – Динамика заболеваемости КЭ и БЛ в Свердловской области за период 2005-2021 г. (на 100 тыс. населения)

За анализируемый период прослеживается сезонность при КЭ и БЛ. Из Рисунка 85 видно, что пик показателя заболеваемости при КЭ выпадает на июнь (1,6 на 100 тыс. населения), в июле наблюдается снижение (1,1 на 100 тыс. населения), в последующие месяцы наблюдается значительное падение показателя заболеваемости КЭ. При БЛ пик заболеваемости также выпадает на июнь (6,0 на 100 тыс. населения), снижение показателя заболеваемости отмечается в июле (2,6 на 100 тыс. населения), августе (1,6 на 100 тыс. населения), сентябре (0,6 на 100 тыс. населения), в апреле и мае – 0,1 и 2,9 на 100 тыс. населения соответственно. Кроме того, единичные случаи БЛ наблюдаются в феврале, марте, октябре, ноябре и декабре. Первые случаи заболевания КЭ появляются в апреле, удельный вес которых невелик по отношению к общему числу случаев заболевания в эпидемический сезон и составляет в среднем 0,9%. В мае число заболевших КЭ увеличивается и удельный вес их достигает 18,4%. Максимальное количество случаев КЭ отмечается в июне – 40,8%. В июле количество заболевших начинает снижаться и их удельный вес составляет 27,9%. В августе, сентябре, октябре и ноябре – 8,6%, 2,1%, 1,3% и 0,1% соответственно. Таким образом, за май, июнь и июль в изучаемый период было зарегистрировано 87,1% заболевших КЭ. При БЛ первые единичные случаи заболевания появляются уже в марте и составляют 0,03% от всех случаев заболевания. В последующие месяцы – апреле и мае количество случаев возрастает и составляет 0,7% и 18,1% соответственно. Максимальное число случаев БЛ, как и КЭ, отмечается в июне – 40,0%. Затем в июле и августе наблюдается снижение заболеваемости – 28,1% и 10,2% соответственно. В последующие месяцы наблюдается резкий спад заболеваемости БЛ: в сентябре – 3,7%, октябре – 1,0%, ноябре – 0,2%, декабре – 0,1%. В декабре отмечаются единичные случаи заболевания, связанные в основном с поздним

обращением за медицинской помощью, т.к. контакт с инфицированным клещом приходился на июль, август, сентябрь, октябрь, ноябрь и декабрь.

Таким образом, сезонность КЭ и БЛ практически совпадает, что связано с активностью основных переносчиков на территории Свердловской области клещей *I. persulcatus*. Разница состоит в том, что за наблюдаемый период, продолжительность эпидемического сезона для КЭ составила 8 месяцев (с апреля по ноябрь), для БЛ – 10 месяцев (с марта по декабрь). Эпидемический подъем заболеваемости при КЭ и БЛ приходится на июнь и июль с пиком заболеваемости для обеих инфекций в июне месяце. Интенсивность заболеваемости БЛ в период сезонного подъема значительно превышает интенсивность сезонного подъема заболеваемости КЭ (Рисунок 86).

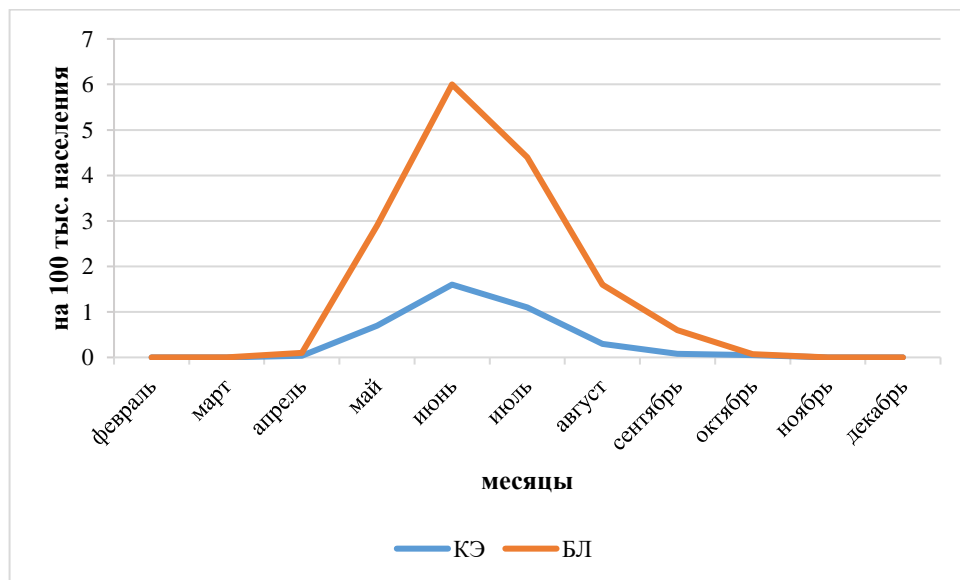


Рисунок 86 – Сезонная динамика заболеваемости КЭ и БЛ в Свердловской области за период 2005-2021 гг.

Число заболевших КЭ и БЛ в Свердловской области за анализируемый период в значительной мере определяется горожанами в общей структуре заболеваемости. При КЭ доля городского населения составила 66,1%, при БЛ – 92,9% (Рисунок 87).

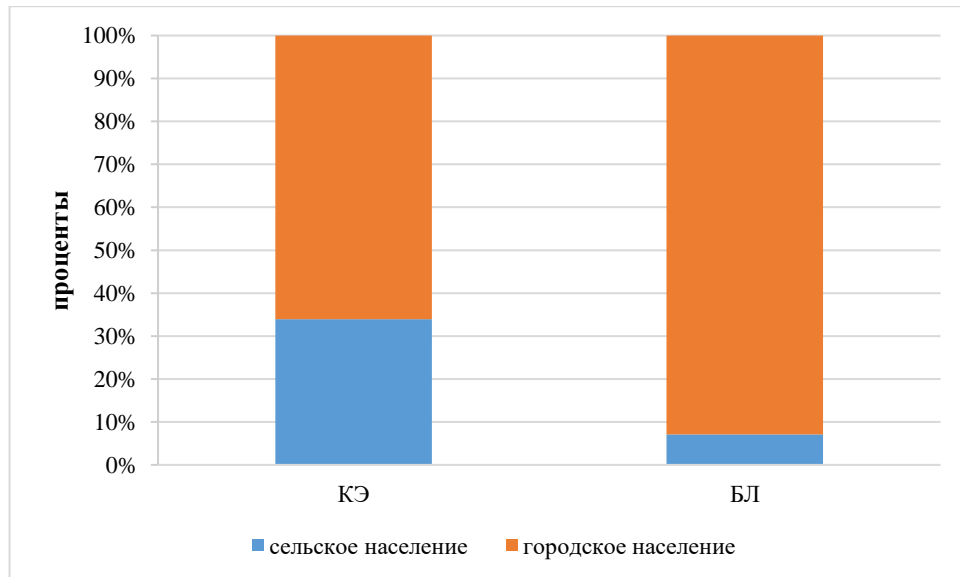


Рисунок 87 – Удельный вес городских и сельских жителей в структуре заболевших КЭ и БЛ в Свердловской области за период 2005-2021 гг.

Случаи заболевания КЭ и БЛ регистрировались среди лиц разных возрастов (от нескольких месяцев до 98 лет), но преобладали лица 60 лет и старше (для КЭ – 24,6%, для БЛ – 39,5%). КЭ и БЛ болели в основном лица трудоспособного возраста, при КЭ чаще лица мужского пола. Летальные исходы в Свердловской области были зарегистрированы только от КЭ.

Заключение по главе 3

В ходе проведенного анализа проявлений эпидемического процесса КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ в РФ за период 2005-2021 гг. установлено снижение заболеваемости данными инфекциями. В период эпидемиологического неблагополучия по новой коронавирусной инфекции COVID-19 (2020-2021 гг.) по сравнению с предыдущим 2019 г. отмечено наиболее резкое снижение заболеваемости КЭ в 1,8 раза (2019 г. – 1775 случаев, 2020 г. – 967, 2021 г. – 1010), БЛ – в 2 раза (2019 г. – 8048 случаев, 2020 г. – 4204, 2021 г. – 3875). Выраженное снижение заболеваемости за анализируемый период (2013-2021 гг.) прослежено для МЭЧ (максимальный показатель – 54 случая в 2014 г., минимальный – 2 случая в 2020 г.) и ГАЧ (максимальный показатель – 258 случая в 2014 г., минимальный – 2 случая в 2020 г.). Показатель обращаемости населения за медицинской помощью по поводу присасывания клещей в 2020-2021 гг., снизился незначительно (в 1,2 раза) по сравнению с 2019 г.

Вероятно, резкое снижение регистрируемой заболеваемости вышеперечисленными нозологиями в 2020-2021 гг. обусловлено не столько снижением контактов населения с

природными очагами в этот период из-за часто повторяющихся локдаунов, сколько резким перераспределением объемов оказания медицинской помощи в пользу больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, снижением объемов лабораторной диагностики по выявлению возбудителей и соответственно регистрации случаев заболевания. На территории РФ были выделены ФО и субъекты с наибольшими показателями заболеваемости КЭ, БЛ, ГАЧ (УФО, СФО, СЗФО), МЭЧ (УФО, СФО, СЗФО, ДФО), в этих же округах, кроме ДФО, была установлена самая высокая обращаемость населения по поводу присасываний клещей в медицинские учреждения.

На примере Свердловской области, как территории наиболее эндемичной по КЭ, несмотря на активно проводимую программу массовой вакцинопрофилактики, и по БЛ, за период наблюдения были изучены динамика, структура, факторы риска заболеваемости данными нозологиями. Показано, что проводимая в Свердловской области кампания массовой вакцинопрофилактики привела к увеличению доли лихорадочных и стертых форм заболевания и снижению доли очаговых. 98% случаев очаговых форм заболевания наблюдались среди непривитых пациентов, в 2% случаев – среди вакцинированных. Однако летальных исходов среди привитых за анализируемый период не наблюдалось. В то время как на соседних территориях – Челябинской и Курганской областях нами были выявлены два случая летальных исходов у многократно вакцинированных больных (подробное описание случаев заболевания приводится в главе 9 диссертационного исследования). Несмотря на проводимую кампанию вакцинопрофилактики на эндемичных территориях в России в целом, до сих пор не разработаны критерии диагностики случаев заболевания вакцинированных лиц против КЭ, не изучены варианты динамики гуморального иммунитета у данной категории больных. Этиологическим агентом КЭ на большей части территории РФ является сибирский подтип вируса, в том числе на территории Свердловской области, тем не менее патогенность данного подтипа возбудителя остается малоизученной.

Наиболее уязвимой возрастной группой по заболеванию как КЭ, так и БЛ явились лица 60 лет и старше.

Постановка диагноза эритемной формы БЛ не представляет трудностей, но безэритемная форма заболевания требует дифференциальной диагностики с наиболее распространенной лихорадочной формой КЭ и другими клещевыми инфекциями (например, МЭЧ, ГАЧ). На примере Свердловской области показано, что 37,3% составляет безэритемная форма заболевания. Этиология безэритемных форм представлена нами в главе 7 диссертационного исследования.

Заболеваемость новыми инфекциями – МЭЧ и ГАЧ с момента их официальной регистрации в 2013 г. в последние годы значительно снизилась, как было сказано выше, что вероятно связано с низкой настороженностью врачей-клиницистов к выявлению данных нозологий и отсутствием в настоящее время зарегистрированных ИФА тест-систем. Для оценки вклада данных заболеваний в структуру инфекций, передающихся иксодовыми клещами, нами, на примере Свердловской области, была изучена этиологическая роль данных инфекций в структуре заболеваемости трансмиссивных клещевых заболеваний в 2021 г. Результаты представлены в главе 7 диссертационного исследования.

Таким образом, следующие главы диссертации будут посвящены разработке и научно-методическому обоснованию применения современных методов диагностики в целях совершенствования эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

ГЛАВА 4. СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ БРЕМЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И БОЛЕЗНИ ЛАЙМА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

По данным статистики Роспотребнадзора наиболее распространенными природно-очаговыми трансмиссивными клещевыми инфекциями являются КЭ и БЛ. При этом в общую «графу диагностики и учета» БЛ в настоящее время входят как инфекции, вызываемые боррелиями группы *Borrelia burgdorferi sensu lato*, так и инфекции, вызываемые *Borrelia miyamotoi sensu lato*. Абсолютное число больных КЭ и БЛ не так велико, однако они могут приводить к неблагоприятным исходам, в т.ч. смертельным, ухудшать качество жизни при развитии хронических форм и требовать расходования существенных ресурсов здравоохранения.

Для оценки социально-экономического бремени (анализ стоимости болезни) КЭ и БЛ была разработана математическая (вероятностная) модель, описывающая возможные затраты, связанные с изучаемыми заболеваниями, а также количество потерянных вследствие данного заболевания лет жизни с поправкой на нетрудоспособность и снижение качества жизни (DALY) [276; 277].

Расчет затрат производился на когорту больных, заболевших в одном календарном году, для РФ в целом и для отдельных субъектов РФ. Временной горизонт моделирования составлял всю ожидаемую продолжительность жизни пациентов. Величина бремени рассчитывалась в ценах 2011 г. в предположении отсутствия экономического роста, а также неизменного половозрастного состава населения РФ на протяжении всего моделируемого периода.

Работа была выполнена совместно с д.м.н., профессором кафедры общественного здравоохранения и профилактической медицины Первого ММУ им. И. М. Сеченова – М. В. Авксентьевой и к.м.н., директором автономной некоммерческой организации «Национальный центр при оценке технологий в здравоохранении» – Е. В. Деркач в период 2012-2013 гг.

Общий вид модели.

Как принято в оценке социально-экономического бремени заболевания в данной модели рассчитывались прямые (медицинские и немедицинские) и косвенные затраты, обусловленные КЭ и БЛ в РФ.

Прямые медицинские затраты подразумевали расходы на оказание медицинской помощи в амбулаторных (посещение врачей при лечении острой формы заболевания, диспансерном наблюдении, хроническом заболевании и инвалидности – при КЭ) и стационарных (лечение острой или хронической формы заболевания) условиях, а также обеспечение необходимыми лекарственными средствами для инвалидов (при КЭ). Прямые немедицинские затраты включали пособия по временной нетрудоспособности в период лечения острой формы заболевания и

пособия по инвалидности при инвалидизации в исходе болезни (при КЭ), косвенные затраты – недополученный вклад в производство продукции.

Пособия по временной нетрудоспособности и косвенные затраты учитывались только для пациентов в трудоспособном возрасте.

Все затраты также были разделены по времени их возникновения (основным периодом, используемым в модели, является один год):

1. Затраты, возникшие в первоначальный период времени (нулевой период) и связанные с острым заболеванием;

2. Отложенные затраты, вызванные инвалидизацией больного или хронизацией заболевания (время их первоначального возникновения – период, следующий за окончанием острой формы заболевания); часть из них начисляется в течение всей оставшейся жизни пациента ежегодно (упущенный вклад в производство продукции вследствие инвалидизации), а часть в течение ограниченного периода времени (затраты на необходимое лечение и/или диспансерное наблюдение);

3. Отложенные экономические потери, связанные со смертью больного (упущенный вклад в национальный доход, который в иных условиях мог быть получен от момента выздоровления до достижения пенсионного возраста).

Все отложенные затраты приведены (дисконтированы) к нулевому году по ставке 5%.

В модели учтено, что каждое заболевание может проявляться в разных по клиническим проявлениям вариантах (клиническим формам), определяющим объемы оказания медицинской помощи и клинические исходы, от которых в свою очередь зависят затраты.

Так, КЭ имеет три основные клинические формы: лихорадочная, менингеальная и очаговая, которые определяют объемы оказания медицинской помощи и исходы (выздоровление, хронизация патологического процесса, инвалидизация пациентов) (Таблица 32). Данные формы являются взаимоисключающими, а сумма вероятностей (частот) всех форм составляет единицу (100%).

БЛ, в свою очередь, представлена двумя клиническими формами: эритемная и безэритемная (Таблица 32).

Таблица 32 – Клинические формы КЭ и БЛ, учитываемые в модели [226; 230]

Заболевания	Клинические формы	Варианты заболевания
КЭ	Лихорадочная форма	1
	Менингеальная форма	2
	Очаговая форма	3
БЛ	Эритемная форма	1
	Безэритемная форма	2

Популяция пациентов была разделена на три возрастные группы:

1. Лица моложе трудоспособного возраста (0-17 лет);
2. Лица трудоспособного возраста (18-59 лет);
3. Лица старше трудоспособного возраста (60 лет и старше).

Для распределения пациентов по возрастным группам была взята эмпирическая функция распределения, составленная по данным наблюдений за заболеваемостью КЭ и БЛ за период 2006-2012 гг. В силу того, что информация о возрасте пациентов не всегда является полной и доступной, было принято допущение, что внутри каждого возрастного интервала распределение заболевших по возрасту является равномерным, т.е. в среднем пациент находится в середине возрастного интервала. Для лиц моложе трудоспособного возраста возраст в середине интервала составляет 9 лет, для трудоспособного – 39 лет, для лиц старше трудоспособного возраста – 65 лет.

Таким образом, в настоящей модели для каждого заболевания представлено от 6 до 9 возможных базовых состояний, которые учитывают возраст пациента и клиническую форму заболевания. При каждом из таких состояний реализуются два основных варианта лечения: амбулаторное и стационарное.

Пациент, получающий амбулаторную помощь, в 100% случаев полностью выздоравливает, после чего, в зависимости от заболевания, он может перейти на диспансерное наблюдение или не получать в дальнейшем медицинской помощи. Длительность амбулаторного лечения, диспансерного наблюдения и объемы оказания медицинской помощи определены для каждого из возможных базовых состояний.

В случае, если пациент получает помощь в стационаре, возможны пять взаимоисключающих исходов:

1. Полное выздоровление;
2. Переход на амбулаторное лечение с последующим выздоровлением;
3. Хронизация болезни;
4. Инвалидизация пациента;
5. Летальный исход.

Вероятность наступления каждого из данных исходов определяется независимо для каждой формы заболевания и возрастной группы пациентов.

Варианты развития, положенные в основу модели, приведены на Рисунке 88.

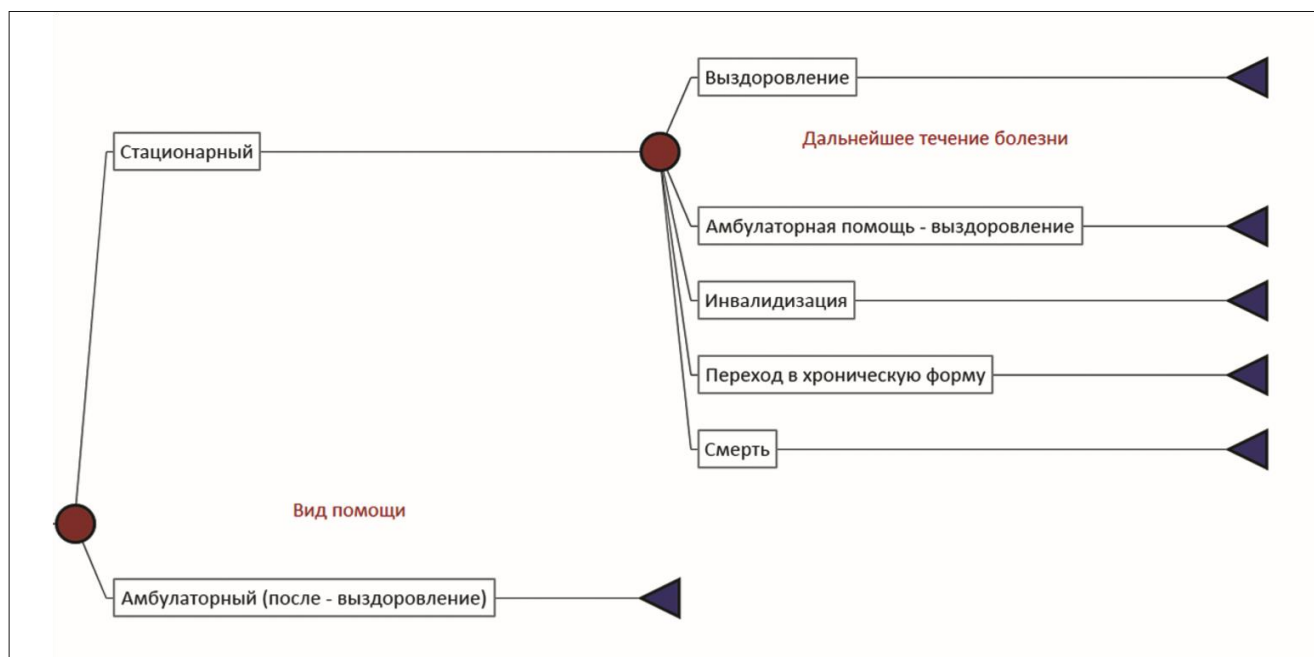


Рисунок 88 – Возможные варианты оказания медицинской помощи при КЭ

В случае полного выздоровления пациент может находиться в течение определенного времени под диспансерным наблюдением, параметры которого определены для каждой возрастной группы пациентов и для каждой формы заболевания.

В случае хронизации заболевания или инвалидизации пациент ежегодно будет получать определенный объем стационарной и/или амбулаторной помощи. Объем не зависит от изначального варианта заболевания и возраста пациента.

Для пациентов трудоспособного возраста в модели учитываются прямые немедицинские затраты и косвенные издержки за период отсутствия на работе из-за болезни. В случае смерти пациента моложе 60 лет также возникают дополнительные косвенные издержки, связанные с выбытием рабочей силы – недополученным вкладом в валовый региональный продукт (ВРП).

Расчет затрат.

В модели рассчитаны прямые медицинские, прямые немедицинские и косвенные затраты.

К прямым медицинским относятся затраты:

- на посещение врачей при амбулаторном лечении острой формы, диспансерном наблюдении, хроническом заболевании и инвалидности;
- стационарное лечение острой или хронической формы;
- обеспечение необходимыми лекарственными средствами инвалидов.

К прямым немедицинским затратам относятся пособия по временной нетрудоспособности в период лечения острой формы и пособия по инвалидности при инвалидизации в исходе болезни.

К косвенным затратам относится недополученный вклад в производство продукции.

Пособия по временной нетрудоспособности и косвенные затраты учитывались только для пациентов в трудоспособном возрасте.

Все затраты, связанные с лечением больных с острой формой заболевания, а также упущенное производство продукции, вызванное временной нетрудоспособностью этих больных, относятся к затратам, возникающим непосредственно в первоначальный период времени (нулевой период). Затраты, вызванные хронизацией заболевания и инвалидизацией пациентов в результате перенесенного в нулевом периоде заболевания, относятся к отложенным затратам. Они начисляются в течение всей оставшейся жизни пациента ежегодно. Также к отложенным затратам относятся издержки на проведение диспансерного наблюдения пациентов, перенесших в нулевом периоде острую форму заболевания, однако в отличие от других отложенных затрат, они начисляются лишь в течение ограниченного периода времени. Все отложенные затраты приведены (дисконтированы) к нулевому году по ставке 5%.

В итоге рассчитанное общее социально-экономическое бремя заболевания представляет собой все затраты, которые возникают в результате распространения определенного заболевания в течение одного года. Эти затраты, приведенные к нулевому периоду независимо от времени их начисления, рассчитываются в ценах нулевого периода.

Формулы для расчета каждого вида затрат приведены в статье (в приложении) [276].

Показатели модели.

Информация о значениях ключевых параметров модели для изучаемых заболеваний была получена из данных государственного статистического наблюдения (ГСН, форма №2 Роспотребнадзора «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»; форма №62 «Сведения об оказании и финансировании медицинской помощи населению»), научных публикаций, нормативных документов, определяющих финансирование медицинской помощи в РФ. Часть данных, которых не удалось найти в публикациях и формах статистического наблюдения, приведена на основе экспертных оценок.

Значения ключевых показателей модели, заложенные в расчеты, и источники информации о них приведены в Таблицах 33-37.

Таблица 33 – Среднегодовое число больных и их распределение по возрастам и вариантам (клиническим формам) заболевания (2006-2012 гг.), %

Показатель	КЭ	БЛ
Среднегодовое число больных	3213	8195
Распределение больных по возрастам, %		
0-17 лет	15,0	10,0
18-59 лет	65,0	72,0
60 лет и старше	20,0	18,0
Распределение больных по вариантам заболевания, %		
1	60,5%	80,0
2	24,0%	20,0
3	15,5%	-

Таблица 34 – Частотные показатели модели оценки социально-экономического бремени для КЭ, %

Доля больных с тем или иным вариантом лечения и исхода заболевания, %	Форма заболевания		
	Лихорадочная	Менингеальная	Очаговая
Получающие амбулаторное лечение	0,0	0,0	0,0
Получающие стационарное лечение	100,0	100,0	100,0
Полное выздоровление	100,0	100,0	55,3
Переход на амбулаторную помощь	0,0	0,0	0,0
Переход в хроническую форму	0,0	0,0	17,0
Инвалидизация	0,0	0,0	13,0
Летальный исход	0,0	0,0	14,7

Таблица 35 – Частотные показатели модели оценки социально-экономического бремени для БЛ, %

Доля больных с тем или иным вариантом лечения и исхода заболевания, %	Форма заболевания			
	Эритемная		Безэритемная	
	0-17	18 лет и старше	0-17	18 лет и старше
Получающие амбулаторное лечение	0,0	0,0	0,0	0,0
Получающие стационарное лечение	100,0	100,0	100,0	100,0
Полное выздоровление	77,0	53,0	58,0	47,0
Переход в хроническую форму	23,0	47,0	42,0	53,0
Летальный исход	0,0	0,0	0,0	0,0

Таблица 36 – Показатели объемов медицинской помощи, использованные в модели оценки социально-экономического бремени для КЭ и БЛ

Показатель	КЭ, клинические формы			БЛ, клинические формы			
	Лихорадочная	Менингеальная	Очаговая	Эритемная		Безэритемная	
				0-17	18 лет и старше	0-17	18 лет и старше
Длительность лечения в стационаре, дней	20,1	32,6	32,6	15,0	15,0	21,0	21,0
Длительность диспансерного наблюдения, лет	1,0	3,0	3,0	3,0	2,0	3,0	2,0
Количество ежегодных посещений врача в течение диспансерного наблюдения*	4,0	4,0 или 2,0	4,0 или 2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Объем амбулаторного обслуживания хронических больных, посещений/год	0,0	0,0	4,0	4,0	2,0	4,0	2,0
Объем стационарного обслуживания хронических больных, койко-дней/год	0,0	0,0	0,0	1,0	2,0	1,0	2,0

Примечание: При менингеальной и очаговой формах КЭ число посещений в первый год – 4, а затем в течение 3-х лет по 2 раза в год; при лихорадочной форме КЭ число посещений составляет 4 в течение первого года.

Таблица 37 – Стоимостные показатели модели

Показатель	Значение	Источник информации
Затраты на один койко-день в стационаре, руб.	1590,00	Доклад о реализации Программы государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи в 2011 г. [64]
Относительный коэффициент стоимости одного койко-дня госпитализации в стационар (отделение) инфекционного профиля*		
Взрослые	1,2	Письмо Минздравсоцразвития России от 17.12.2010 №20-2/10/2-12028 [226]
Дети	1,4	Письмо Минздравсоцразвития России от 17.12.2010 №20-2/10/2-12028 [226]
Затраты на одно амбулаторное посещение, руб.	253,3	Доклад о реализации Программы государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи в 2011 г. [64]
Относительный коэффициент стоимости одного посещения врача-инфекциониста*		
Взрослые	1,3	Письмо Минздравсоцразвития России от 17.12.2010 №20-2/10/2-12028 [226]

Продолжение Таблицы 37

Дети	1,3	Письмо Минздравсоцразвития России от 17.12.2010 №20-2/10/2-12028 [226]
Средневзвешенная стоимость рецепта на лекарства в рамках программы обеспечения необходимыми лекарственными средствами (для инвалидов), руб. в мес.	492,0	Обзор фармацевтического рынка России в 2011 г., подготовленный компанией DSM Group [293]
Средний размер пенсии по инвалидности, руб. в мес.	5600,0	Информация Пенсионного фонда РФ о среднем размере пенсии по инвалидности в 2011 г. (после индексации 01.02.2011) [222]
Средняя начисленная заработная плата, руб.	22 185	Росстат, данные за 2011 г. [251]
Среднесписочная численность рабочей силы, тыс. чел.	70 856	Росстат, данные за 2011 г. [251]
Валовой региональный продукт, млрд руб.	45 265	Росстат, данные за 2011 г. [251]

Примечание: *Уровень субъекта Федерации.

Расчет числа потерянных лет жизни с поправкой на нетрудоспособность.

Расчет числа потерянных лет жизни с поправкой на нетрудоспособность проводился по формуле [758]:

$$DALY = YLL + YLD_a + YLD_{ch} + YLD_{dis},$$

где

$$YLL = \sum_{zz \in ZZ} \sum_{yy \in YY} {}_{yy}Death_{zz} \cdot {}_{yy}HS\%_{zz} \cdot {}_{yy}Age \cdot Type_{zz} \cdot Patients \cdot {}_{yy}Life$$

$$YLD_a = \sum_{zz \in ZZ} \sum_{yy \in YY} DW_a \cdot ({}_{yy}HS\%_{zz} \cdot ({}_{yy}HSQ_{zz} + {}_{yy}AMHS\%_{zz} \cdot {}_{yy}AmDays_{zz}) + {}_{yy}AM\%_{zz} \cdot {}_{yy}AmDays_{zz}) \cdot {}_{yy}Age \cdot Type_{zz} \cdot Patients$$

$$YLD_{ch} = \sum_{zz \in ZZ} \sum_{yy \in YY} DW_{ch} \cdot {}_{yy}Ch\%_{zz} \cdot {}_{yy}HS\%_{zz} \cdot {}_{yy}Age \cdot Type_{zz} \cdot Patients \cdot {}_{yy}Life$$

$$YLD_{in} = \sum_{zz \in ZZ} \sum_{yy \in YY} DW_{in} \cdot {}_{yy}In\%_{zz} \cdot {}_{yy}HS\%_{zz} \cdot {}_{yy}Age \cdot Type_{zz} \cdot Patients \cdot {}_{yy}Life$$

Веса нетрудоспособности (коэффициент, отражающий тяжесть заболевания по шкале от 0 до 1, где 0 – идеальное здоровье, а 1 – смерть [758]), использованные при расчете DALY (DW), были получены путем экспертной оценки (на основании анализа имеющихся весов для заболеваний, максимально близких по клинической картине к КЭ и БЛ и их последствиям).

Расшифровка других обозначений показателей и формулы для их вычисления даны в Приложении А [276].

При острой лихорадочной форме КЭ вес нетрудоспособности был принят за 0,19, при менингеальной форме – 0,62, при очаговой форме – 0,62. Вес нетрудоспособности при хронической форме заболевания был принят за 0,12, а при инвалидизации – 0,38.

При острой эритемной форме БЛ вес нетрудоспособности был принят за 0,02, при безэритемной – 0,24. Вес нетрудоспособности при хронической форме заболевания был принят как при КЭ за 0,12 (Таблица 38).

Таблица 38 – Значение весов нетрудоспособности при острых стадиях заболевания, при хроническом КЭ и БЛ, инвалидизации при КЭ, использованные для расчета DALY

Заболевание	Острая стадия заболевания			Хроническое заболевание	Инвалидизация
	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3		
КЭ	0,19	0,62	0,62	0,12	0,38
БЛ	0,02	0,24	–	0,12	–

Расчет фактического социально-экономического бремени КЭ на уровне субъектов Федерации.

Методология расчета фактического социально-экономического бремени КЭ на уровне субъектов Федерации в целом выполнена аналогично расчетам, описанным выше, однако имелись следующие особенности, обусловленные различиями в формах представления данных о заболеваемости и смертности.

1. Для расчета фактического денежного социально-экономического бремени заболевания по регионам были использованы статистические данные на уровне субъектов РФ: общее количество заболевших определенным заболеванием, общее количество смертей от данного заболевания, валовой региональный продукт (ВРП), число занятых, средняя начисленная заработная плата, а также фактические показатели финансирования единицы объема медицинской помощи. Затраты на обеспечение основными лекарственными средствами, а также пенсии по инвалидности были приняты равными средним значениям по РФ для всех регионов РФ в связи с отсутствием иных сведений в открытом доступе.

2. Для каждого региона, исходя из данных государственного статистического наблюдения, использовались фактические данные о смертности, а также своя функция распределения заболевших по возрасту. Поскольку в данных Роспотребнадзора (форма 2) нет разделения на лиц трудоспособного возраста и лиц старше трудоспособного возраста, распределение лиц старше 17 лет между данными группами произведено в соответствии с

Таблицей 36. На предыдущем этапе работы (при оценке бремени для РФ в целом) в модели были использованы не фактические данные о числе смертей в различных возрастных группах, а вероятность смерти в зависимости от формы заболевания (но вне зависимости от возраста).

Методология расчета потерянных лет трудоспособной жизни (DALY) на региональном уровне также в целом аналогична расчету на уровне РФ. Единственным различием является использование в первом случае данных о фактической смертности по возрастам в регионах РФ.

Сводная информация о социально-экономическом бремени КЭ и БЛ приведена в Таблице 39.

Таблица 39 – Социально-экономическое бремя КЭ и БЛ в РФ

Заболевание	Общее экономическое бремя, руб.	В том числе по вариантам (формам) заболевания, руб. (%)		
		Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
КЭ	1 261 081 213	143 750 084	92 304 459	1 025 026 669
	100%	11,4%	7,4%	81,2%
БЛ	782 957 262	587 362 950	195 594 313	-
	100%	75,0%	25,0%	-

Общее экономическое бремя, обусловленное заболеваемостью КЭ в течение календарного года, составляет 1,26 млрд. руб. При этом наиболее дорогостоящей формой данного заболевания является очаговая, на долю которой приходится более 80% всех затрат, несмотря на то, что эта форма отмечается лишь у 15,5% больных. Доли лихорадочной и менингеальной форм в структуре затрат составляют всего 11,4 и 7,4%, а доли больных – 60,5 и 24,0%, соответственно (Рисунок 89).

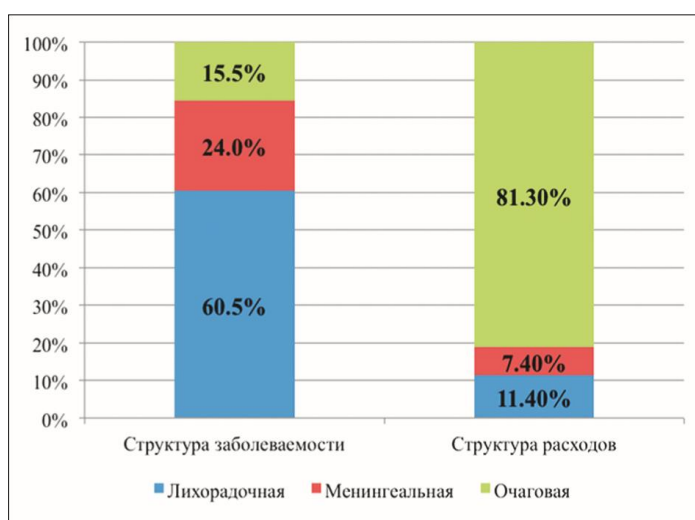


Рисунок 89 – Доля клинических форм КЭ в структуре заболеваемости и стоимости болезни

Число потерянных лет трудоспособной жизни (DALY), обусловленное КЭ, в РФ составило 4177, и практически все они ассоциированы с очаговой формой заболевания (Таблица 40).

Таблица 40 – Число потерянных лет трудоспособности (DALY) из-за КЭ и БЛ

Заболевание	Общее бремя, DALY	В том числе по вариантам (формам) заболевания, руб. (%)		
		Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
КЭ	4177	21	43	4113
	100%	0,5%	1,0%	98,5%
БЛ	16 370	12 588	3782	-
	100%	77,0%	23,0%	-

Основная доля бремени КЭ образуется за счет отложенных косвенных затрат: недополученного вклада в производство за счет выбытия рабочей силы. Текущие затраты, как медицинские, так и социальные, занимают значительно меньшую долю в общем объеме бремени (Рисунок 90).

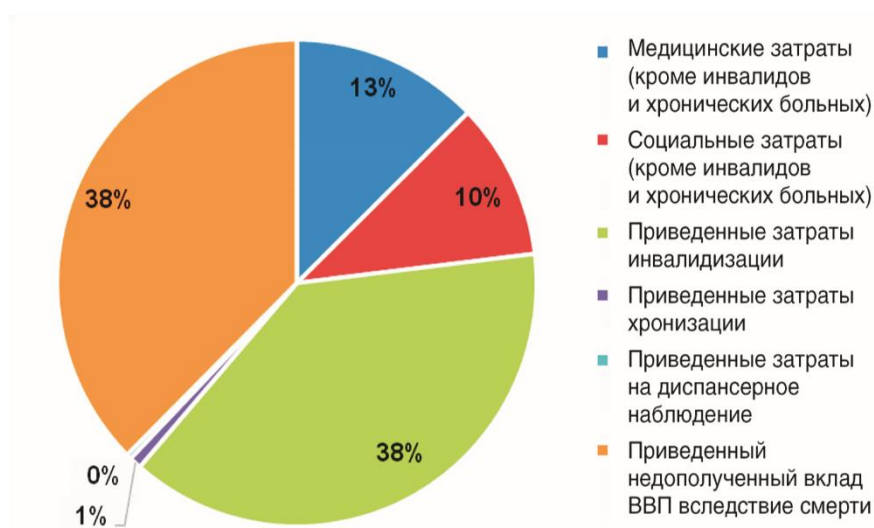


Рисунок 90 – Структура затрат, обусловленных КЭ в РФ

Доля медицинских расходов составляет около 11% в общих расходах на заболевание (Таблица 41). В абсолютном выражении система здравоохранения тратит на оказание медицинской помощи заболевшим КЭ в одном календарном году 173,9 млн. руб., причем большая часть уходит на больных в остром периоде заболевания. Наибольшая доля в общем бремени приходится на отложенные немедицинские расходы, обусловленные нетрудоспособностью больных.

Таблица 41 – Социально-экономическое бремя от КЭ: медицинские и немедицинские затраты, руб.

Затраты	Руб.	%
Медицинские, всего	173 907 130	13,8
В том числе:		
текущие	159 554 763	12,7
отложенные	14 352 367	1,1
Немедицинские, всего	1 087 174 983	86,2
В том числе:		
текущие	131 457 714	10,4
отложенные	955 716 369	75,8
Всего	1 261 081 213	100

Затраты на одного больного КЭ в среднем составляют около 392 тыс. руб. в год. Очаговая форма КЭ является наиболее дорогостоящей (около 2050 тыс. руб. в расчете на одного пациента), что связано с высокой смертностью в трудоспособном возрасте и, соответственно, со значительными косвенными затратами (Таблица 42).

Таблица 42 – Затраты на одного больного КЭ общие и в зависимости от формы заболевания и возраста

Показатель	Значение, руб.
Затраты на одного больного, всего	392 493
Затраты на одного больного в зависимости от формы заболевания	
Лихорадочная	73 951
Менингеальная	119 702
Очаговая	2 058 224
Затраты на одного больного в зависимости от возраста	
0-17 лет	412 939
18-59 лет	490 322
60 лет и старше	59 215

Социально-экономическое бремя, обусловленное заболеваемостью БЛ в течение одного календарного года, составляет – 782,9 млн. руб. и большая его часть приходится на эритемную форму заболевания (75% затрат) (Таблица 39).

Число потерянных лет трудоспособной жизни (DALY), обусловленное БЛ, в РФ составило 16 370, и большая часть приходится на эритемную форму заболевания (Таблица 40).

В расчете на одного больного БЛ примерно в 4 раза наименее дорогостоящее заболевание по сравнению с КЭ: затраты составляют в среднем 95 тыс. руб. на человека при небольших различиях в стоимости между формами заболевания (Таблица 43).

Таблица 43 – Экономический ущерб в расчете на одного больного БЛ

Показатель	Значение, руб.
Затраты на одного больного, всего	95 541
Затраты на одного больного в зависимости от формы заболевания	
эритемная	89 591
безэритемная	119 336

В Таблице 44 приведена структура социально-экономического бремени БЛ, с точки зрения соотношения медицинских и немедицинских, текущих и отложенных затрат. В структуре бремени БЛ присутствуют отложенные медицинские затраты, обусловленные хронизацией заболевания. Доли отложенных немедицинских затрат от БЛ составляют 25,1%, которые образуются из-за временной нетрудоспособности хронических больных.

Таблица 44 – Социально-экономическое бремя БЛ: медицинские и немедицинские затраты, руб.

Затраты	Руб.	%
Медицинские, всего	346 067 110	44,2
В том числе:		
текущие	263 856 597	33,7
отложенные	82 210 513	10,5
Немедицинские, всего	436 890 152	55,8
В том числе:		
текущие	240 367 879	30,7
отложенные	196 522 273	25,1
Всего	782 957 262	100

По результатам исследования (2006-2012 гг.) бремя заболевания КЭ было распределено по территории России неравномерно (Рисунок 91). Лидерами по величине социально-экономического бремени КЭ, рассчитанного на основании среднегодовой численности больных, стали:

1. Красноярский край – 203 млн. руб.,
2. Тюменская область – 86 млн. руб.,
3. Томская область – 74 млн. руб.,
4. Свердловская область – 66 млн. руб.,
5. Пермский край – 58 млн. руб.

При пересчете на количество населения список областей с максимальным экономическим ущербом от КЭ выглядит несколько иначе.

1. Томская область – 72 млн. руб. на 1 млн. населения,

2. Красноярский край – 71 млн. руб. на 1 млн. населения,
3. Тюменская область – 65 млн. руб. на 1 млн. населения,
4. Архангельская область – 34 млн. руб. на 1 млн. населения,
5. Республика Алтай – 34 млн. руб. на 1 млн. населения.

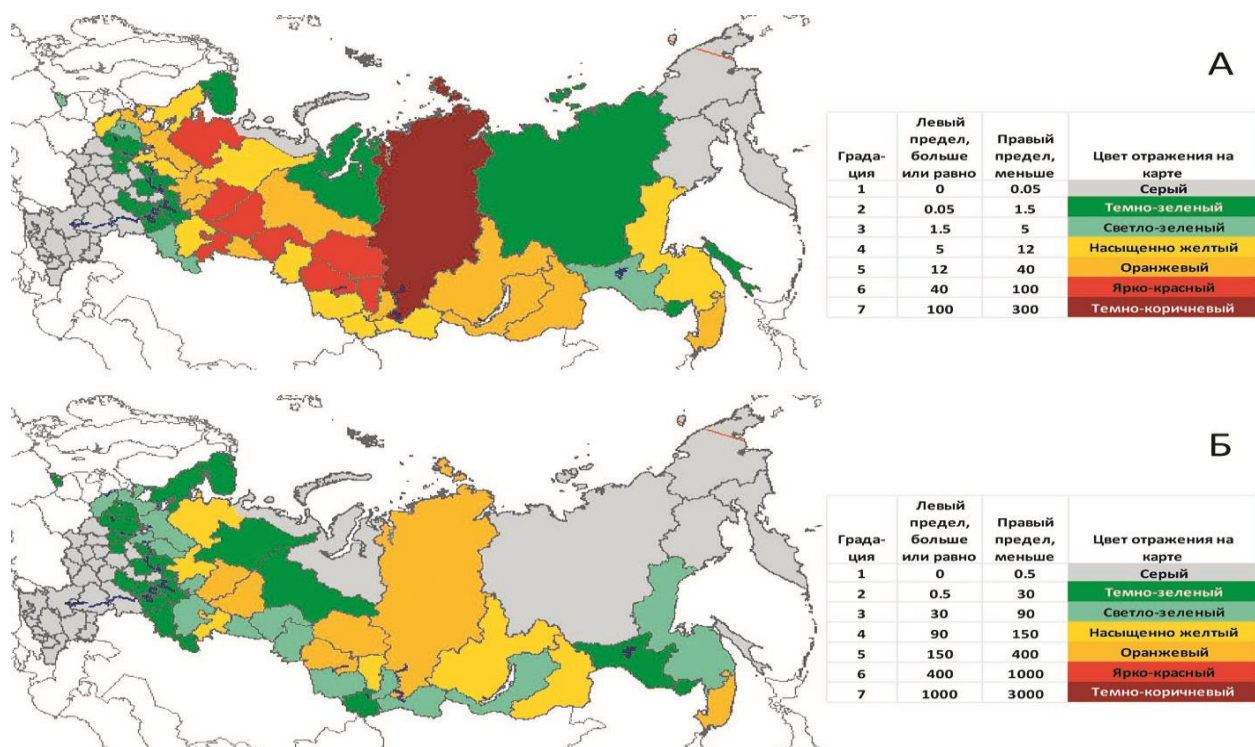


Рисунок 91 – Экономический и социально-медицинский ущерб от КЭ в РФ

А. Экономический ущерб, млн. руб., средний показатель за 2006-2012 гг.

Б. DALY (количество потерянных лет полноценной жизни), средний показатель за 2006-2012 гг.

В связи с тем, что имеются существенные различия между регионами как по числу больных, так и по экономическим показателям (финансирование медицинской помощи, ВРП и средняя заработная плата), мы проанализировали, есть ли зависимость между величиной бремени заболевания на региональном уровне и числом заболевших в регионе. В целом, такая зависимость между фактическими затратами, обусловленными КЭ, и общим количеством заболевших по регионам явно прослеживается (Рисунок 92). Из этого следует, что первичным фактором, определяющим распределение затрат между регионами, является заболеваемость, а не стоимость медицинской помощи. Нужно, однако, заметить, что в двух лидирующих по объему бремени регионах – Красноярском крае и Тюменской области – существенный вклад в него вносит и высокий уровень финансирования медицинской помощи.

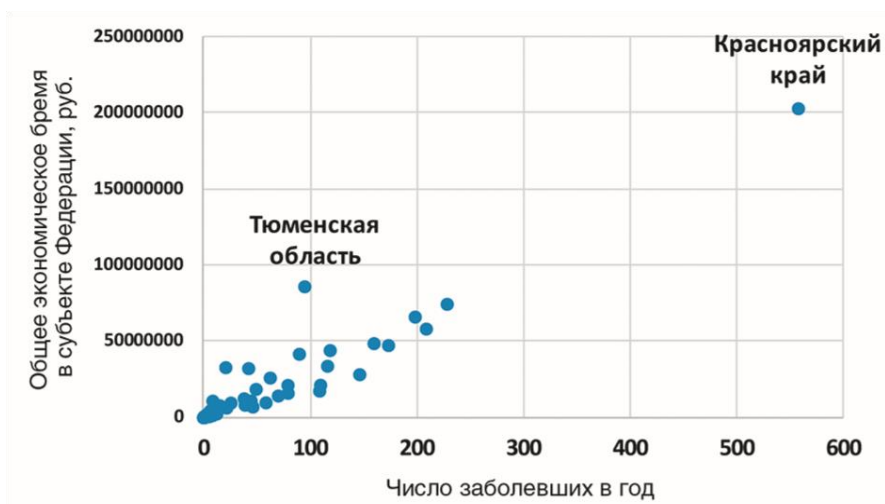


Рисунок 92 – Соотношение регионального экономического бремени КЭ и числа заболевших

Лидерами по величине социально-экономического бремени БЛ являются: Москва (135 млн. руб.), Санкт-Петербург (77 млн. руб.), Свердловская область (74 млн. руб.), Пермский край (39 млн. руб.) и Кировская область (36 млн. руб.).

На Рисунке 93 изображена зависимость между общим размером бремени БЛ в денежном выражении и числом больных в регионе (каждая точка соответствует одному субъекту РФ). Различия социально-экономического бремени между регионами обусловлены как числом заболевших, так и стоимостью медицинской помощи. В субъектах РФ с существенно более высокими нормативами финансовых затрат на оказание медицинской помощи, чем в среднем по РФ, размер экономического бремени превышает таковой в регионах с меньшим числом заболевших. К таким субъектам относится Москва, где бремя БЛ максимально в денежном выражении, хотя по числу заболевших она занимает второе место после Свердловской области. Аналогично, Санкт-Петербург занимает второе место по размеру бремени БЛ и лишь пятое – по числу заболевших. В Кировской области и Пермском крае, например, число заболевших больше, а бремя существенно меньше, чем в Санкт-Петербурге.

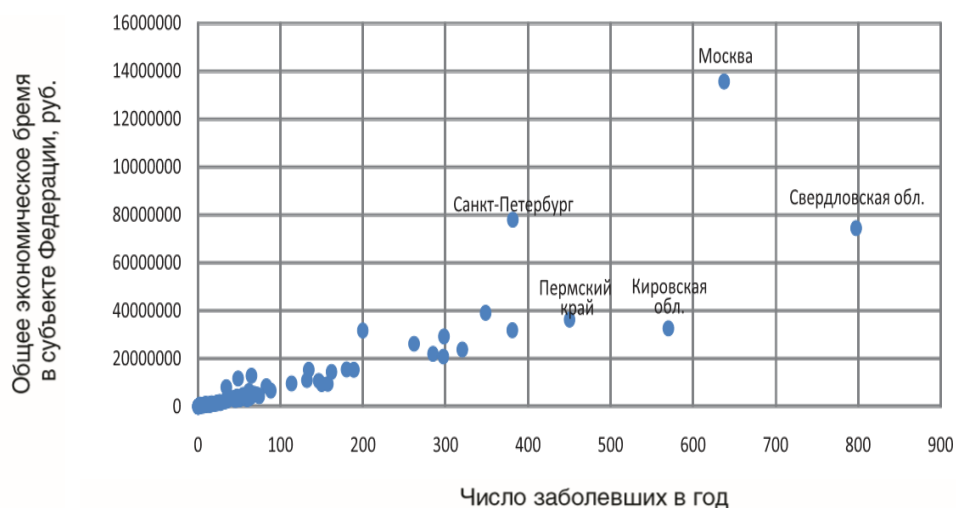


Рисунок 93 – Зависимость величины экономического бремени в денежном выражении при БЛ. Руб. (ось Y) от числа больных (ось X)

Таким образом, общее социально-экономическое бремя, обусловленное, КЭ и БЛ составляет, по ценам 2011 г., 2,04 млрд руб. и 20 547 потерянных лет трудоспособной жизни. Источники экономических потерь определяются течением заболеваний: это и текущие медицинские расходы на пребывание в стационаре, и текущие немедицинские расходы (выплата пособий по временной нетрудоспособности, упущенный вклад в производство), а также отложенные немедицинские расходы, возникающие вследствие хронизации заболевания и смерти пациентов, если такие события имеют место.

В исследовании имелись определенные ограничения, обусловленные дефицитом данных и свойственные практически всем работам по оценке стоимости заболеваний в нашей стране. Так, сведения об объемах медицинской помощи, оказываемой больным с КЭ, в основном определены путем экспертной оценки, поскольку государственным статистическим наблюдением они не собираются. Распределение больных по формам заболевания и вероятности различных исходов определены на основании выборочных исследований.

При расчете числа потерянных лет трудоспособной жизни мы применяли подход, рекомендованный ранее [572]: веса нетрудоспособности, использованные при расчете DALY, были получены путем экспертной оценки, основанной на анализе имеющихся весов для заболеваний, максимально близких по клинической картине к КЭ и его последствиям [705].

Мы не учитывали затраты на посещение врача при обнаружении и присасывании клещей и на профилактику КЭ (акарицидную обработку, вакцинацию), поскольку нет достаточных данных об объемах этих мероприятий. Оценить обусловленные ими затраты можно только в выборочных исследованиях, что может быть сделано в дальнейшем.

Как ранее было сказано, расчет затрат производился на когорту больных, заболевших в одном календарном году (величина бремени рассчитывалась в ценах 2011 г.). При расчетах было сделано два допущения: отсутствие экономического роста и неизменность половозрастного состава населения РФ на протяжении всего моделируемого периода. Таким образом, фактически работа проводилась в 2012-2013 гг., а анализируемый период включил 2006-2012 гг. Мы понимаем, что за 2012-2021 гг. могли существенно измениться экономические характеристики изученных показателей. Однако, учитывая динамику заболеваемости за период 2012-2021 гг., которая представлена в предшествующей главе 4 настоящего диссертационного исследования, в РФ наблюдается тенденция к снижению заболеваемости КЭ, отчасти это связано с кампанией массовой вакцинопрофилактики, которая проводится на эндемичных территориях, тем не менее, несмотря на это, в ряде регионов ситуация остается напряженной. По БЛ в целом в РФ наблюдается также некоторая тенденция к снижению заболеваемости, особенно в период 2020-2021 гг., причины резкого снижения заболеваемости в этот период по сравнению с 2019 г. как КЭ, так и БЛ приведены в главе 4. Если рассматривать ВРП в качестве экономического показателя, влияющего на экономические расчеты, то, по данным Росстата, он вырос по сравнению с 2011 г. в 1,6-1,8 раза, именно во столько раз за период 2012-2021 гг. упала заболеваемость КЭ. Что касается БЛ, то она снизилась примерно в 1,3 раза (были высокие показатели заболеваемости в 2019 г. и низкие в 2020-2021 гг.). Таким образом, совокупное экономическое бремя КЭ и БЛ в денежном эквиваленте увеличилось незначительно, учитывая показатели ВРП. В любом случае ежегодная сумма ущерба от КЭ и БЛ в РФ превышает миллиард (возможно несколько миллиардов с учетом изменившихся экономических характеристик) рублей. Детализированные расчеты с более точными значениями сумм ущерба целесообразно проводить на региональном уровне.

Заключение по главе 4

Таким образом, расчетное экономическое бремя КЭ в РФ, обусловленное заболеваемостью за один календарный год (при среднегодовой численности больных 3123 человека), составляет 1,26 млрд. руб.; при этом КЭ приводит к потере 4177 лет трудоспособной жизни. Расчетное бремя БЛ составляет 782,9 млн. руб (при среднегодовой численности больных 8195 человека) и приводит к потере 16370 лет трудоспособной жизни. Общее социально-экономическое бремя, обусловленное, КЭ и БЛ составляет, по ценам 2011 г., 2,04 млрд руб. и 20 547 потерянных лет трудоспособной жизни.

Источники экономических потерь определяются течением заболеваний: это и текущие медицинские расходы на пребывание в стационаре, и текущие немедицинские расходы (выплата пособий по временной нетрудоспособности, упущенный вклад в производство), а также отложенные немедицинские расходы, возникающие вследствие хронизации заболевания и смерти пациентов, если такие события имеют место. Основная доля в структуре расходов по формам заболевания КЭ приходится на очаговую форму (81,2%), по видам затрат – на немедицинские расходы (прямые и косвенные, в сумме 86,2%); в медицинских расходах ведущую роль играют текущие затраты на лечение КЭ в остром периоде, в немедицинских – отложенные потери, связанные с инвалидизацией больных в результате заболевания и смертностью больных в трудоспособном возрасте. При БЛ основная доля расходов приходится на эритемную форму заболевания (75,0%), на безэритемную форму только четверть всех расходов (25,0%), по видам затрат – на немедицинские расходы (прямые и косвенные, в сумме 55,8%), в медицинских расходах ведущую роль играют текущие затраты на лечение БЛ в остром периоде, а отложенные медицинские расходы обусловлены хронизацией заболевания, отложенные немедицинские затраты образуются из-за временной нетрудоспособности больных с хроническим течением болезни.

Среди субъектов РФ лидерами по величине социально-экономического бремени КЭ являются: Красноярский край (203 млн. руб.), Тюменская область (86 млн. руб.), Томская область (74 млн. руб.), Свердловская область (66 млн. руб.) и Пермский край (58 млн. руб.). Несмотря на различия в экономических показателях между регионами (финансирование медицинской помощи, ВРП и средняя заработная плата), прослеживается прямая связь между фактическими средними затратами вследствие КЭ и общим количеством заболевших по регионам. В случае БЛ лидерами по величине социально-экономического бремени являются: Москва (135 млн. руб.), Санкт-Петербург (77 млн. руб.), Свердловская область (74 млн. руб.), Пермский край (39 млн. руб.), Кировская область (36 млн. руб.). Различия социально-экономического бремени между регионами обусловлены как числом заболевших, так и стоимостью медицинской помощи.

Величина и направленность средств, вкладываемых в профилактические, противоэпидемические и лечебные мероприятия, должна определяться дифференцировано, с учетом различия размеров социально-экономического бремени заболеваний по регионам и наиболее значимым природно-очаговым трансмиссивным клещевым инфекциям для регионов. Применение предлагаемой медико-экономической методологии должно предоставить фактическую основу для принятия управленческих решений. Разумеется, конкретные оценки ущерба от инфекционных заболеваний могут и должны меняться в зависимости от эпидемиологической ситуации и экономической обстановки в стране. Однако дополнительные

организационные мероприятия и финансовые вложения, адекватные относительно высокому и достаточно стабильному бремени трансмиссивных клещевых инфекций, в частности, изученных в данной работе (КЭ и БЛ), несомненно, будут оправданы как с социальной, так и с экономической точки зрения.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА, ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ И АПРОБАЦИЯ ПЦР-МЕТОДИК В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ

В рамках данного исследования были разработаны две методики, основанные на ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РРВ). Первая методика предполагает одновременное выявление четырех патогенов: вируса КЭ (*Tick-borne encephalitis virus, TBEV*), боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis* и *Ehrlichia muris* (без дифференциации). Вторая методика направлена на выявление ранее неизвестного, нового патогена клещевого боррелиоза – *Borrelia miyamotoi*. Разработка тест-систем была поддержана грантом Президента Российской Федерации молодым российским ученым (МК-1380.2010.7, 2010-2011 гг.). Выбор олигонуклеотидов (праймеры и зонды) был произведен руководителем научной группы разработки новых методов природно-очаговых заболеваний ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора – Л. С. Карань. Оптимизация и апробация методик проводились при непосредственном участии диссертанта. Обе тест-системы зарегистрированы на территории РФ и имеют коммерческие названия: «АмплиСенс® *TBEV, B. burgdorferi s.l., A. phagocytophilum, E. chaffeensis/E. muris*-FL» (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/09026 от 22.02.2019 г.) и «АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL» (регистрационное удостоверение № РЗН/7316 от 11.04.2019 г.) (производитель – ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора).

5.1. Методика на основе ПЦР в режиме реального времени для одновременного выявления основных четырех патогенов (*Tick-borne encephalitis virus, Borrelia burgdorferi sensu lato, Anaplasma phagocytophilum, Ehrlichia chaffeensis/Ehrlichia muris*) в клещах и клиническом материале

До 2008 г. ПЦР-РРВ методики, разработанные в ЦНИИ эпидемиологии (основной разработчик – Л. С. Карань) существовали в виде отдельных тест-систем, две из которых имели коммерческие названия «Амплисенс® *B. burgdorferi s.l.*-FL», «Амплисенс® ВКЭ-FL», методики для выявления *A. phagocytophilum*, *E. muris* и *E. chaffeensis* зарегистрированы не были. Молекулярно-биологический мониторинг за возбудителями, передающимися иксодовыми клещами показал их широкое распространение на различных территориях РФ, что обосновало необходимость создания и оптимизации ПЦР-РРВ методики для одновременного выявления

эпидемиологически значимых четырех патогенных для человека микроорганизмов – вируса КЭ, боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*/*E. muris* (без дифференциации) в биологическом материале (клещи, кровь, СМЖ, аутопсийный материал). Результаты молекулярно-биологического мониторинга клещей на наличие возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами, будут представлены в главе 7 диссертационного исследования.

Формат проведения мультиплексной ПЦР-РПВ позволяет детектировать сразу несколько мишеней в одной реакционной смеси. Поэтому цель создания данной методики заключалась в оптимизации проведения ПЦР-РПВ для увеличения количества одновременно определяемых мишеней и в адаптации существующих диагностических подходов для выявления генетического материала основных клещевых патогенов эпидемиологически значимых для РФ.

Данная ПЦР-РПВ методика основана на амплификации и детекции при помощи флуоресцентных меченных зондов специфичных мишеней в геномах вируса КЭ, боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*/*E. muris*. Выбранные для этой цели олигонуклеотиды и соответствующие специфические мишени (фрагменты генов) представлены в Таблице 45.

Таблица 45 – Олигонуклеотиды для определения вируса КЭ, боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*/*E. muris* методом ПЦР-РПВ

Выявляемый возбудитель	Ген (область амплификации)	Праймеры и зонды	5`-3` последовательность
Вирус клещевого энцефалита	С ген	ТВЕ-F ТВЕ-R ТВЕ-Z	CgCgTCAATCTAgAgTCCAAATgCCA gCAgTgCCggCTACggCgTgCCA (FAM)TCCCCATCATgCgCATCAACACggggA(BQH1)
<i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	16S рРНК	Brb1-F Brb2-R Brb-Z	TgCAAgTCAAACgggATgTACAATACA ggCTTCCTTTCATCAATTAACAAA (R6G)TAggTAgAT(BQH1)CATCCACgCgTТАCTACC
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	msp2 ген	A-F A-R A-Z	CAAgtTTTgACTggAACACTCCTgAT CACCACCAATACCATAACCAACACT (R6G)ggATTgggTTTAAggACAACATgCAATCCg(BQH1)
<i>Ehrlichia muris</i>	16S рРНК	E-F Em-R Em-Z	CggCAAgCCTAACACATgCAA ACCCgTCTgCCACTAATAgCgAACCTAT (ROX)gTCgAACggAT(BQH2)AgCTACCCATAgCTTCgAC
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	16S рРНК	E-F E-R Ech-Z	CggCAAgCCTAACACATgCAA TCACCCgTCTgCCACTAACAACAATTATT (ROX)CgAACggACAAT(BQH1)TgCTTATAACSTTTTggT

Мишенью для амплификации при детекции РНК вируса КЭ был выбран участок гена С длиной 84 пар нуклеотидов (п.н.), при детекции *B. burgdorferi* s.l., *E. muris* и *E. chaffeensis* – участок гена 16S рРНК длиной 146 п.н. и 83 п.н. соответственно, при детекции ДНК *A. phagocytophilum* – участок гена msp2, длиной 95 п.н. Подход, основанный на амплификации

участка РНК, кодируемый геном 16S рРНК позволяет увеличить чувствительность метода, поскольку число РНК копий в 100-1000 раз превышает ДНК-матрицу данного гена, кроме того, он позволяет при определении уровня ДНК и РНК в исследуемой пробе сделать вывод о жизнеспособности данного микроорганизма и его активном размножении.

Дизайн методики для одновременного выявления четырех патогенов включает две реакционные смеси: первая предназначена для выявления генетических (диагностических) мишеней вируса КЭ, *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*/*E. muris* (без дифференциации), вторая – для выявления специфичных мишеней боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. и внутреннего контрольного образца (ВКО). Включение олигонуклеотидов для выявления генетической мишени ВКО позволяет контролировать все этапы ПЦР-исследования для каждого образца и оценивать влияние ингибиторов на результаты ПЦР. Первая реакционная смесь содержит 4 пары праймеров и 4 зонда для определения четырех возбудителей. Продукт амплификации, соответствующий гену С вируса КЭ, определяется по каналу детекции для флуорофора FAM, 16S рРНК *E. chaffeensis* и *E. muris* – по каналу детекции для флуорофора ROX, участок гена *msp2* *A. phagocytophilum* – по каналу детекции для флуорофора R6G. Вторая реакционная смесь содержит 2 пары праймеров и 2 зонда для определения генетической мишени *B. burgdorferi* s.l. и амплификации ВКО. Продукт амплификации, соответствующий 16S рРНК *B. burgdorferi* s.l. определяется по каналу детекции для флуорофора R6G, РНК ВКО (ВКО-STI-87-rec) – по каналу детекции для флуорофора FAM (Таблица 46). Областью амплификации для РНК ВКО служит искусственно синтезированная нуклеотидная последовательность.

Таблица 46 – Соответствие флуорофоров и каналов детекции

Канал для флуорофора	Название канала детекции для разных моделей приборов
Канал для флуорофора FAM	FAM/Green
Канал для флуорофора JOE	JOE/HEX/R6G/Yellow/Cy3
Канал для флуорофора ROX	ROX/Orange/TxR

Методика пробоподготовки и выделения нуклеиновых кислот вышеперечисленных клещевых патогенов из биологического материала представлена в главе «Материалы и методы». После выделения РНК/ДНК возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами в биологическом материале данная методика предполагает отдельно проведение этапа обратной транскрипции (получение кДНК на матрице РНК). Схематичное изображение работы тест-системы представлено на Рисунке 94.

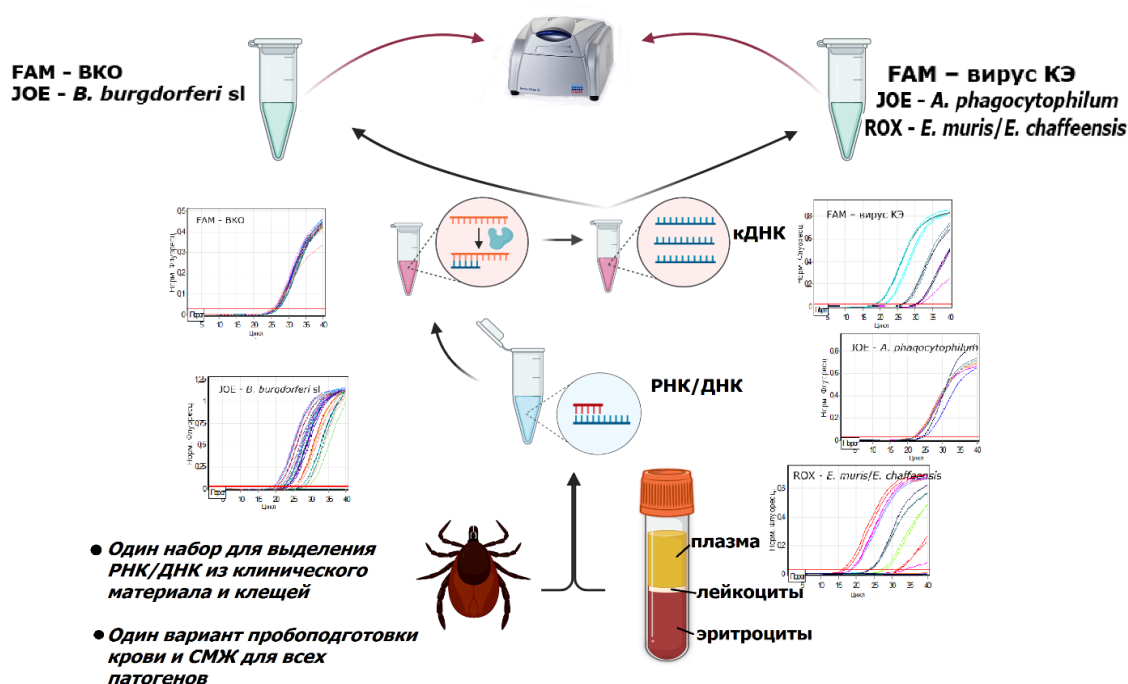


Рисунок 94 – Схема работы с набором реагентов «Амплисенс® *TBEV*, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» для выявления возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами в биологическом материале методом ПЦР-РРВ с гибридационно-флуоресцентной детекцией

Пример результатов определения возбудителей КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ с помощью данной методики представлен на Рисунке 95.

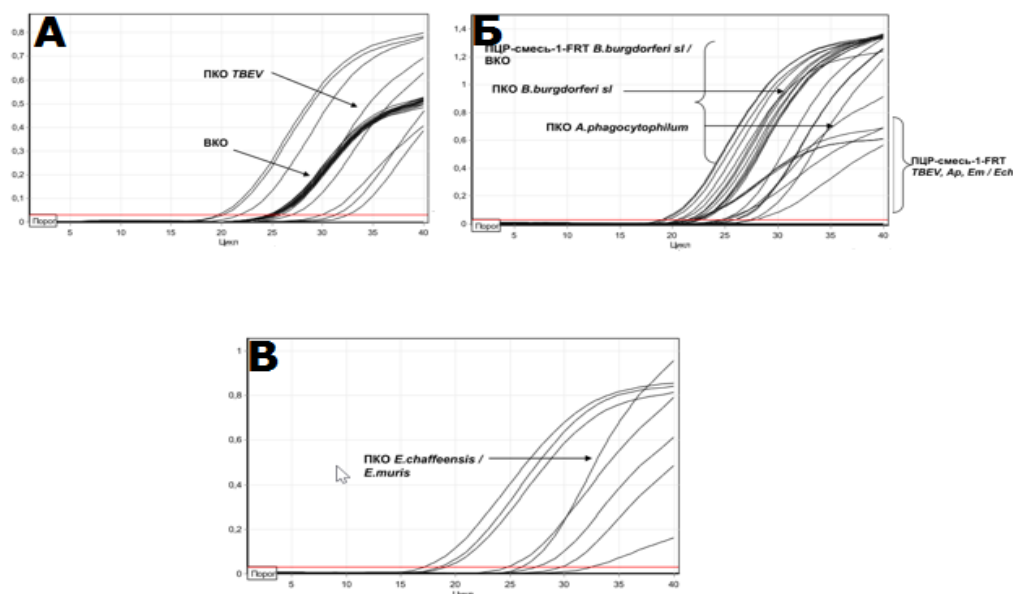


Рисунок 95 – Определение РНК/ДНК *TBEV*, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*/*E. muris* с помощью методики ПЦР-РРВ на приборе «Rotor Gene Q» («Qiagen», Германия)

Кривые, пересекающие пороговую линию, соответствуют положительным пробам, содержащим РНК/ДНК микроорганизмов: *TBEV* и ВКО – детектируются по каналу Green (А), *B. burgdorferi* s.l. и *A. phagocytophilum* – детектируются по каналу Yellow (Б), *E. chaffeensis*/*E. muris* – детектируются по каналу Orange (В). Таким образом, с помощью предложенного подхода в одной постановке на двух реакционных смесях проводится определение четырех (*E. chaffeensis* и *E. muris* без дифференциации) наиболее эпидемиологически значимых клещевых патогенных микроорганизмов.

Оценка аналитической специфичности данной диагностической тест-системы проводилась посредством добавления в реакцию геномной РНК/ДНК следующих микроорганизмов:

- вирусы семейства *Flaviviridae* (вирусы Западного Нила, Лангат, Повассан, японского энцефалита, Омской геморрагической лихорадки);
- спирохеты (*Borrelia miyamotoi*, *Treponema pallidum*, *Leptospira interrogans*, *Leptospira kirshneri*, *Leptospira borgpetersenii*);
- риккетсии группы пятнистых лихорадок (*Rickettsia conorii* subsp. *caspia*, *R. heilongiangensis*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*).

При работе с ДНК вышеперечисленных микроорганизмов, ДНК человека, ДНК клещей *I. persulcatus*, *I. ricinus*, *D. reticulatus*, *D. marginatus*, ДНК грызунов *Clethrionomys glareolus* (рыжая полевка) и *Apodemus agrarius* (полевая мышь) ложноположительных результатов не выявлено. Таким образом, специфичность тест-системы при анализе гетерологичных штаммов вирусов и бактерий составила 100%.

Определение аналитической чувствительности проводили с помощью защищенного положительного контрольного образца в разведениях 5×10^4 (СОП1), 5×10^3 (СОП2) и 5×10^2 (СОП3) копий в 1 мл. Разведения готовили с помощью РНК буфера, выделение с помощью набора для экстракции нуклеиновых кислот «Рибо-преп» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) из 100 мкл, реверсию проводили с помощью реагентов для обратной транскрипции «РЕВЕРТА-L» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). Каждое разведение исследовали в 6 повторах на приборах для проведения ПЦР в реальном времени Rotor Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия) и Rotor Gene Q (QIAGEN GmbH, Германия).

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) для всех микроорганизмов, оценивалась с помощью разведений и составила 5×10^3 копий на 1 мл образца. Значения пороговых циклов для концентрации, соответствующей 5×10^3 копий на 1 мл образца, измеренные в десяти повторах, находились в диапазоне от 34 до 38 циклов детекции.

Точность, воспроизводимость и повторяемость ПЦР-РПВ методики оценивали на разведениях ПКО ТБЕV-rec (РНК), ПКО *B. burgdorferi* s.l. multi-rec (16S рРНК), ПКО *E.*

chaffeensis-rec (16S рРНК), ПКО *E. muris*-rec (16S рРНК), ПКО *A. phagocytophillum* (ДНК) в концентрациях 5×10^4 , 5×10^3 и 5×10^2 копий в 1 мл. Проведение реакций осуществляли на вышеперечисленных приборах для проведения ПЦР-РРВ в разные дни.

Первичная апробация данной ПЦР-РРВ методики для выявления вышеописанных патогенов в клещах была подтверждена результатами исследования 363 иксодовых клещей, собранных в Дмитровском, Талдомском и Клинском районах Московской области в 2008 г. Клиническая апробация методики проводилась на материале, собранном в 2009 г. от 272 пациентов, госпитализированных в ООО МО «Новая больница» (Городской центр природно-очаговых инфекций) г. Екатеринбурга с заболеваниями, развившимися после присасывания клеща или посещения природных зон в эпидемический сезон. Также были исследованы ткани мозга от трех погибших от КЭ пациентов. Результаты апробации методики в клещах-переносчиках и клиническом материале представлены в главе 5.3.

5.2. Методика на основе ПЦР в режиме реального времени для выявления *Borrelia miyamotoi* в клещах и клиническом материале

Для выявления *B. miyamotoi* при мониторинге клещей и диагностики нового боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* в рамках данного исследования было разработано две методики – одна в качественном формате, вторая – в количественном, основанные на амплификации и детекции специфической мишени в геноме возбудителя при помощи флуоресцентного меченного зонда. Мишенью для амплификации при детекции *B. miyamotoi* был выбран участок гена *glpQ* длиной 86 п.н. Ген *glpQ* встречается только в группе боррелий возвратных лихорадок, к которой относится *B. miyamotoi*. Изначально разработка тест-системы в качестве мишени включала участок гена 16S рРНК, но после оценки соотношения РНК и ДНК-матрицы выяснилось, что разница незначительная (приблизительно в 4 раза) [540], таким образом, дальнейшая разработка была основана на использовании в качестве мишени участка гена *glpQ* ДНК *B. miyamotoi*.

Дизайн методики для выявления ДНК *B. miyamotoi* включает одну реакционную смесь, где продукт амплификации, соответствующий участку гена *glpQ* ДНК *B. miyamotoi*, определяется по каналу детекции для флуорофора ROX, ДНК экзогенного ВКО – по каналу детекции для флуорофора FAM. Областью амплификации для ДНК ВКО служит искусственно синтезированная нуклеотидная последовательность. Выбранные для этой цели олигонуклеотиды и соответствующая специфическая мишень (фрагмент гена) представлены в Таблице 47.

Таблица 47 – Олигонуклеотиды для определения ДНК *B. miyamotoi* методом ПЦР-РРВ

Выявляемый возбудитель	Ген (область амплификации)	Праймеры и зонды	5'-3' последовательность
<i>Borrelia miyamotoi</i>	glpQ ген	Brm1-F Brm2-R Brm-Z	CgCgTCAATCTAgAgTCCAAATgCCA gCAgTgCCggCTACggCgTgCCA (R6G)CCTggggAgTATgTTCgCAAgAATgAAACTC(BQH1)

Аналитическая специфичность диагностической тест-системы доказана при исследовании следующих штаммов микроорганизмов: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *Leptospira interrogans*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella quintana*, *B. henselae*, *Rickettsia conorii*, *R. sibirica*, *Babesia microti*, *Treponema pallidum*, а также геномной ДНК человека. При тестировании образцов ДНК вышеперечисленных микроорганизмов, а также ДНК человека, ДНК клещей и ДНК грызунов неспецифических реакций выявлено не было.

Точность, воспроизводимость и повторяемость ПЦР-РРВ методики оценивали на разведениях ПКО ДНК *B. miyamotoi* в концентрациях 1×10^4 (СОП1), 1×10^3 (СОП2) и 1×10^2 (СОП3) копий в 1 мл. Проведение реакций осуществляли на приборах для проведения ПЦР-РРВ Rotor Gene 3000/6000 и Rotor Gene Q в разные дни.

Аналитическая чувствительность в различных биологических материалах (клещи, кровь, СМЖ, аутопсийный биоматериал) ДНК *B. miyamotoi* составила 1×10^3 копий на 1 мл образца. Значения пороговых циклов для концентрации, соответствующей 10^3 копий на 1 мл образца, измеренные в десяти повторах, находились в диапазоне от 32 до 36 циклов детекции. Заявленной чувствительности достаточно для определения ДНК *B. miyamotoi* в клещах и клиническом материале, полученном от больных боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi*. Пример результатов определения ДНК *B. miyamotoi* с помощью данной методики представлен на Рисунке 96.

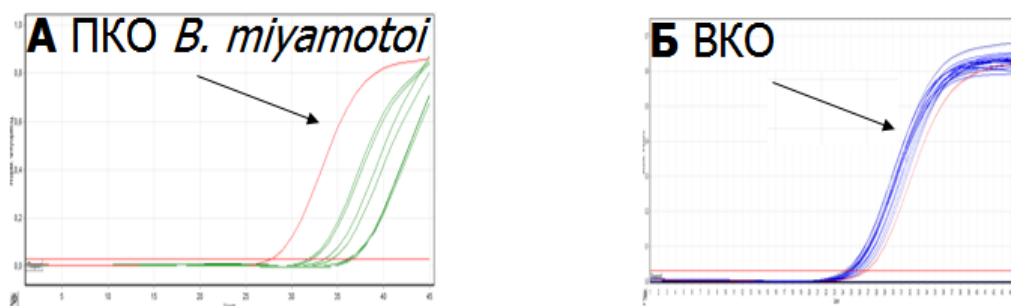


Рисунок 96 – Определение ДНК *B. miyamotoi* с помощью методики ПЦР-РРВ на приборе «Rotor Gene Q» («Qiagen», Германия)

Кривые, пересекающие пороговую линию по каналу Orange, соответствуют положительным пробам, содержащим ДНК *B. miyamotoi* (А), все пробы, содержащие ВКО определяются по каналу Green (Б).

Первичная апробация данной методики ПЦР-РРВ для выявления ДНК *B. miyamotoi* в клещах была также подтверждена результатами исследования 363 иксодовых клещей, собранных в Дмитровском, Талдомском и Клинском районах Московской области в 2008 г. А первичная клиническая апробация методики проводилась на материале, собранном в 2009 г. от 273 пациентов, госпитализированных в ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга с заболеваниями, развившимися после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей, как и в случае клинической апробации ПЦР-РРВ методики для одновременного выявления четырех патогенов [239]. Результаты апробации данной методики ПЦР-РРВ в переносчиках и клиническом материале представлены в главе 5.3.

Диагностические характеристики набора реагентов для диагностики *in vitro* АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL представлены в Таблице 48.

Таблица 48 – Диагностические характеристики тест-системы для диагностики *in vitro* ДНК *B. miyamotoi* (АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL)

Тип образцов	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95%), в интервале (%)	Диагностическая специфичность, (с доверительной вероятностью 95%), в интервале (%)
Клещи	87,1 – 100,0	98,1 – 100,0
Кровь	91,2 – 100,0	94,0 – 99,8
СМЖ	83,9 – 100,0	92,9 – 100,0
Аутопсийный материал	83,9 – 100,0	92,9 – 100,0

Количественный формат ПЦР-РРВ методики разработан в научных целях и предполагает использование калибраторов в десятикратных разведениях (ДНК копий в 1 мл образца) для оценки бактериальной нагрузки *B. miyamotoi* в биологическом материале.

Пример результатов определения бактериальной нагрузки *B. miyamotoi* с помощью данной методики представлен на Рисунке 97.

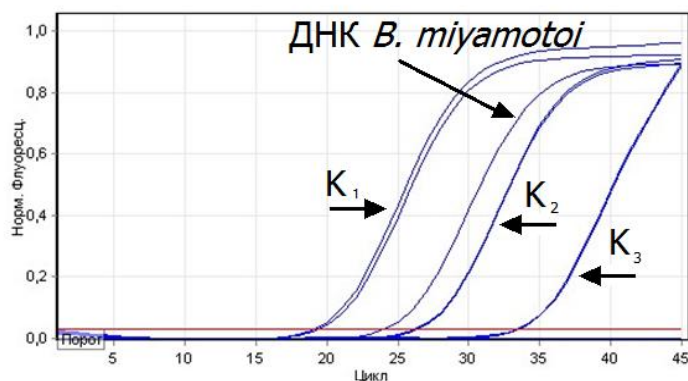


Рисунок 97 – Определение бактериальной нагрузки *B. miyamotoi* с помощью методики ПЦР-РРВ в количественном формате на приборе «Rotor Gene Q» («Qiagen», Германия)

5.3. Апробация разработанных ПЦР-методик в режиме реального времени

Как ранее было сказано, эффективность разработанных ПЦР-РРВ методик для выявления РНК/ДНК *TBEV*, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*/*E. muris* и *B. miyamotoi* в клещах была подтверждена результатами исследования 363 иксодовых клещей, собранных в Дмитровском, Талдомском и Клинском районах Московской области в 2008 г. При анализе 279 клещей *I. ricinus* методом ПЦР-РРВ *B. burgdorferi* s.l. была выявлена в 103 пробах (37,0%), *A. phagocytophilum* – в 16 пробах (5,8%), эрлихии обнаружены не были. *B. miyamotoi* была выявлена в 3 пробах, инфицированность клещей *I. ricinus* данным возбудителем составила 1,1%. Зараженность клещей *I. persulcatus* (84 особи) боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. составила 21,0%, *E. muris* – 9,5%, ДНК *A. phagocytophilum* не была обнаружена. Инфицированность клещей *I. persulcatus* *B. miyamotoi* составила 3,6%. Вирус КЭ не был выявлен ни в одной из 363 проб [239]. Развернутые результаты исследования клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* с применением данных ПЦР-РРВ методик представлены в главе 6 диссертационного исследования.

Первичная клиническая апробация ПЦР-РРВ методик проводилась на материале, собранном в 2009 г. от 272 пациентов, госпитализированных в ООО МО «Новая больница» (Городской центр природно-очаговых инфекций) г. Екатеринбурга с заболеваниями, развившимися после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей (Таблица 49). Также были исследованы ткани мозга от трех погибших от КЭ пациентов.

Таблица 49 – Группы больных, включенные в исследование, и результаты ПЦР-диагностики

Диагноз клинико-серологический	Всего больных	Число больных, в крови которых обнаружена РНК/ДНК		
		Вирус КЭ	<i>B. burgdorferi</i> s.l.	<i>B. miyamotoi</i>
БЛ, безэритемная форма	72	0	1	38
БЛ, эритемная форма	94	0	15	4
КЭ	22	5	0	2
КЭ и БЛ, безэритемная форма	12	3	0	2
КЭ и БЛ, эритемная форма	9	2	0	0
Лихорадка неясной этиологии после присасывания клеща (Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими)	37	0	0	3
Прочие диагнозы	27	0	0	0
Всего	273	10	16	49

Диагноз «БЛ, безэритемная форма» был поставлен на основании выявления специфических IgM в сыворотке крови. Диагноз «БЛ, эритемная форма» ставился на основании появления типичной мигрирующей эритемы у пациентов с присасыванием клеща в анамнезе. Антитела IgM к вирусу КЭ в крови были выявлены у 43 больных: моноинфекция была отмечена в 22 случаях, 21 пациенту был поставлен также диагноз БЛ в безэритемной (12 случаев) или эритемной (10 случаев) формах. У 60 пациентов с диагнозами других инфекционных или соматических заболеваний IgM к боррелиям и вирусу КЭ в крови выявлены не были. Серологические исследования в среднем проводились на 8-й день пребывания в стационаре (интерквартильный диапазон (ИД): от 7 до 14 дней) и на 22-й день после присасывания клеща (ИД: от 16 до 29 дней). Пробы крови для ПЦР-исследований в 80% случаев забирались при поступлении больного в стационар, в 95% – не позже 2 дня лечения.

Болезнь Лайма, эритемная форма. Исследованы пробы крови от 94 больных. 16S рРНК *B. burgdorferi* s.l. выявлена в 15 пробах крови. В 4 других случаях была обнаружена ДНК *B. miyamotoi* (Таблица 49). Таким образом, диагностическая чувствительность комплекса ПЦР-РРВ методик для пациентов с эритемной формой БЛ составила 20%. 68 проб были взяты при поступлении пациента в стационар, включая все 15 проб (22%), содержащих 16S рРНК *B. burgdorferi* s.l. В пробах, взятых на 1-9-й дни лечения, т.е. после начала антибиотикотерапии, *B. burgdorferi* s.l. не обнаружена. Положительные пробы, свидетельствующие о диссеминации боррелий, были получены только в группе 43 больных, исследованных в диапазоне от 14 до 19 дней после присасывания клеща. Среди проб, взятых ранее (29 проб) или позднее (18 проб) положительных находок обнаружено не было.

Болезнь Лайма, безэритемная форма. Исследовано 72 пробы крови. 16S рРНК *B. burgdorferi* s.l. обнаружена в одной пробе, взятой на 2-й день болезни при трехдневном инкубационном периоде. В 38 случаях (53%) в крови обнаружена *B. miyamotoi* (Таблица 49). Диагностическая чувствительность комплекса ПЦР-РРВ методик составила 54%. *B. miyamotoi*

была обнаружена у 33 (58%) из 57 пациентов, исследованных в первые 5 дней заболевания, и только у 5 (33%) из 15 пациентов, исследованных позднее. *B. miyamotoi* реже (в 21% случаев) выявлялась в пробах крови, взятых в первые 10 дней после присасывания клеща, чем в пробах, взятых в диапазоне от 12 до 34 дней после укуса (в 69% случаев).

Клещевой энцефалит. Моноинфекция вируса КЭ протекала в лихорадочной (12 пациентов), менингеальной (4 пациента), очаговой (без расшифровки) (2 пациента), менингоэнцефалитической (3 пациента), энцефалитической (1 пациент) формах. Микст-инфекция характеризовалась в 16 случаях лихорадочной, в двух – менингоэнцефалитической, и по одному – менингеальной, очаговой (без расшифровки) и энцефалополиомиелитической формами. Вирусная РНК была изолирована из крови больных с лихорадочной формой (5 случаев), менингеальной (3 случая), менингоэнцефалитической и очаговой – по 1 случаю. На первой неделе заболевания была взята 31 проба крови, в 9 из них была выявлена РНК вируса КЭ. Диагностическая чувствительность ПЦР-РРВ методики в этом случае составила 29%. Только 1 из 12 проб крови, взятых на более поздних сроках, содержала РНК вируса КЭ. *B. miyamotoi* была найдена в крови двух из 12 больных с диагнозом «Клещевой энцефалит, БЛ, безэритемная форма» и у двух из 22 больных с диагнозом «Клещевой энцефалит». Во всех образцах различных отделов мозга трех пациентов, умерших от КЭ, была обнаружена РНК вируса. Секвенирование вирусной РНК показало, что все ПЦР-положительные случаи КЭ были вызваны сибирским подтипом возбудителя.

Результаты исследований больных, не имеющих антител к боррелиям и вирусу КЭ. РНК вируса КЭ и 16S рРНК *B. burgdorferi* s.l. не были обнаружены ни в одной из проб крови от 60 пациентов. ДНК *B. miyamotoi* была обнаружена в крови трех из 37 серонегативных больных с диагнозом «Лихорадка неясной этиологии после присасывания клеща» («Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими») (Таблица 49), но не в крови больных с диагнозами (ГЛПС, ОРВИ, ОКИ, энцефаломиелополинейропатия, пиелонефрит, инсульт и т.д.). В ряде случаев заболевание, вызываемое *B. miyamotoi* может не сопровождаться продукцией противоборрелиозных IgM, выявляемых стандартными ИФА тест-системами и, таким образом, находки *B. miyamotoi* можно рассматривать как истинно положительные. В этом случае специфичность разработанных и использованных тест-систем следует считать равной 100%.

Ни в одной из проб крови от 273 пациентов не были обнаружены РНК/ДНК патогенных видов эрлихий (*E. chaffeensis* и *E. muris*) и анаплазм (*A. phagocytophilum*).

Боррелиоз, вызываемый B. miyamotoi. Были проанализированы 142 истории болезни, в том числе 29 пациентов основной группы, которая была определена следующим образом: в крови присутствовала *B. miyamotoi*, не выявлено РНК и ДНК иных патогенов, присутствовали IgM к

боррелиям и отсутствовали IgM к вирусу КЭ. 25 больных перенесли боррелиоз в безэритемной форме, у 3 больных мигрирующая эритема возникла до госпитализации, у одного – в стационаре. Клинико-лабораторные показатели (более длительный инкубационный период, фебрильная температура, учащенный пульс при поступлении, лейкопения и тромбоцитопения, повышенный уровень печеночных трансаминаз) статистически достоверно отличают основную группу больных от группы больных БЛ в эритемной форме (без выявления *B. miyamotoi* в крови) и группы больных в безэритемной форме (без выявления *B. miyamotoi* в крови) – уровень значимости по непараметрическому критерию Манна-Уитни $p < 0,01$. Ряд клинических проявлений (головная боль, тошнота, миалгия до поступления, сохраняющаяся миалгия в стационаре) достоверно чаще встречаются в основной группе больных по сравнению с группой больных БЛ в эритемной форме (без выявления ДНК *B. miyamotoi* в крови) – уровень значимости по точному критерию Фишера $p < 0,01$.

Молекулярные методы выявления возбудителей инфекций в клещах используются давно и хорошо себя зарекомендовали как методы, обладающие высокой специфичностью и чувствительностью, а также относительно небольшим временем получения результатов. Возможность исследования мертвого клеща на наличие вирусных и бактериальных патогенов при правильном его хранении и транспортировке расширяет возможности профилактики вышеописанных инфекций. Одновременная детекция четырех патогенов, передаваемых одним видом переносчика, существенно сокращает время дифференциальной диагностики и является удобным форматом исследования для врача-лаборанта. Включение в комплекс методик тест-системы для выявления *B. miyamotoi* представляет уникальную на сегодняшний день возможность для диагностики этой новой, ранее неизвестной инфекции.

Что касается использования метода ПЦР для детекции вируса КЭ и боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в клиническом материале, то достигнутая чувствительность (20-30%) позволяет использовать его в качестве метода экспресс-диагностики КЭ и БЛ в первые дни пребывания в стационаре и лечения, который обязательно должен быть дополнен серологическими методами исследования парных сывороток крови в динамике. Интересным является тот факт, что рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. обнаружена нами в основном (в 15 из 16 положительных проб) в крови больных с эритемной формой БЛ, что указывает на возможность диссеминации возбудителя из локального очага инфекции как минимум у 20% больных этой группы, в том числе в отсутствии выраженных клинических признаков генерализации инфекции.

Новым направлением, обнаруженным в ходе данной работы, является присутствие *B. miyamotoi* в 53% проб больных боррелиозом в безэритемной форме в Свердловской области. Клинически инфекция *B. miyamotoi* характеризовалась лихорадкой и общеинтоксикационным

синдромом, что во многих чертах совпадало с клинической картиной КЭ в лихорадочной форме и препятствовало своевременному началу антибиотикотерапии. Открытие нового возбудителя боррелиоза требует разработки диагностических подходов – создание и внедрение серологических и ПЦР-методик для дифференциальной диагностики данного заболевания и выяснения степени его распространенности на территории Евразии, а также детального исследования клинической картины в различных регионах РФ и разработки предпочтительных способов терапии.

Продолжительность спирохетемии *B. miyamotoi* относительно коротка. Таким образом, истинное число амбулаторных и госпитализированных пациентов, инфицированных *B. miyamotoi*, не будет известно до тех пор, пока не будут доступны для практического здравоохранения чувствительные, надежные диагностические лабораторные тесты (серологические и молекулярно-биологические) для выявления специфических антител или генетического материала *B. miyamotoi* у пациентов с острыми инфекциями в эндемичных по заболеванию регионах.

Заключение по главе 5

В ходе работы были разработаны две ПЦР-РРВ методики для одновременной диагностики четырех возбудителей – КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ и нового боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*. На сегодняшний день данные наборы реагентов зарегистрированы и широко используются в практическом здравоохранении, работе учреждений Роспотребнадзора, других диагностических лабораторий, включая научно-исследовательские институты. Апробация методик в Свердловской области позволила внедрить данные методы диагностики в практику работы региональных врачей-неврологов и инфекционистов и показала необходимость дифференциальной диагностики лихорадочной формы КЭ с новым ранее неизвестным боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi*.

При исследовании иксодовых клещей-переносчиков разработанные ПЦР-РРВ методики показали высокую чувствительность и специфичность (100%) в отношении всех выявляемых патогенных микроорганизмов. Что касается выявления РНК вируса КЭ, то данный метод оказался наиболее специфичным по сравнению с методом ИФА на выявление антигена вируса при исследовании клещей [213; 323].

ГЛАВА 6. МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ

В ходе работы были исследованы иксодовые клещи (*I. persulcatus* и *I. ricinus*), собранные в эпидемические сезоны 2004-2013 гг. в очагах Центрального (Московская, Ярославская, Костромская, Липецкая области), Северо-западного (Вологодская область), Уральского (Курганская, Свердловская области), Приволжского (Кировская область, Республика Марий Эл), Сибирского (Кемеровская, Иркутская области), Северо-Кавказского (Ставропольский край) федеральных округов РФ и в Республике Казахстан (Восточно-Казахстанская, Кызылордынская и Алматинская области). Дополнительно были исследованы клещи, снятые с людей на территории Свердловской области в 2009 г. Все клещи исследовались по одному в биопробе. Всего было исследовано 7768 особи клещей, из них 7030 – собранных в природе и 738 – снятые с людей. Переносчики исследовались на присутствие в них следующих патогенов: вируса КЭ (TBEV), боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., боррелий группы возвратных лихорадок – *B. miyamotoi*, возбудителей ГАЧ (*A. phagocytophilum*) и МЭЧ (*E. chaffeensis* и *E. muris* без дифференциации). До 2008 г. скрининг клещей осуществлялся методом ПЦР-РПВ с использованием коммерческих тест-систем «Амплисенс® *B. burgdorferi* s.l.-FL», «Амплисенс® ВКЭ-FL» (производитель – ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) и методик для детекции в режиме реального времени ДНК *A. phagocytophilum*, 16S рРНК *E. muris* и *E. chaffeensis* – тест был введен с 2007 г. В 2008 г. была создана и оптимизирована (переведена в формат мультиплекс) ПЦР-РПВ методика для одновременной детекции четырех патогенов как в клещах, так и клиническом материале (TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. muris* и *E. chaffeensis* без дифференциации). Также при исследовании иксодовых клещей с 2008 г. мы использовали разработанную нами ПЦР-РПВ методику для детекции ДНК *B. miyamotoi*. В дальнейшем разработанные методики были зарегистрированы в виде наборов реагентов (тест-систем) и на сегодняшний день имеют коммерческие названия: «Амплисенс® TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» и «Амплисенс® *Borrelia miyamotoi*-FL». Выделение РНК и ДНК вышеперечисленных возбудителей из клещей осуществляли с использованием набора «РИБО-преп», реакцию обратной транскрипции – с помощью набора «РЕВЕРТА-L» (производитель – ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). ПЦР-РПВ проводили на приборах Rotor Gene 3000/6000, Rotor Gene Q. Описание разработанных ПЦР-РПВ методик представлены в главе 5 диссертационного исследования.

Полученные результаты по исследованию клещей приведены в Таблице 50. Информация по районам приведена по тем территориям, где она была известна. На Рисунке 97 приведена информация о распространении на изученных территориях исследованных патогенов в иксодовых клещах, собранных в природе.

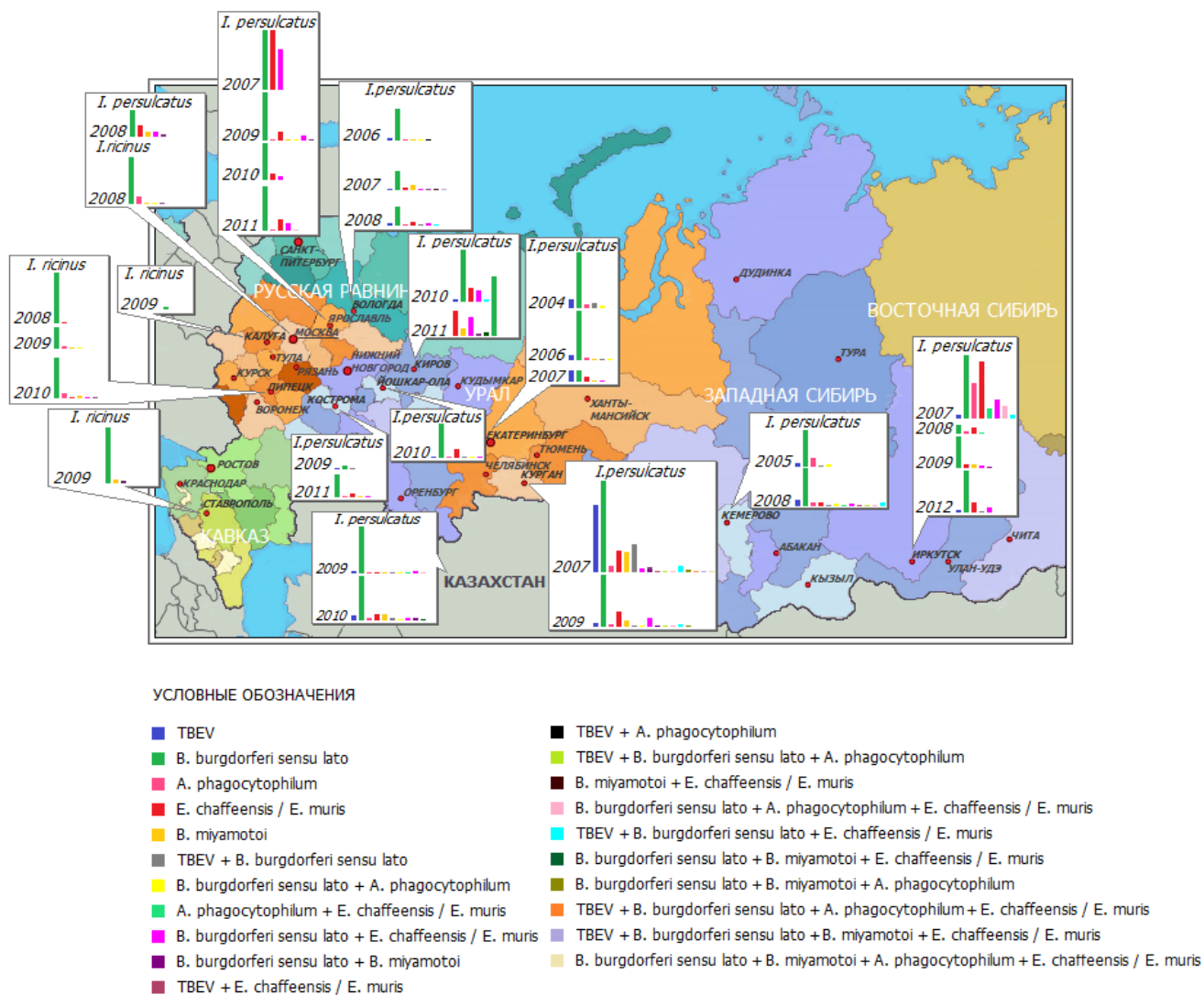


Рисунок 97 – Картограмма распределения инфицированных клещей на изученных территориях, высота столбика является условным графическим отображением доли инфицированных клещей

Центральный федеральный округ

Московская область. Всего было исследовано 363 особи иксодовых клещей. Клещи *I. persulcatus* (84 особи) и *I. ricinus* (279 особей) были собраны в сезон 2008 г. в трех районах Московской области – Дмитровском, Талдомском и Клинском районах. По результатам

исследования методом ПЦР уровень зараженности клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. составил 21% (18 проб; Талдомский, Дмитровский районы) и 37% (103 пробы; Талдомский, Дмитровский районы) соответственно. Анаплазмами были заражены только клещи *I. ricinus*, что составило 5,7% (16 проб; Талдомский, Дмитровский районы). *E. muris* была выявлена только в клещах *I. persulcatus* – 9,5% (8 проб; Талдомский район). Зараженность клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* *B. miyamotoi* составила 3,6% (3 пробы; Талдомский район) и 1,1% (3 пробы; Дмитровский район) соответственно. Вирус КЭ в клещах не был обнаружен. Частота микст-инфицирования клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* двумя патогенами составила 6% (5 проб; Талдомский район) и 1,4% (4 пробы; Талдомский, Дмитровский районы), соответственно. Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Ярославская область. Всего было исследовано 369 клещей *I. persulcatus*, собранных на территории Ярославской области в эпидемические сезоны 2007, 2009-2011 гг. в 6 районах области: 2007 г. – Рыбинский район, Ярославский район (г. Ярославль), 2009 г. (Рыбинский, Ярославский, Любимский, Некрасовский, Ростовский, Углический районы), 2010 г. (данные о районах сбора клещей представлены не были), 2011 г. (Рыбинский, Ярославский, Некрасовский районы). При исследовании клещей в 2007, 2009, 2010 и 2011 гг. зараженность боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. составила 47% (16 проб; все исследованные районы), 38,8% (45 проб), 29,5% (18 проб) и 34,8% (55 проб; все исследованные районы) соответственно. Высокая зараженность *E. muris* была обнаружена в клещах, собранных в 2007 г. и составила 47% (16 проб; все исследованные районы), в 2009, 2010 и 2011 гг. – 6,9% (8 проб; все исследованные районы, кроме Ростовского), 4,9% (3 пробы) и 8,9% (14 проб; Ярославский, Некрасовский районы) соответственно. ДНК *A. phagocytophilum* была выявлена в сборах клещей 2009 г. (Любимский район) и зараженность составила 0,9% (1 проба) и 2011 г. (г. Ярославль) – 0,6% (одна проба). *B. miyamotoi* была выявлена только в клещах 2009 г. из Любимского района в одной пробе и составила 0,9%. В 2007, 2010 и 2011 гг. исследования на *B. miyamotoi* не проводились. Вирус КЭ не был обнаружен ни в одной из 369 исследованных проб. Клещи были инфицированы в 2007, 2009 и 2010 гг. не более, чем двумя патогенами, в 2011 г. – в одном клеще было обнаружено сразу 3 патогена, что составило: 2007 г. – 32,4% (11 проб; г. Ярославль), 2009 г. – 6,0% (7 проб; Ярославский, Любимский, Углический районы), 2010 г. – 3,3% (2 пробы), 2011 г. – 6,3% (10 проб; Ярославский, Некрасовский районы). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Липецкая область. Всего было исследовано 570 клещей *I. ricinus*, собранных в эпидемические сезоны 2008-2010 гг. на территории Липецкой области из 15 районов: 2008 г. (данные о районах сбора клещей представлены не были); 2009 г. (Усманский, Липецкий,

Хлевенский, Добровский, Тербунский, Краснинский, Лев-Толстовский, Долгоруковский, Грязинский, Измалковский, Становлянский, Елецкий, Лебедянский, Данковский районы), 2010 г. (Задонский, Усманский, Хлевенский, Липецкий, Тербунский районы). По результатам исследования самая высокая инфицированность клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. была выявлена в 2008 г. и составила 40,3% (31 проба), в 2009 г. – 17,5% (31 проба; все районы, кроме Краснинский, Измалковский, Лебедянский районы) и 2010 г. – 32,6% (103 пробы; Задонский, Тербунский, Липецкий, Усманский, Хлевенский). ДНК *A. phagocytophilum* была обнаружена в клещах во все исследованные годы, кроме 2008 г.: 2009 г. – 1,7% (3 пробы; Лев-Толстовский, Елецкий и Липецкий районы), 2010 г. – 3,5% (11 проб). 16S РНК *E. muris* была обнаружена в клещах 2008 г. и 2010 г. по одной пробе и зараженность составила 1,3% и 0,3% (Липецкий район) соответственно. *B. miyamotoi* была выявлена в клещах 2009 г., зараженность составила 0,6% (1 проба; Добровский район) и в 2010 г. – 1,3% (4 пробы; Хлевенский и Усманский районы). Вирус КЭ не выявлен ни в одной из исследованных проб. Частота микстинфицирования клещей *I. ricinus* двумя патогенами в 2009 г. составила 0,6% (1 проба; Липецкий район), в 2010 г. – 0,6% (2 пробы; Задонский, Липецкий районы). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Костромская область. Всего было исследовано 509 клещей *I. persulcatus*, собранных в эпидемические сезоны 2009 и 2011 гг. на территории 21 района Костромской области: 2009 г. – Костромский, включая г. Кострома, Буйский, Вохомский, Кологривский, Красносельский, Макарьевский, Мантуровский, Межевской, Нейский, Нерехтский, Октябрьский, Пыщугский, Сусанинский районы; 2011 г. – Нерехтский, Макарьевский, Кологривский, Мантуровский, Шарьинский, Поназыревский, Буйский, Чухломский, Антроповский, Галичский, Островский, Кадыйский, Вохомский районы. Клещи 2009 г. исследовались только на вирус КЭ и боррелии комплекса *B. burgdorferi* s.l. По результатам исследования зараженность клещей вирусом КЭ в 2009 г. составила 1,3% (5 проб; Кологривский и Пыщугский районы), в 2011 г. положительных образцов обнаружено не было. Инфицированность клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. в 2009 г. составила 3,2% (12 проб; Вохомский, Кологривский, Красносельский, Межевской, Нерехтский, Пыщугский районы), в 2011 г. – 17,6% (24 пробы; Мантуровский, Шарьинский, Поназыревский, Буйский, Антроповский, Островский, Кадыйский, Вохомский районы). В клещах 2011 г. *A. phagocytophilum* была обнаружена в одной пробе – 0,7% (Нерехтский район), *E. muris* – 2,9% (4 пробы; Мантуровский, Буйский, Кадыйский районы), *B. miyamotoi* была обнаружена в одной пробе в Мантуровском районе – 0,7%. Клещи были инфицированы в 2009 и 2011 гг. не более, чем двумя патогенами: 2009 г. – 0,8% (3 пробы; Кологривский и Пыщугский

районы), 2011 г. – 0,7% (1 проба; Мантуровский район). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Калужская область. Всего было исследовано 53 клеща *I. ricinus*, собранных в эпидемический сезон 2009 г. на территории Калужской области, данные о территориях сбора клещей представлены не были. Клещи были исследованы на РНК вируса КЭ, 16S рРНК/ДНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., возбудители ГАЧ и МЭЧ. В клещах были выявлены только боррелии комплекса *B. burgdorferi* s.l., зараженность клещей составила 1,9% (одна проба). Других патогенов обнаружено не было. Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Северо-западный федеральный округ

Вологодская область. Всего был исследован 701 клещ *I. persulcatus*, собранный в эпидемические сезоны 2006, 2007 и 2008 гг. на территории Вологодской области из 9 районов: 2006 г. – Вытегорский (г. Вытегра), Устюженский (г. Устюжина), Великоустюгский (г. Великий Устюг), Грязовецкий (г. Грязовец), Кириловский, Сокольский (г. Сокол), Череповецкий (г. Череповец) районы; 2007 г. – Вытегорский, Верховажский, Белозерский, Устюженский, Бабаевский, Вологодский районы; в 2008 г. данные о районах сбора клещей представлены не были. По результатам исследования зараженность клещей вирусом КЭ в 2006 г. составила 1,9% (3 пробы; Вытегорский район), в 2007 г. – 0,6% (1 проба, Вологодский район), 2008 г. – 2,1% (8 проб). Инфицированность клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. в 2006 г. составила 25,6% (41 проба; Вытегорский, Устюженский, Великоустюгский, Грязовецкий, Кириловский, Сокольский районы), в 2007 г. – 15,8% (25 проб; Верховажский, Устюженский, Бабаевский, Вологодский районы), в 2008 г. – 15,1% (58 проб). ДНК *A. phagocytophilum* была обнаружена в двух пробах в 2006 г. – 1,3% (Вытегорский, Великоустюгский районы) и в 2008 г. – 0,3% (1 проба). 16S рРНК *E. muris* была выявлена только в клещах 2007 и 2008 гг. – 1,9% (3 пробы; Вологодский и Бабаевский районы) и 2,9% (11 проб) соответственно. Зараженность клещей *B. miyamotoi* в 2006 г. составила 0,6% (1 проба; Великоустюгский район), в 2007 г. – 3,8% (6 проб; Вологодский район), в 2008 г. – исследования не проводились. Частота микст-инфицирования клещей двумя и более патогенами в 2006 г. составила 0,6% (1 проба; Великоустюгский район), в 2007 г. – 0,6% (4 пробы; Бабаевский, Вологодский районы); в 2008 г. – 2,9% (11 проб). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Уральский федеральный округ

Свердловская область. Всего было исследовано 1603 клещей *I. persulcatus*, из них 738 – снятые с людей в в эпидемический сезон 2009 г. и 865 – собранные в природе в эпидемические сезоны 2004, 2006 и 2007 гг. на территории Свердловской области из 11 районов: 2004 г. – Березовский, Пригородный, Белоярский, Полевской, Невьянский, Камышловский, Талицкий, Каменский, Качканарский районы; 2006 г. – Пригородный, Камышловский, Сысертский районы и г. Екатеринбург (окрестности); 2007 г. – Верхотурский, Сысертский, Сухоложский, Камышловский районы. По результатам исследования зараженность клещей вирусом КЭ в 2004 г. составила 6,7% (21 проба; Белоярский, Полевской, Невьянский, Талицкий, Каменский, Пригородный районы), в 2006 г. – 3,6% (15 проб; Пригородный, Камышловский, Сысертский районы, окрестности г. Екатеринбурга), 2007 г. – 9,4% (13 проб; Сысертский, Сухоложский районы). Инфицированность клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. в 2004 г. составила 46,6% (146 проб; Березовский, Белоярский, Полевской, Невьянский, Пригородный, Камышловский, Талицкий, Каменский, Качканарский районы), в 2006 г. – 40,3% (167 проб; Пригородный, Камышловский, Сысертский, окрестности г. Екатеринбурга), в 2007 г. – 9,4% (13 проб; Сысертский район). ДНК *A. phagocytophilum* в 2004 г. была обнаружена в 2,9% исследованных клещей (9 проб; Пригородный, Талицкий, Каменский районы), в 2006 г. – 2,2% (9 проб; Пригородный и Камышловский районы). В клещах 2007 г. анаплазмы обнаружены не были. Исследование клещей на *E. muris* проводилось только в 2007 г. при этом зараженность клещей составила 3,6% (5 проб; Верхотурский и Сысертский районы). Инфицированность клещей *B. miyamotoi* определялась только в 2006 г. – 1% (4 пробы; Сысертский район), в 2007 г. – 0,7% (1 проба; Сухоложский район). Микст-инфицированность переносчиков двумя патогенами в 2004 г. составила 5,4% (17 проб; Талицкий, Пригородный, Каменский, Березовский, Белоярский, Полевской, Невьянский, Камышловский, Качканарский районы), в 2006 г. – 2,9% (12 проб; Пригородный, Камышловский, Сысертский районы), в 2007 г. – 1,4% (2 пробы; Сысертский район). В 2009 г. клещи, снятые с людей из различных районов Свердловской области, исследовались только на 4 патогена – вирус КЭ, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. muris*/*E. chaffeensis*. По результатам исследования 5,0% клещей (37 проб) были заражены вирусом КЭ, 56,0% (413 проб) – *B. burgdorferi* s.l., 2,0% (15 проб) *A. phagocytophilum*, 13,8% (102 пробы) *E. muris*. Микст-инфицированность переносчиков двумя и более патогенами составила 14,6% (108 проб). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Курганская область. Всего было исследовано 356 клещей *I. persulcatus*, собранных в эпидемические сезоны 2007 и 2009 гг. на территории Курганской области из 4 районов: 2007 г. – Шадринский, Каргапольский, Далматовский районы; 2009 г. – Кетовский, Далматовский районы. В 2007 г. была отмечена самая высокая зараженность клещей вирусом КЭ и составила 53,6% (89 проб; все исследованные районы), в 2009 г. – 3,2% (6 проб; все исследованные районы). Инфицированность клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. в 2007 г., которая составила 72,9% (121 проба; все исследованные районы), в 2009 г. – 41,6% (79 проб; все исследованные районы). ДНК *A. phagocytophilum* в 2007 г. была обнаружена в 4,8% исследованных клещей (8 проб; все исследованные районы), в 2009 г. – 1,6% (3 пробы; Далматовский район). Зараженность клещей *E. muris* в 2007 и 2009 гг. составила 16,9% (28 проб; все исследованные районы) и 11,1% (21 проба; все исследованные районы) соответственно. *B. miyamotoi* в 2007 г. была выявлена в 15,7% исследованных клещей (26 проб; все исследованные районы), в 2009 г. – 4,7% (9 проб; все районы). Частота микст-инфекции в клещах в 2007 г. составила 45,8% (76 проб; все исследованные районы), в 2009 г. – 12,1% (23 пробы; все исследованные районы). Клещи были заражены двумя и более патогенами одновременно. Два или три патогена встречались в клещах из всех изученных районов. Четыре патогена были обнаружены в клещах из Каргапольского, Шадринского и Далматовского районов Курганской области. Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Приволжский федеральный округ

Кировская область. Всего было исследовано 162 клеща *I. persulcatus*, собранных в эпидемические сезоны 2010 и 2011 гг. на территории Кировской области. В 2010 г. информации о территориях сбора клещей представлено не было. В 2011 г. клещи собирались в Зуевском, Оричевском, Котельничском и Мурашинском районах. По результатам исследования вирус КЭ был выявлен только в клещах 2010 г. Зараженность клещей вирусом КЭ составила 2,3% (1 проба). Инфицированность клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. в 2010 г. составила 48,8% (21 проба), в 2011 г. – 49,6% (59 проб; все районы, кроме Котельничского). Зараженность клещей *E. muris* в 2010 г. составила 11,6% (5 проб), в 2011 г. – 19,3% (23 пробы; Зуевский, Оричевский районы). *B. miyamotoi* была выявлена только в клещах 2011 г., зараженность составила 5,9% (7 проб; Зуевский, Оричевский районы). За все годы исследования *A. phagocytophilum* обнаружено не было. Частота микст-инфицирования двумя и более патогенами в клещах 2010 г. составила 11,6% (5 проб), в 2011 г. – 19,3% (23 пробы; Зуевский, Оричевский районы). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Республика Марий Эл. Всего было исследовано 566 клещей *I. persulcatus*, собранных в эпидемический сезон 2010 г. в 9 районах Республики Марий Эл (Советский, Куженерский, Килемарский, Мари-Турекский, Параньгинский, Сернурский, Медведевский, Моркинский, Звениговский районы). Зараженность клещей вирусом КЭ составила 0,4% (2 пробы; Мари-Турекский и Параньгинский районы), боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. – 28,4% (161 проб; все районы, кроме Звениговского), *E. muris* – 7,1% (40 проб; Мари-Турекский, Параньгинский, Сернурский, Медведевский, Моркинский районы), *A. phagocytophilum* – 0,2% (1 проба; Медведевский район). Клещи на *B. miyamotoi* не исследовались. Микст-инфицирование переносчиков было выявлено в 5,1% случаев (29 проб; все районы, кроме Звениговского), заражение клещей было не более чем двумя патогенами одновременно. Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Северо-Кавказский федеральный округ

Ставропольский край. Всего было исследовано 122 клеща *I. ricinus*, собранных в эпидемический сезон 2008 г. на территории Ботанического сада г. Ставрополь. По результатам исследования методом ПЦР уровень зараженности клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. составил 44,3% (54 пробы). Зараженность клещей *B. miyamotoi* составила 2,6% (3 пробы). Анаплазмы, эрлихии, вирус КЭ обнаружены не были. Частота микст-инфицирования *I. ricinus* боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. и *B. miyamotoi* составила 1,6% (2 пробы). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Сибирский федеральный округ

Кемеровская область. Всего было исследовано 843 клеща *I. persulcatus*, собранных в эпидемические сезоны 2005 и 2008 гг. в 7 районах Кемеровской области. В 2005 г. клещи были собраны в Анжеро-Судженском, Яйском, Кемеровском (г. Кемерово), Мариинском (г. Мариинск), Беловском (г. Белово), Юргинском районах; 2008 г. – только в Прокопьевском районе (поселок Чистугаш и село Лучшево). Зараженность клещей вирусом КЭ в 2005 г. составила 3% (9 проб; все исследованные районы), в 2008 г. – 4,6% (25 проб; обе территории). Уровень зараженности клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. в 2005 г. составил 29,3% (88 проб; все районы), в 2008 г. – 30,6% (166 проб; обе территории). ДНК *A. phagocytophilum* в 2005 г. была выявлена в 6,7% (20 проб; все районы), в 2008 г. – 3,3% (18 проб; обе территории). Исследования

клещей на присутствие 16S рНК *E. muris* проводились только в 2008 г., зараженность клещей составила 2,9% (16 проб; обе территории). На *B. miyamotoi* клещи не исследовались. Микст-инфицированность переносчиков в 2005 г. двумя и более патогенами составила 2,7% (8 проб; все исследованные районы), в 2008 г. – 6,1% (33 пробы; обе территории). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Иркутская область. Всего было исследовано 1020 клещей *I. persulcatus*, собранных в эпидемические сезоны 2007-2009, 2012 и 2013 гг. в 4 районах Иркутской области. В 2007 и 2008 гг. клещи собирались в Иркутском, Эхирит-Булагатском районах; в 2009 г. – в Иркутском, Эхирит-Булагатском и Качутском районах; в 2012 г. – в Братском районе (г. Братск); в 2013 г. – в Усть-Илимском (г. Усть-Илимск), Братском (г. Братск) районах. Зараженность клещей вирусом КЭ в 2007 г. составила 2,6% (1 проба; Эхирит-Булагатский район), в 2008 и 2009 гг. положительных образцов на наличие РНК вируса обнаружено не было. Зараженность клещей вирусом КЭ в 2012 г., собранных в Братском районе составила 1,4% (2 пробы), в 2013 г. – 1,4% (4 пробы; Усть-Илимский район). Инфицированность клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. в 2007 г. составила 50% (19 проб; все исследованные районы), в 2008 г. – 6,9% (15 проб; все исследованные районы), в 2009 г. – 25,9% (70 проб; все исследованные районы), в 2012 г. – 32,6% (47 проб), в 2013 г. – 34% (119 проб; все исследованные районы). ДНК *A. phagocytophilum* в 2007 г. была обнаружена в 28,9% исследованных клещей (11 проб; все исследованные районы), в 2008 г. – 1,4% (3 пробы; все исследованные районы), в 2013 г. – 0,3% (1 проба; Усть-Илимский район). В 2009 и 2012 гг. анаплазм в исследованных клещах обнаружено не было. Зараженность клещей *E. muris* в 2007 г. составила 44,7% (17 проб; все исследованные районы), в 2008 г. – 4,6% (10 проб; все исследованные районы), в 2009 г. – 3% (8 проб; все исследованные районы), в 2012 г. – 7,6% (11 проб), в 2013 г. – 9,7% (34 пробы; все исследованные районы). Исследования клещей на наличие *B. miyamotoi* проводились только в 2009 г., зараженность переносчиков составила 3,3% (9 проб; все исследованные районы). Частота микст-инфицирования двумя и более патогенами в клещах 2007 г. составила 36,8% (14 проб; все исследованные районы), в 2008 г. – 0,4% (1 проба; Иркутский район), в 2009 г. – 2,2% (6 проб; все исследованные районы), в 2012 г. – 4,7% (7 проб), в 2013 г. – 8,3% (29 проб; все исследованные районы). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Республика Казахстан

Восточно-Казахстанская, Кызылординская и Алматинская области. Всего было исследовано 545 клещей *I. persulcatus*, собранных в эпидемический сезон 2009 г. на территории Восточно-Казахстанской области и в сезон 2010 г. на территории Восточно-Казахстанской (Зыряновский район, с 2019 г. именуемый район Алтай, г. Риддер, Глубоковский район), Кызылординской (Чиилийский или Шиелийский район, г. Кызылорды) и Алматинской областей. В 2009 г. не было предоставлено информации о районах сбора клещей. В 2009 г. вирус КЭ был обнаружен в пяти пробах, зараженность клещей составила 1,9%, в 2010 г. – 3,7% (10 проб; Зыряновский район Восточно-Казахстанской области и Алматинская область). По результатам исследования методом ПЦР зараженность клещей боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. в 2009 г. составила 37,2% (97 проб), в 2010 г. – 35,2% (95 проб; Зыряновский район и г. Риддер Восточно-Казахстанской области, Алматинская область). ДНК *A. phagocytophilum* в 2009 г. была выявлена в 1,1% случаев (3 пробы), в 2010 г. – 1,9% (5 проб; г. Риддер Восточно-Казахстанской области и Алматинская область). Зараженность клещей *E. muris* в 2009 и 2010 гг. составила 8% (21 проба) и 5,2% (14 проб; г. Риддер Восточно-Казахстанской области и Алматинская область) соответственно. *B. miyamotoi* в 2009 г. была выявлена в пяти пробах – 1,9%, в 2010 г. – 5,2% (14 проб; Зыряновский район Восточно-Казахстанской области, г. Кызылорда Кызылординской области, Алматинская область). Частота микст-инфицирования переносчиков двумя и более патогенами в 2009 г. составила 5% (13 проб), в 2010 г. – 7,8% (21 проба; Зыряновский район Восточно-Казахстанской области, Алматинская область). Результаты инфицированности клещей патогенами и их сочетания представлены в Таблице 50.

Генотипирование возбудителей проводилось методом секвенирования по Сэнгеру продуктов ОТ-ПЦР со специфическими праймерами, которые описаны в разделе материалы и методы. Все выявленные образцы РНК вируса КЭ (при условии достаточной концентрации РНК вируса для секвенирования) на территориях исследуемых областей были отнесены к сибирскому подтипу вируса и вошли как в европейский, так и азиатский кластеры (Рисунок 99). Известно, что концентрация вируса КЭ в клеще играет важную роль в передаче возбудителя хозяину, в частности человеку, при присасывании. Нами была проведена оценка вирусной нагрузки возбудителя КЭ в клещах в Вологодской, Свердловской и Кемеровской областях. Оказалось, что число копий РНК вируса КЭ в клещах превышает 1×10^4 копий в мл от 32% (Кемеровская область) до 50% (Вологодская область), в Свердловской области этот показатель составил 42%. Количественная характеристика РНК вируса КЭ пока носит только характер дополнительной

биологической информации, которую в дальнейшем можно будет использовать при исследовании связи концентрации вируса КЭ в клещах и заболеваемостью КЭ.

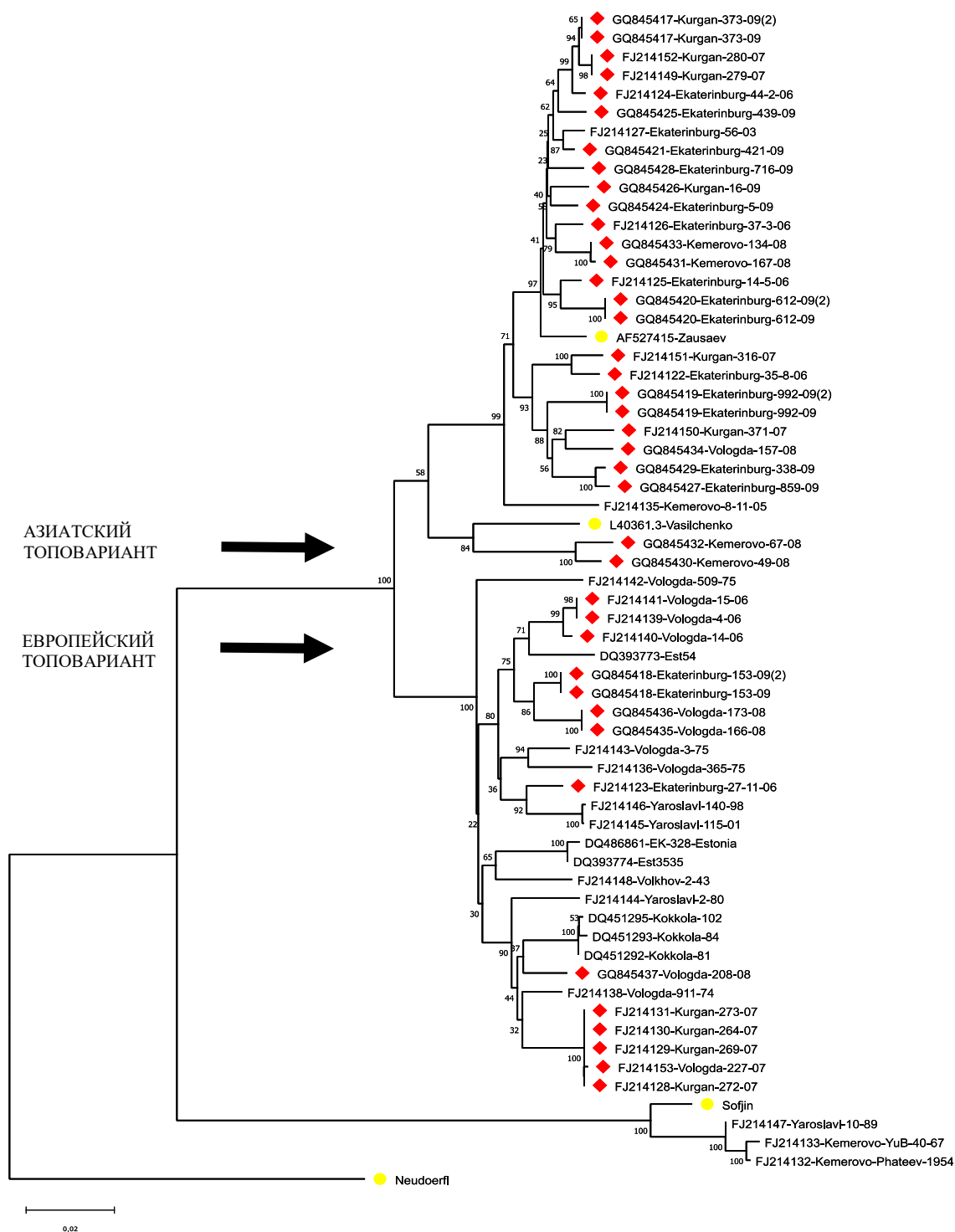


Рисунок 99 – Филогенетический анализ образцов кДНК вируса клещевого энцефалита

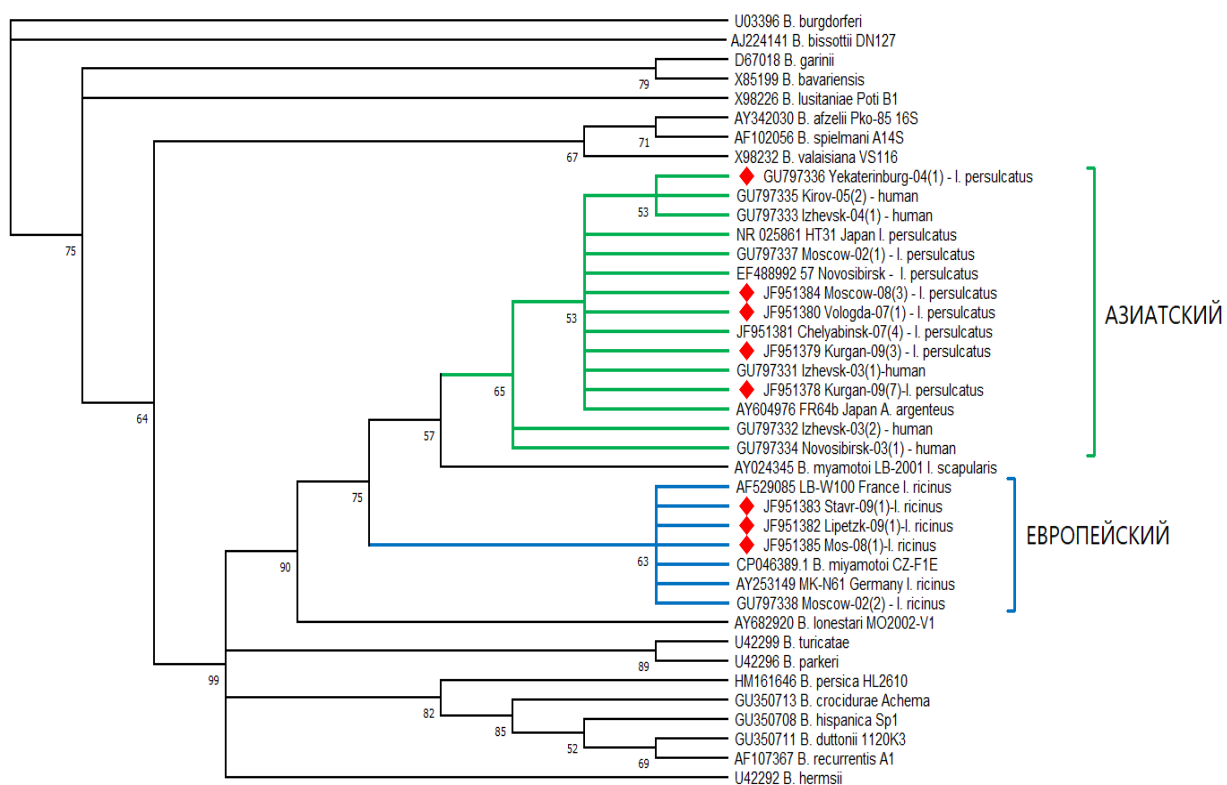
Эволюционная история была определена с помощью метода ближайших соседей [773]. Для представления эволюционной истории анализируемых таксонов взято бутстреп-консенсусное дерево, полученное из 10000 реплик. Ветви, соответствующие разделам, воспроизведенным менее чем в 50% бутстреп-реплик, свернуты. Процент реплицированных деревьев, в которых соответствующие таксоны кластеризовались вместе в бутстреп-тесте (10000

реплик), показан рядом с ветвями. Эволюционные расстояния были рассчитаны по методу J-C [583] и представлены в единицах числа замен оснований на сайт. 118 нуклеотидных последовательностей, 11174 позиции, все неоднозначные позиции были удалены для каждой пары последовательностей (опция парного удаления). Последовательность вируса Лангат выбрана в качестве корня. В подписях к верхушкам ветвей указаны номера, депонированные в GenBank нуклеотидных последовательностей, подтипы вируса КЭ (если известны ранее), место сбора, дата и источник изолята (вида клеща). Красными ромбами отмечены полученные в нашем исследовании нуклеотидные последовательности уникальных изолятов. Желтыми кругами отмечены референсные штаммы.

Филогенетическое древо, построенное с использованием полученных нами нуклеотидных последовательностей КЭ в сочетании с референсными, указывает на то, что все наши изоляты из Свердловской, Курганской, Вологодской, Ярославской и Кемеровской областей относятся к сибирскому подтипу. Большая часть изолятов родственна референсному штамму Заусаев (Томск, 1985, хроническая форма), в то время как меньшая часть уверенно кластеризуется отдельно, вместе с описанными финскими учеными изолятами Котка (2011, клещ) и Куутсало (2015, мозжечок человека).

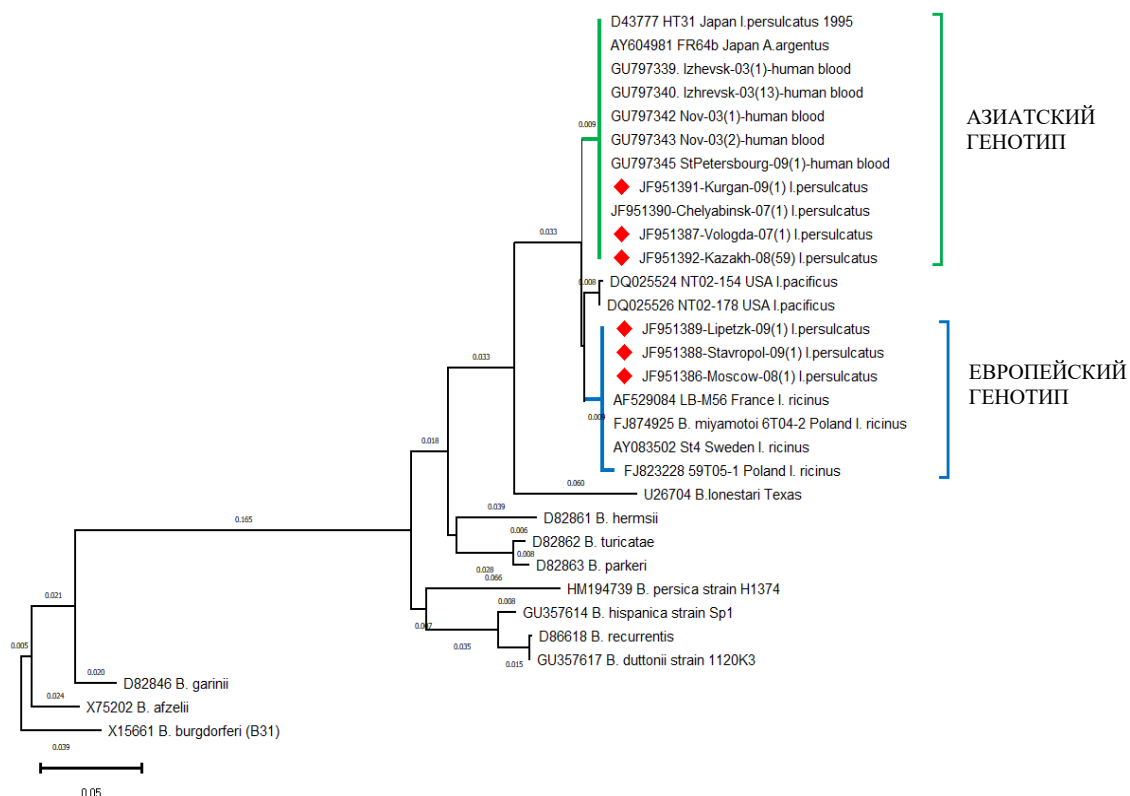
На территориях ряда областей (Кемеровская область, 2005; Свердловская область, 2004; Вологодская область, 2006) получены результаты по генотипированию боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. В клещах обнаруживались патогенные геновиды боррелий – *B. afzelii* и *B. garinii* (геноварианты – NT29 и 20047) и их сочетания в одном переносчике. Возбудитель БЛ, распространенный в США – *B. burgdorferi sensu stricto* не был определен ни в одной из проб, положительных на боррелии. За все годы возбудитель МЭЧ – *E. chaffeensis* выявлен не был.

Генотипирование *B. miyamotoi* показало, что в РФ изоляты возбудителя относятся к азиатскому и европейскому типу (генотипу) (Рисунки 100 и 101).



Эволюционная история была определена с помощью метода максимального правдоподобия и модели Тамуры-Нея [773]. Для представления эволюционной истории анализируемых таксонов взято бутстреп-консенсусное дерево, построенное по 100 репликам [583]. Ветви, соответствующие разделам, воспроизведенным менее чем в 50% бутстреп-реплик, свернуты. Процент реплицированных деревьев, в которых соответствующие таксоны кластеризованы в бутстреп-тесте (100 реплик), показан под ветвями [583]. Исходные деревья для эвристического поиска были получены автоматически путем применения алгоритмов neighbor-joining и Bio neighbor-joining к матрице парных расстояний, оцененных с помощью модели Тамуры-Нея, и последующего выбора топологии с лучшим значением логарифмического правдоподобия. 40 нуклеотидных последовательностей, 1576 позиций. *B. burgdorferi* V31 выбрана в качестве корневой. В подписях к верхушкам ветвей указаны номера депонированных в GenBank нуклеотидных последовательностей, виды (если известны), место, дата и источник изолята (кровь человека или вида клеща). Красными ромбами отмечены полученные в нашем исследовании нуклеотидные последовательности уникальных изолятов. Зеленый цвет – азиатский тип (генотип), голубой – европейский.

Рисунок 100 – Филогенетический анализ образцов 16S рРНК боррелий



Эволюционная история была определена с помощью метода максимального правдоподобия и модели GTR [773]. Показано дерево с наибольшим логарифмическим правдоподобием (-4334,91). Исходное дерево (деревья) для эвристического поиска было получено автоматически с помощью метода максимальной парсимонии. Для моделирования различий в скорости эволюции между сайтами (5 категорий (+G, параметр = 0,4232)) использовалось дискретное гамма-распределение. 31 нуклеотидная последовательность, 1464 позиции. Масштаб - число замен на сайт, менее 0,01 не показано. *B. burgdorferi* B31 выбрана в качестве корня. В подписях к верхушкам ветвей указаны номера, депонированные в GenBank нуклеотидных последовательностей, виды боррелий (если известны ранее), место сбора, дата и источник изолята (кровь человека или вида клеща). Красными ромбами отмечены секвенированные в нашем исследовании последовательности уникальных изолятов. Зеленый цвет – азиатский генотип, голубой – европейский.

Рисунок 101 – Филогенетический анализ образцов ДНК флагеллина боррелий

Можно сделать вывод, что среди известных в настоящее время боррелий секвенированные последовательности 16S рРНК наиболее близки к 16S рРНК *B. miyamotoi*, четко группируясь с ранее известными последовательностями 16S рРНК *B. miyamotoi* из Франции и Японии, и отличаясь от других видов (причем самой близкородственной боррелией, имеющей ранг отдельного вида, является *B. lonestarii* (Рисунок 100). Проанализированные последовательности достаточно четко делятся на две ветви, в настоящее время условно относимые к европейскому и азиатскому генотипам. Также прослеживается хорошая согласованность результатов, полученных с использованием 16S рРНК (Рисунок 100) и ДНК флагеллина (Рисунок 101). Например, собранные в рамках настоящего диссертационного исследования образцы из Липецкой области, Ставропольского края и Московской области относятся к европейскому типу на обоих деревьях. Поэтому можно предположить, что результаты по 16S рРНК (Рисунок 100)

вполне достоверны, в этом случае образец из Екатеринбурга (GU797336 от 2004 г. из клеща *I. persulcatus*) (Рисунок 100) однозначно относится к азиатскому типу, причем наиболее родственен образцам из относительно недалеко расположенных областей (Кировской области и Удмуртской Республики), полученных из клинического материала (кровь больных).

На настоящем уровне развития исследований в области нового возбудителя бозэритемой формы КБ – *B. miyamotoi* можно сказать, что данный вид боррелий широко распространен географически и разнообразен с точки зрения молекулярной эволюции. Соответственно, *B. miyamotoi* не должна ускользать от внимания врачей-эпидемиологов и врачей клинического профиля.

Таблица 50 – Результаты молекулярно-генетических исследований иксодовых клещей на наличие пяти возбудителей и их сочетаний на различных территориях РФ и за ее пределами (количество особей/% от общего числа исследованных клещей)

Регион		Территория		Вид иксодового клеща	Количество исследованных клещей	Сочетания возбудителей (абс./%)																																													
ЦФО	Московская область	Год	Территория	Вид иксодового клеща	ТБЕУ (абс./%)																																														
Ярославская область	Ярославская область	2011	<i>I. p.</i>	<i>I. p.</i>	158	0/0,0	55/34,8	1/0,6	14/8,9	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	9/5,7	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	1/0,6	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	НИ	0/0,0																				
		2010	<i>I. p.</i>	<i>I. p.</i>	61	0/0,0	18/29,5	0/0,0	3/4,9	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	2/3,3	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	НИ	0/0,0																				
		2009	<i>I. p.</i>	<i>I. p.</i>	116	0/0,0	45/38,8	1/0,9	8/6,9	1/0,9	0/0,0	1/0,9	0/0,0	5/4,3	1/0,9	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	НИ	0/0,0																			
		2007	<i>I. p.</i>	<i>I. p.</i>	34	0/0,0	16/47	0/0,0	16/47	НИ	0/0,0	0/0,0	11/32,4	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	НИ	0/0,0																			
		2008	<i>I. p.</i>	<i>I. p.</i>	84	0/0,0	18/21,0	0/0,0	8/9,5	3/3,6	0/0,0	0/0,0	3/3,6	2/2,4	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0																			
	Московская область	2008	<i>I. r.</i>	<i>I. r.</i>	279	0/0,0	103/37,0	16/5,7	0/0,0	3/1,1	0/0,0	1/0,4	0/0,0	0/0,0	0/0,0	3/1,1	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0																			
																																	<i>B. burgdorferi</i> s.l. (абс./%)	<i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)
																																	<i>B. burgdorferi</i> s.l. (абс./%)	<i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)
																																	<i>B. burgdorferi</i> s.l. (абс./%)	<i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)
																																	<i>B. burgdorferi</i> s.l. (абс./%)	<i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> (абс./%)	<i>TBEV</i> + <i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)	<i>B. burgdorferi</i> s.l. + <i>B. miyamotoi</i> + <i>A. phagocytophilum</i> + <i>E. chaffeensis/E. muris</i> (абс./%)

Продолжение Таблицы 50

ПФО	Кировская область	2010	<i>И.р.</i>	43	1/2,3	21/48,8	0/0,0	5/11,6	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	4/9,3	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/2,3	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
		2011	<i>И.р.</i>	119	0/0,0	59/49,6	0/0,0	23/19,3	7/5,9	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	18/15,1	2/1,7	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	3/2,5	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0
	Республика Марий Эл	2010	<i>И.р.</i>	566	2/0,4	161/28,4	1/0,2	40/7,1	НИ	1/0,2	1/0,2	0/0,0	27/4,8	0/0,0	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	НИ	НИ	
СКФО	Ставропольский край	2009	<i>И.р.</i>	122	0/0,0	54/44,3	0/0,0	0/0,0	3/2,6	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	2/1,6	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
СФО	Кемеровская область	2005	<i>И.р.</i>	300	9/3,0	88/29,3	20/6,7	НИ	НИ	3/0	5/1,7	НИ	НИ	НИ	НИ	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ	
		2008	<i>И.р.</i>	543	25/4,6	166/30,6	18/3,3	16/2,9	НИ	6/1,1	12/2,2	1/0,2	9/1,7	НИ	2/0,4	0/0,0	1/0,2	НИ	1/0,2	1/0,2	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	НИ	НИ	НИ	
	Иркутская область	2007	<i>И.р.</i>	38	1/2,6	19/50,0	11/28,9	17/44,7	НИ	0/0,0	0/0,0	3/7,9	6/15,8	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	4/10,5	1/2,6	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	НИ	НИ	НИ	
		2008	<i>И.р.</i>	218	0/0,0	15/6,9	3/1,4	10/4,6	НИ	0/0,0	0/0,0	1/0,5	0/0,0	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	НИ	НИ	
		2009	<i>И.р.</i>	270	0/0,0	70/25,9	0/0,0	8/3,0	9/3,3	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	5/1,9	1/0,4	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0
		2012	<i>И.р.</i>	144	2/1,4	47/32,6	0/0,0	11/7,6	НИ	1/0,7	0/0,0	0/0,0	6/4,2	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
		2013	<i>И.р.</i>	350	4/1,4	119/34,0	1/0,3	34/9,7	НИ	2/0,6	0/0,0	0/0,0	26/7,4	НИ	0/0,0	0/0,0	1/0,3	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	НИ	НИ	НИ	0/0,0	0/0,0	0/0,0	

Продолжение Таблицы 50

Республика Казахстан	Восточно-Казахстанская область	I. p.	261	5/1,9	97/37,2	3/1,1	21/8,0	5/1,9	3/1,1	1/0,4	2/0,8	7/2,7	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/0,4	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0
	2009																										
	Восточно-Казахстанская, Кызылординская, Алматинская области	I. p.	270	10/3,7	95/35,2	5/1,9	14/5,2	14/5,2	5/1,9	3/1,1	0/0,0	5/1,9	5/1,9	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	3/1,1	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0
	2010																										

Примечание: I. r. – *Ixodes ricinus*, I. p. – *Ixodes persulcatus*; сочетания возбудителей, кроме указанных, не встречались

Заключение по главе 6

Показателем оценки напряженности природного очага является определение уровня инфицированности клещей возбудителями различных клещевых инфекций. Исследования клещей по одному, собранных из природы, а также снятых с людей показали, что возбудители КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ, *B. miyamotoi* выявлялись в переносчиках (были исследованы основные переносчики выше перечисленных инфекций – клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus*) практически во всех исследуемых регионах. Однако инфицированность клещей различными возбудителями могла варьировать в зависимости от года сбора на одних и тех же территориях. Максимальная зараженность переносчиков различными возбудителями в разных сочетаниях была выявлена на территории Курганской области в 2007 г., минимальная при исследовании клещей из Калужской области (2009 г.). Важным является тот факт, что на исследованных территориях от 0,6% (Липецкая область 2009, 2010 гг.) до 45,8% (Курганская область, 2007 г.) клещей, положительных в ПЦР на какой-либо из вышеперечисленных возбудителей, содержали одновременно два и более патогенов, а это означает, что каждый случай заболевания, возникший после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей, необходимо рассматривать как возможную сочетанную инфекцию.

Сведения об инфицированности иксодовых клещей возбудителями исследуемых клещевых инфекций носят обобщенный и весьма приблизительный характер. Этот показатель подвержен вариабельности в большей степени не только при его оценке в отдельных регионах РФ, но и в случае анализа на более ограниченной территории (например, в пределах какого-то района отдельной области), являясь, по сути, средней величиной анализа этого показателя в исследованных очагах. В задачи нашего исследования входило показать распространенность изученных патогенов на различных территориях РФ и за ее пределами.

Различия в спектре возбудителей у переносчиков в разных очагах, а также в степени инфицированности популяций клещей на той или иной территории определяют и различную непосредственную опасность в развитии заболевания или заболеваний в случае состоявшегося присасывания иксодового клеща.

Наличие переносчика, способного быть резервуаром как одного, так и одновременно нескольких патогенных для человека микроорганизмов, возможность передачи этих возбудителей в самых различных сочетаниях определяют развитие микст-инфекции. В главе 7 настоящего исследования на примере Свердловской области будут рассмотрены эпидемиологические и клинические особенности как моно-, так и микст-инфекций, возникших после присасывания иксодовых клещей.

В целом проведенный мониторинг природных очагов инфекций, передающихся иксодовыми клещами, позволил получить информацию необходимую для проведения противоэпидемических мероприятий в регионах, эндемичных по этим инфекциям, а также показал необходимость расширения спектра используемых ПЦР-РРВ методик для лабораторной диагностики клещевых инфекций в условиях работы лабораторной службы различных практических и научных учреждений. Включение в комплекс методик ПЦР-РРВ тест-системы для выявления *B. miyamotoi* представляет на сегодняшний день уникальную возможность для диагностики этой новой, ранее неизвестной инфекции.

ГЛАВА 7. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ, КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ НА ЭНДЕМИЧНОЙ ТЕРРИТОРИИ (ПО МАТЕРИАЛАМ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ)

Свердловская область является напряженным природным очагом клещевых инфекций и представляет собой хорошую модель для изучения КЭ, эритемной и безэритемной форм БЛ, а также новых для нашей страны инфекций – боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* (БМ), МЭЧ и ГАЧ. Ежегодно в течение эпидемического сезона активности иксодовых клещей – переносчиков возбудителей перечисленных заболеваний в ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга (Городской центр природно-очаговых инфекций) поступают пациенты с присасыванием клеща в анамнезе или посещением лесной зоны в период активности клещей и лихорадочным состоянием. Для установления частоты встречаемости клещевых инфекций в Свердловской области на базе Городского центра природно-очаговых инфекций (руководитель центра, зав. вторым неврологическим отделением – к.м.н. Топоркова М. Г.) проведено клинико-лабораторное обследование 1205 больных, госпитализированных в стационар в эпидемические сезоны 2009-2011, 2013, 2015-2018 и 2021 гг. В большинстве случаев проспективные исследования проводились в июне-июле месяце – в период командировки диссертанта. Из 1205 пациентов у 1076 диагноз какой-либо клещевой инфекции был подтвержден на основании эпидемиологических, клинических и лабораторных исследований, включая специфическую лабораторную диагностику. Дополнительно была изучена молекулярно-генетическая характеристика возбудителей, РНК/ДНК которых удалось определить в биологическом материале от пациентов методом ПЦР. Исследовались лейкоцитарная фракция крови и плазма крови, сыворотки и СМЖ (при наличии). Лабораторное исследование включало: ПЦР-диагностику, которая проводилась проспективно в 2009 г. на базе лаборатории особо опасных инфекций ФБУЗ Центра гигиены и эпидемиологии в Свердловской области (зав.лабораторией – А. Л. Дурасова), с 2010 г. на базе ГАУЗ Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург» в лаборатории молекулярно-биологических методов исследования (зав. лабораторией – И. Г. Стародубова); серологическое исследование проводилось методом ИФА, в ряде случаев ставился иммунноблот для подтверждения сомнительных или положительных результатов ИФА для диагностики БЛ. Серологическое исследование биоматериала осуществлялось на базе лаборатории клинической иммунологии ГАУЗ Свердловской области «Клинико-диагностический центр город Екатеринбург» (зав. лабораторией – к.м.н. О. М. Оленькова), а также с 2015 г. для дифференциальной диагностики БЛ и БМ в исследование был

включен метод планарного белкового биочипа. Исследования методом биочипа проводились ретроспективно на базе отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора сотрудниками научной группы протеомного анализа (руководитель научной группы – О. А. Стуколова). Исследование общего анализа крови и мочи, биохимическое исследование крови, исследование СМЖ проводились в клиничко-диагностической лаборатории ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга (зав.лабораторией – Г. И. Шлыкова).

Все обследованные пациенты подписывали добровольное информированное согласие при поступлении в стационар или при получении амбулаторной помощи.

В 2021 г. в связи с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по новой коронавирусной инфекции 70 пациентов находились на амбулаторном лечении. Также в этом году с целью расшифровки диагноза «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими» (ВЛПЧ), мы провели ретроспективное исследование сывороток крови от госпитализированных пациентов или находившихся на амбулаторном лечении в ООО МО «Новая больница» на наличие IgM и IgG к возбудителям МЭЧ и ГАЧ. В ходе исследования среди обследованных пациентов мы выявили 6 нозологий (как моно-, так и микст-), которые описаны ниже. Дополнительные исследования, проведенные нами методом ПЦР-РРВ на наличие РНК вирусов Кемерово, Джингмен (включая Алонгшан), Хасеки, а также ДНК риккетсий и возбудителя Ку-лихорадки в крови больных дали отрицательные результаты. Также в группе пациентов с ГАЧ и МЭЧ, диагноз которым был поставлен на основании серологических исследований сыворотки крови, нам не удалось обнаружить в крови специфический генетический материал их этиологических агентов – анаплазм (*A. phagocytophilum*) и эрлихий (*E. chaffeensis/E. muris*), за исключением 2017 г., когда в крови пациента была обнаружена *E. muris* (исследование проводилось в коммерческой лаборатории). В данном исследовании у ряда пациентов мы также определяли одиночные IgM к антигенам риккетсий группы пятнистой лихорадки, но не IgG, и в отсутствии сероконверсии о вкладе клещевого риккетсиоза в этиологическую структуру инфекций, передающихся иксодовыми клещами на территории Свердловской области, говорить преждевременно.

Таким образом, в ходе многолетнего исследования были определены следующие нозологические как моно-, так микст-формы заболеваний среди обследованных пациентов, которые были поделены на группы: 1 группа – пациенты с диагнозом КЭ – 95 человек (8,8%); 2 группа – пациенты с диагнозом БЛ (эритемная форма) (БЛ-ЭФ) – 274 человека (25,4%); 3 группа – пациенты с диагнозом БЛ (безэритемная форма) (БЛ-БЭФ) – 184 человека (17,1%); 4 группа – пациенты с диагнозом БМ – 206 человек (19,1%); 5 группа – пациенты с вирусной лихорадкой, передаваемой членистоногими (ВЛПЧ) – 109 человек (10,1%); 6 группа – пациенты с диагнозом

ГАЧ – 7 человек (0,7%); 7 группа – пациенты с клещевыми микст-инфекциями в различных сочетаниях: КЭ с БЛ (безэритемная форма) – 53 человека (4,9%); КЭ с БЛ (эритемная форма) – 18 человек (1,7%); КЭ с ГАЧ – 4 человек (0,4%); КЭ с БМ – 22 человека (2,0%); КЭ с ГАЧ и МЭЧ – 1 человек (0,1%); КЭ с БМ и ГАЧ – 1 человек (0,1%); КЭ с БЛ (эритемная форма) и ГАЧ – 3 человека (0,3%); КЭ с БЛ (безэритемная форма) и ГАЧ – 2 человека (0,2%); КЭ с БМ, ГАЧ и МЭЧ – 1 человек (0,1%); КЭ с БМ, БЛ (безэритемная форма) и ГАЧ – 1 человек (0,1%); КЭ с БЛ (безэритемная форма), ГАЧ, МЭЧ – 1 человек (0,1%); БМ с ГАЧ – 5 человек (0,5%); БМ с ГАЧ и МЭЧ – 1 человек (0,1%); БМ с БЛ (эритемная форма) – 12 человек (1,1%); БМ с БЛ (эритемная форма) и ГАЧ – 2 человека (0,2%); БЛ (безэритемная форма) с ГАЧ – 11 человек (1,0%); БЛ (эритемная форма) с ГАЧ и МЭЧ – 1 человек (0,1%); БЛ (безэритемная форма) с МЭЧ – 2 человека (0,2%); БЛ (эритемная форма) с ГАЧ – 55 человек (5,1%); БЛ (эритемная форма) с ГАЧ и МЭЧ – 4 человека (0,4%); КЭ с МЭЧ – 1 человек (0,1%).

Таким образом среди обследованных больных доля пациентов с моноинфекцией составила 81,3% (875 человек), с микст-инфекцией – 18,7% (201 человек) (Рисунок 102). Если рассматривать 2021 г., когда были добавлены исследования на МЭЧ и ГАЧ, среди обследованных доля пациентов с моноинфекцией составила 49,5% (104 человека), с микст-инфекцией – 50,5% (106 человек).

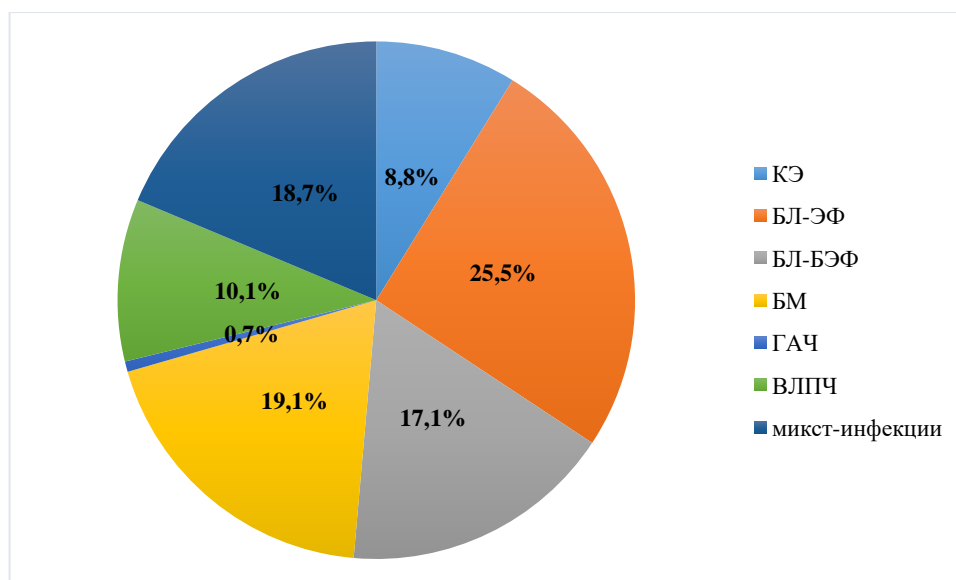


Рисунок 102 – Доля моно- и микст-инфекций среди пациентов ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга за весь изученный период (БЛ-ЭФ – БЛ, эритемная форма; БЛ-БЭФ – БЛ, безэритемная форма)

Установлено, что в виде моноинфекции клещевой боррелиоз на территории Свердловской области является преобладающим (76,1%) и может быть вызван как боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l., так и *B. miyamotoi*. Среди микст-инфекций преобладали различные сочетания, как

правило, двух инфекций: БЛ-ЭФ с ГАЧ (27,4%), БЛ-БЭФ с КЭ (26,4%), БМ с КЭ (10,9%), БЛ-ЭФ с КЭ (9%) (Рисунок 103).

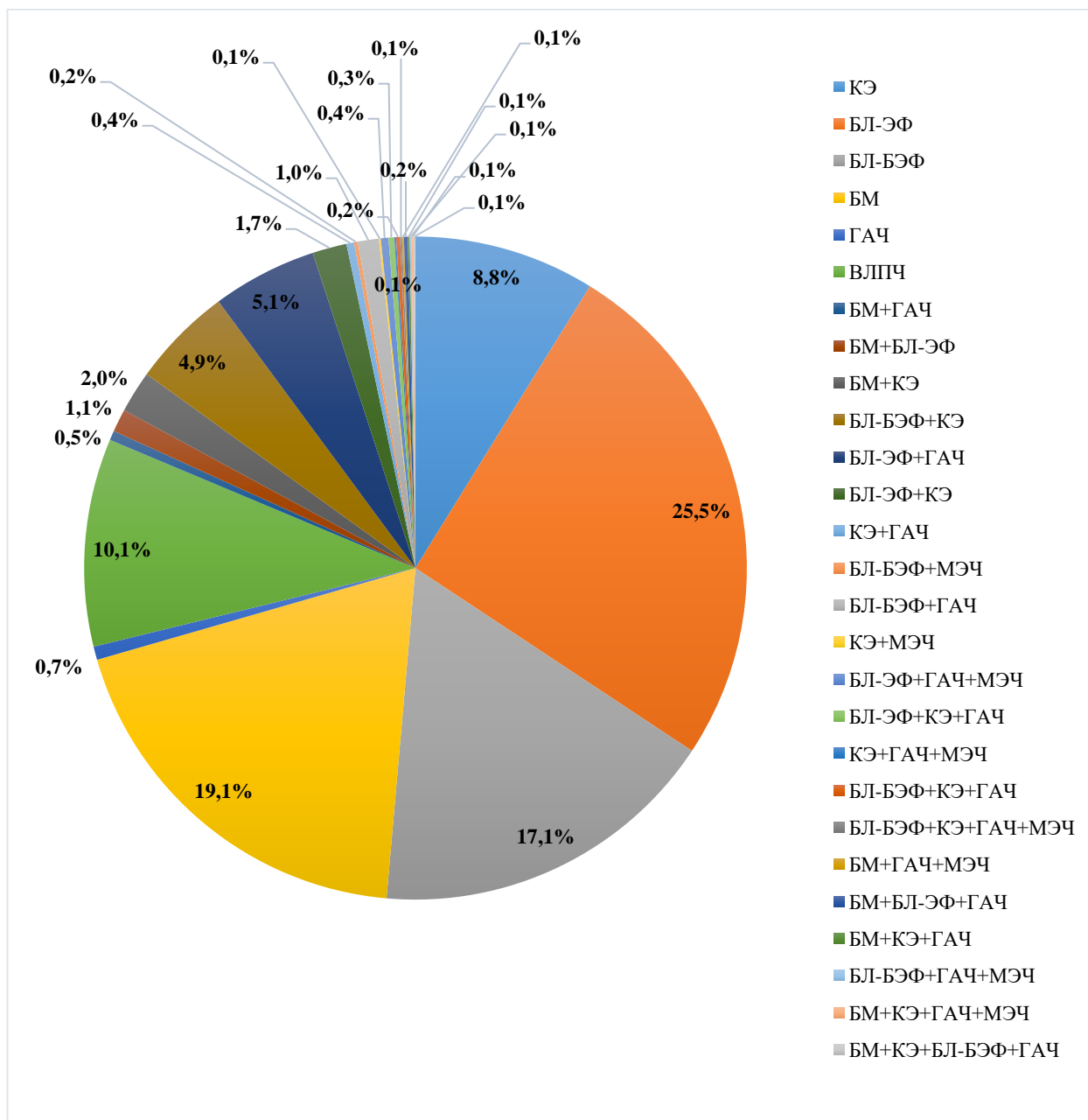


Рисунок 103 – Структура заболеваемости клещевыми инфекциями среди пациентов ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга за весь изученный период

Ниже рассмотрена эпидемиологическая, клинично-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика моно- и микст-инфекций, изученных нозологий.

Оценка эпидемиологических и клинично-лабораторных проявлений КЭ, БЛ, БМ, ВЛПЧ была проведена у 1076 пациентов в возрасте от 15 до 90 лет во все изученные периоды. В 2021 гг.

молекулярно-генетические и серологические исследования на ГАЧ и МЭЧ были проведены у 227 пациентов в возрасте от 17 до 85 лет.

До настоящего времени отсутствовали данные комплексного изучения клещевых заболеваний населения Свердловской области ГАЧ и МЭЧ, в то время как нами было показано, что в клещах эти патогены на территории области встречаются [95; 695]. Ведущее место среди заболеваемости населения клещевыми инфекциями в Свердловской области занимают КЭ и БЛ, большую роль играют ВЛПЧ, т.е. лихорадочные состояния неустановленной этиологии, возникшие после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей. В результате проведенных исследований в 2021 г. нами были получены данные о случаях заболевания на территории области возбудителями МЭЧ и ГАЧ, но, как правило, в сочетании с другими подтвержденными клещевыми инфекциями (например, с КЭ, БЛ, БМ). Было выявлено только 7 случаев моноинфекции ГАЧ, что позволило ретроспективно расшифровать диагноз «ВЛПЧ» у 7 пациентов. Учитывая, что ранее мы выявляли анаплазмы и эрлии в иксодовых клещах, собранных на территории Свердловской области, можно предположить, что отсутствие случаев регистрации МЭЧ и ГАЧ в этих природных очагах может быть объяснено как отсутствием настороженности врачей-клиницистов в отношении данных инфекций, так и ограниченным характером, либо полным отсутствием специфической лабораторной диагностики, проводимой с целью подтверждения клинического диагноза данных заболеваний в клинической практике. Дифференциальная диагностика КЭ, БЛ с новыми нозологиями (БМ, ГАЧ, МЭЧ) практически не разработана. Наряду с этим к настоящему времени в Свердловской области остаются этиологически нераспознанными при использовании существующего алгоритма, включая диагностику БМ, средств и методов лабораторной диагностики около 10-15% случаев лихорадочных заболеваний, возникших после присасывания иксодовых клещей или посещения лесной зоны в период активности клещей (Таблица 51).

Таблица 51 – Количество и этиологическая структура обследованных больных в периоды 2009-2011, 2013, 2015-2018, 2021 гг.

Диагнозы	2009	2010	2011	2013	2015	2016	2017	2018	2021	Всего
Обследовано с диагнозом «Клещевая инфекция?»	221	115	83	10	75	115	262	85	239	1205
Подтвержденный диагноз «Клещевая инфекция»	196	105	52	3	65	104	250	74	227	1076
Подтвержденный диагноз «КЭ»:	16	12	0	0	4	10	20	15	18	95
Подтвержденный диагноз «КЭ, лихорадочная форма»	7	12	0	0	2	6	10	10	8	55
Подтвержденный диагноз «КЭ, лихорадочная форма, двухволновое течение»	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
Подтвержденный диагноз «КЭ, менингеальная форма»	2	0	0	0	1	0	3	4	4	14

Продолжение таблицы 51

Подтвержденный диагноз «КЭ, очаговая форма»	7	0	0	0	1	4	5	1	6	24
Подтвержденный диагноз «КЭ, стертая форма»	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Подтвержденный диагноз «КЭ, инаппарантная форма»	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Подтвержденный диагноз «БЛ, эритемная форма»	79	54	0	0	10	9	70	13	39	274
Подтвержденный диагноз «БЛ, безэритемная форма»	31	15	3	0	6	28	59	7	35	184
Подтвержденный диагноз «боррелиоз, вызываемый <i>B. miyatotoi</i> »	44	13	37	3	24	25	36	19	5	206
Подтвержденный диагноз «ГАЧ»	-	-	-	-	-	-	-	-	7	7
Подтвержденный диагноз «МЭЧ»	-	-	-	-	-	-	1	-	0	1
Подтвержденный диагноз «Клещевая микст-инфекция»:	19	10	11	0	9	17	23	6	106	201
БМ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5
БМ+БЛ-ЭФ	4	2	2	0	2	1	1	0	0	12
БМ+КЭ	3	2	9	0	2	4	1	1	0	22
БЛ-БЭФ+КЭ	8	4	0	0	4	9	13	5	10	53
БЛ-ЭФ+КЭ	4	2	0	0	1	3	7	0	1	18
БЛ-ЭФ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	55	55
КЭ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	4	5
БЛ-БЭФ+МЭЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
БЛ-БЭФ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	11	11
КЭ+МЭЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4
БЛ-ЭФ+КЭ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
КЭ+ГАЧ+МЭЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
БМ+ГАЧ+МЭЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
БМ+БЛ-ЭФ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
БМ+КЭ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
БЛ-БЭФ+ГАЧ+МЭЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
БМ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
БМ+КЭ+БЛ-БЭФ+ГАЧ	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
ВЛПЧ	7	1	1	0	12	15	42	14	17	109
ОРВИ	2	31	59	5	111	101	12	50	0	371
Коронавирусная инфекция	-	-	-	-	-	-	-	-	7	7
ОКИ	1	7	31	1	35	46	0	11	3	135
Пневмония	1	5	19	1	20	19	0	5	2	62
Остеохондроз	1	5	10	0	16	0	0	5	0	37

7.1. Эпидемиологическая, клинико-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика клещевого энцефалита

В результате проведенного анализа эпидемиологических и клинико-лабораторных проявлений КЭ изучены данные о 95 (46,8%) лабораторно подтвержденных случаях заболевания

КЭ в виде моноинфекции и 108 (53,2%) случаях в виде микст-инфекции с БЛ (эритемная и безэритемная формы), БМ, в периоды 2009-2011, 2015-2018, 2021 гг., а также с МЭЧ и ГАЧ в 2021 г. (Таблица 52). Всего исследовано 203 пациента с диагнозом КЭ в виде моно- или микст-инфекции.

Таблица 52 – Моно- и микст-инфекции КЭ среди обследованных пациентов

Моно- и микст-инфекция КЭ	Количество	%
КЭ	95	46,8
БЛ-БЭФ+КЭ	53	26,1
БЛ-ЭФ+КЭ	18	8,8
КЭ+ГАЧ	4	2,0
БМ+КЭ	22	10,8
КЭ+МЭЧ	1	0,5
КЭ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,5
БМ+КЭ+ГАЧ	1	0,5
БЛ-ЭФ+КЭ+ГАЧ	3	1,5
БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ	2	1,0
БМ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,5
БМ+КЭ+БЛ-БЭФ+ГАЧ	1	0,5
БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,5

Диагноз КЭ был поставлен на основании данных эпидемиологического анамнеза (факта присасывания клеща, пребывания в лесу, на садово-огородных участках, в лесопарковой зоне в период активности клещей и т.д.), клинической картины (наличие общевоспалительного синдрома и/или менингеальной и очаговой симптоматики), с подтверждением результатами серологического исследования сывороток крови, взятых в динамике заболевания и СМЖ (при наличии) методом ИФА для выявления IgM и IgG к вирусу КЭ и результатами метода ПЦР. Для серологического исследования от одного пациента сыворотка крови забиралась минимум два раза – в начале и в конце заболевания (через 10-14 дней), нередко были промежуточные взятия проб крови. Для исследования методом ПЦР-РРВ кровь забиралась однократно в первые 1-2 дня поступления пациента в стационар или обращения за медицинской помощью амбулаторно. ПЦР-диагностика с определением РНК вируса КЭ в лейкоцитарной фракции крови, плазме или сыворотке крови и СМЖ (при наличии) проводилась в 2009, 2010 и 2021 гг. Было выявлено 14 положительных образцов, из которых в 2021 г. удалось выделить 3 изолята (штамма) вируса КЭ. Молекулярно-генетическая характеристика которых будет представлена ниже. Особое значение имеет динамика антител у вакцинированных пациентов с диагнозом КЭ, которая будет рассмотрена отдельно в главе 8 диссертационного исследования и основана на многолетней выборке пациентов с острым и хроническим течением КЭ.

После поступления пациентов в стационар, на основании дальнейшего развития инфекционного процесса, лихорадочная форма среди обследованных больных с КЭ

диагностирована у 135 человек (66,5%), менингеальная – у 23 (11,3%), очаговые (энцефалитическая, менингоэнцефалитическая, энцефаломиелитическая, энцефалополиомиелитическая) – у 36 (17,7%). У 7 пациентов (3,4%) была установлена инаппарантная форма заболевания в сочетании с БЛ (безэритемная форма – 6 человек, эритемная – 1), в 1 случае (0,5%) была диагностирована стертая форма инфекции в сочетании с безэритемной формой БЛ (Таблица 53). Следует отметить, что в 2021 г. в связи с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по новой коронавирусной инфекции, часть пациентов с нетяжелым течением заболевания проходили лечение амбулаторно, т.к. нередко сами отказывались от госпитализации.

Таблица 53 – Клинические формы КЭ в сочетании с другими клещевыми инфекциями

Моно- и микст-инфекция КЭ	Клинические формы КЭ (количество пациентов в абс.значениях)							
	инаппарантная	лихорадочная	менингеальная	очаговые				стертая
				энцефалитическая	менингоэнцефалитическая	энцефаломиелитическая	энцефалополиомиелитическая	
КЭ	0	57	14	3	15	3	1	0
КЭ+БЛ-БЭФ	6	32	6	2	4	1	1	0
КЭ+БЛ-ЭФ	1	15	1	0	1	0	0	0
КЭ+ГАЧ	0	2	1	0	1	0	0	0
БМ+КЭ	0	21	0	0	0	0	0	1
КЭ+МЭЧ	0	1	0	0	0	0	0	0
КЭ+ГАЧ+МЭЧ	0	1	0	0	0	0	0	0
БМ+КЭ+ГАЧ	0	1	0	0	0	0	0	0
БЛ-ЭФ+КЭ+ГАЧ	0	2	1	0	0	0	0	0
БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ	1	1	0	0	0	0	0	0
БМ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	0	0	0	0	0	0	0	0
БМ+КЭ+БЛ-БЭФ+ГАЧ	0	1	0	0	0	0	0	0
БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	0	0	0	0	0	0	1	0

Данные эпидемиологического анамнеза позволили построить картограмму мест инфицирования вирусом КЭ на территории Свердловской области. Оказалось, что большая часть случаев инфицирования локализована в подзоне южной предгорной и равнинной тайги в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга (86 случаев заболевания (42,4%)) (Таблица 54, Рисунок 104).

Таблица 54 – Подзоны и районы Свердловской области с количеством случаев заболевания КЭ

Лесная зона		
Подзона южной предгорной и равнинной тайги Включает 18 районов	Асбестовский	0
	Алапаевский	0
	Артемовский	0
	Березовский	10
	Белоярский	13
	Верхнепышминский	13
	Верхнесалдинский	0
	Верхотурский	0
	г. Екатеринбург и его окрестности	86
	г. Заречный	1
	Красноуральский	1
	Нижнетуринский, г. Качканар	0
	Невьянский	1
	Режевской	2
	Сысертский	9
	Таборинский	0
Тавдинский	0	
Туринский	0	
Подзона смешанных широколиственных и хвойных лесов Включает 1 район	Красноуфимский	0
Подзона южной горной тайги Включает 9 районов	Кировоградский	1
	Кушвинский	0
	Нижнесергинский (Бисерть)	8
	Первоуральский	9
	Пригородный	1
	Ревдинский	6
	Нижний Тагил	2
	Полевской	9
Шалинский	4	
Подзона сосново-березовых лесов Включает 9 районов	Байкаловский	0
	Богдановичский	3
	Ирбитский	0
	Камышловский	1
	Пышминский	0
	Слободотуринский	0
	Сухоложский	0
	Талицкий	2
Тугулымский	0	
Подзона средней предгорной и равнинной тайги Включает 7 районов	Ивдельский	0
	Гаринский	0
	Серовский	0
	Североуральский	0
	Карпинский	0
	Краснотурьинский	1
	Новолялинский	0
Лесостепная зона		
Лесостепь Предуралья Включает 2 района	Артинский	1
	Ачитский	0
Лесостепь Зауралья Включает 1 район	Каменский	6

Случаи КЭ также были зарегистрированы среди жителей Свердловской области, которые выезжали за пределы области: Республика Башкортостан – 1 случай, Курганская область – 2 случая, Пермский край – 1 случай, Восточная Сибирь – 1 случай, Тюменская область – 2 случая, Челябинская область – 6 случаев.

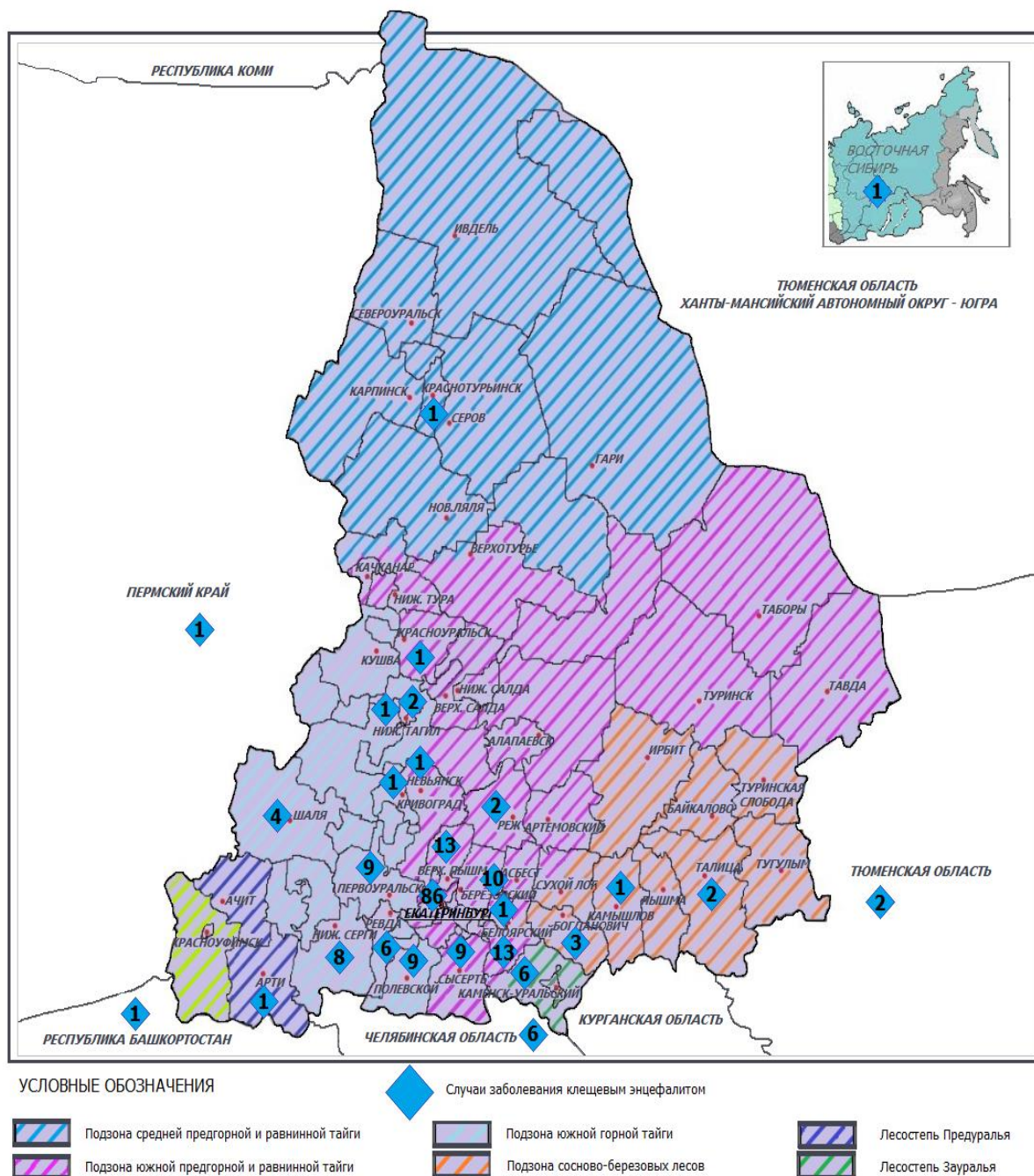


Рисунок 104 – Распределение мест заражения вирусом КЭ на территории Свердловской области и за ее пределами (предполагаемое место заражения выделено ромбом)

Подавляющее большинство случаев заражения вирусом КЭ было связано с работой или отдыхом на садовом/дачном участке – 88 случаев (43,3%), при посещении леса с целью сбора

ягод и грибов – 76 случаев (37,4%), при посещении лесопарковой зоны – 39 случаев заболевания КЭ (19,2%).

В целях оптимизации профилактической работы изучено распределение числа заболевших КЭ в возрастных и половых группах, а также в группах, исходя из условий заражения (Таблица 55).

Таблица 55 – Распределение заболевших КЭ по возрасту и полу (%)

Всего	Пол		Возраст (лет)		
	мужчины	женщины	15-19	20-59	60 лет и старше
203 чел.	123 (60,6%)	80 (39,4%)	3 (1,5%)	139 (68,5%)	61 (30,0%)

На территории Свердловской области КЭ болеет преимущественно мужское население, что следует из результатов анализа эпидемического процесса, приведенного в главе 3 и данного исследования ($p < 0,0001$). Такая тенденция характерна для большинства территорий России и Европы и описывается многими авторами [168] и объясняется более частым посещением леса лицами мужского пола как с бытовыми, так и производственными нуждами, а также выполнением работ на садово-огородных участках. Достоверных различий между мужчинами и женщинами по срокам обращения за медицинской помощью не выявлено (мужчины – $7,1 \pm 9,2$, размах значений: от 1 до 72 дней; женщины – $10,1 \pm 13,7$ дней, размах значений: от 1 до 90 дней) ($p = 0,2$). Гендерных отличий в частоте развития различных клинических форм болезни (особенно очаговых) нами зарегистрировано не было ($p = 0,87$). В группе женщин лихорадочная форма составила 65,0%, менингеальная – 13,8%, очаговые – 13,8%, инаппарантная – 6,2%; в группе мужчин: лихорадочная – 67,5%, менингеальная – 9,6%, очаговые – 13,8%, инаппарантная – 2,4%.

При анализе эпидемиологических данных было выявлено, что КЭ в Свердловской области чаще развивается у лиц трудоспособного возраста ($p < 0,0001$). При анализе по возрастному признаку было выявлено, что в 68,5% (139 человек) заболевание развилось у пациентов в возрасте от 20 до 59 лет, в 30,0% случаев (61 человек) – 60 лет и старше, в 1,5% (3 человека) – от 15 до 19 лет.

При сборе эпидемиологического анамнеза у пациентов исследуемой группы было выяснено, что факт присасывания клеща (трансмиссивный механизм) отмечали 84,2% заболевших (171 человек), доля неустановленного пути передачи составила 15,8% от всех заболевших (пациенты отрицали факт присасывания клеща или употребление сырого козьего или коровьего молока, или продуктов из них приготовленных). Однако пациенты стряхивали клещей с одежды или кожи, снимали с людей или домашних животных, посещали лес или работали на садово-огородных участках. Заражение вирусом КЭ при неустановленном пути передачи могло

произойти во время присасывания самцов клещей рода *Ixodes*. Учитывая непродолжительный характер их присасывания (несколько раз по 15-30 минут), человек может не заметить своевременно присосавшегося клеща. Неустановленный путь передачи многие исследователи расценивают как неблагоприятный фактор для развития менингеальной и очаговых форм КЭ, т.к. у пациента и врача отсутствует настороженность к данному диагнозу, имеются попытки самолечения и, как следствие, позднее обращение за медицинской помощью. Наличие неуточненного пути заражения как фактора развития очаговых форм КЭ было выявлено рядом отечественных и зарубежных исследователей [41; 241; 757]. В нашем исследовании пациенты с наличием в анамнезе факта присасывания клеща обращались за медицинской помощью на $18,4 \pm 4,1$ день (от 1 до 90 дней), а с неопределенным анамнезом – на $11,8 \pm 12,0$ день (от 1 до 53 дней) от начала болезни, т.е. наличие факта присасывания клеща не имело значения для обращения за медицинской помощью.

Анализ мест локализации присасываний клещей на теле заболевших КЭ показал, что излюбленными местами присасывания являются: верхние конечности 19,3% (33 случая), нижние конечности 18,1% (31 случай), живот 14,0% (24 случая) и паховая область 11,7% (20 случаев) (Рисунок 105).

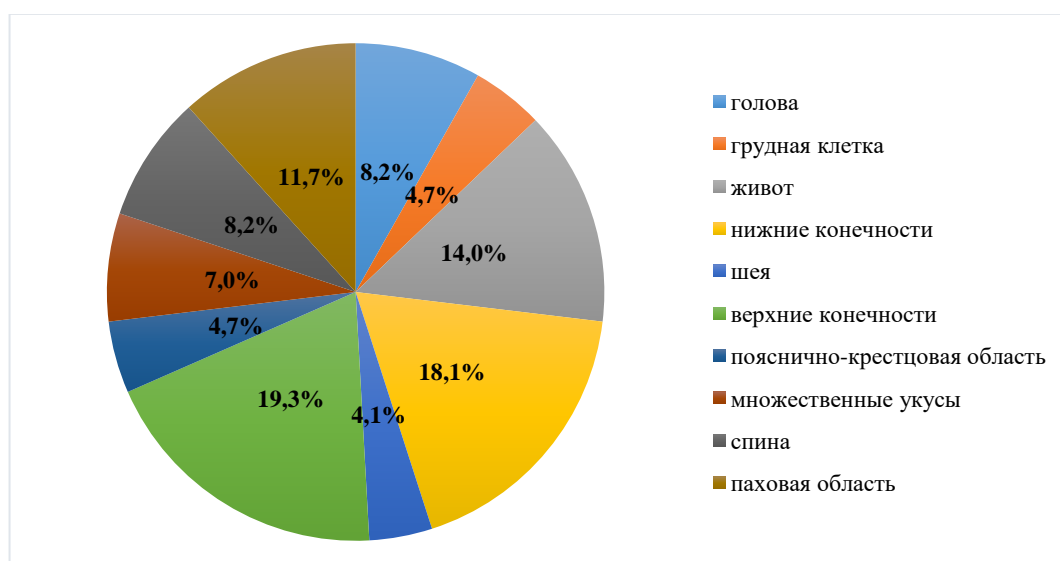


Рисунок 105 – Локализация мест присасывания клещей на теле заболевших КЭ за изученный период

При анализе эпидемиологических данных было выявлено, что только 19,7% пациентов (40 человек) исследовали клеща (или клещей при многократном присасывании) на антиген (методом ИФА) или РНК вируса КЭ (методом ПЦР). Длительность присасывания клеща может быть отягощающим фактором при развитии заболевания, однако в нашем исследовании в 80,8% (164 человека) она не превышала 1 сутки, в 11,8% (24 человека) – не более 2 суток, по 2,5% (5 человек)

– не более 3 и 4 суток, в 1,5% (3 человека) – 5 суток, у 1% (2 человека) – 6 суток. Мы не отметили достоверных отличий в частоте развития различных клинических форм КЭ в зависимости от длительности присасывания клещей ($p = 0,28$) (Таблица 56).

Таблица 56 – Длительность присасывания и клинические формы заболевания КЭ

Длительность присасывания клеща	Клинические формы КЭ (абс.значения)				
	инаппарантная	лихорадочная	менингеальная	очаговая	стертая
1-е сутки	6	103	20	31	1
2-е сутки	1	20	2	1	0
3-и сутки	0	5	0	0	0
4-е сутки	0	4	1	0	0
5-е сутки	0	2	0	1	0
6-е сутки	1	1	0	0	0

Из числа заболевших КЭ информация о специфической вакцинопрофилактике была известна только для 169 пациентов (83,2%): вакцинированы были 32,5% (55 человек), из них имели завершённый курс вакцинации (3 прививки и более) 60,0% (33 человека), 2 прививки – 38,2% (21 человек), 1 прививка – 1,8% (1 человек). Среди пациентов с завершённым курсом вакцинопрофилактики инаппарантная форма была диагностирована у 3 человек (9,1%), лихорадочная – у 26 (78,8%), из них у одного пациента было зарегистрировано двухволновое течение, менингеальная – у 2 человек (6,1%), очаговые (энцефалитическая и менингоэнцефалитическая формы) – у 2 человек (6,1%) с благоприятным исходом. Среди пациентов с 2 прививками: инаппарантная форма была выявлена у 2 человек (9,5%), лихорадочная – у 18 (85,7%), очаговая (менингоэнцефалитическая) – у 1 человека (4,8%). У пациента с незаконченным курсом вакцинопрофилактики наблюдалась лихорадочная форма КЭ. У пациентов с отсутствием вакцинопрофилактики в анамнезе инаппарантная форма была выявлена в 2,6% случаев (3 человека), лихорадочная форма – в 49,1% (56 человек), менингеальная форма – в 18,4% (21 человек), очаговые формы – в 28,9% (33 человека: менингоэнцефалитическая – 19, энцефалитическая – 6, энцефаломиелитическая – 4, энцефалополиомиелитическая – 3), стертая – 0,9% (1 человек). Таким образом, в группе невакцинированных пациентов наиболее часто были диагностированы средней степени тяжести (менингеальная) и тяжелые (очаговые) формы заболевания.

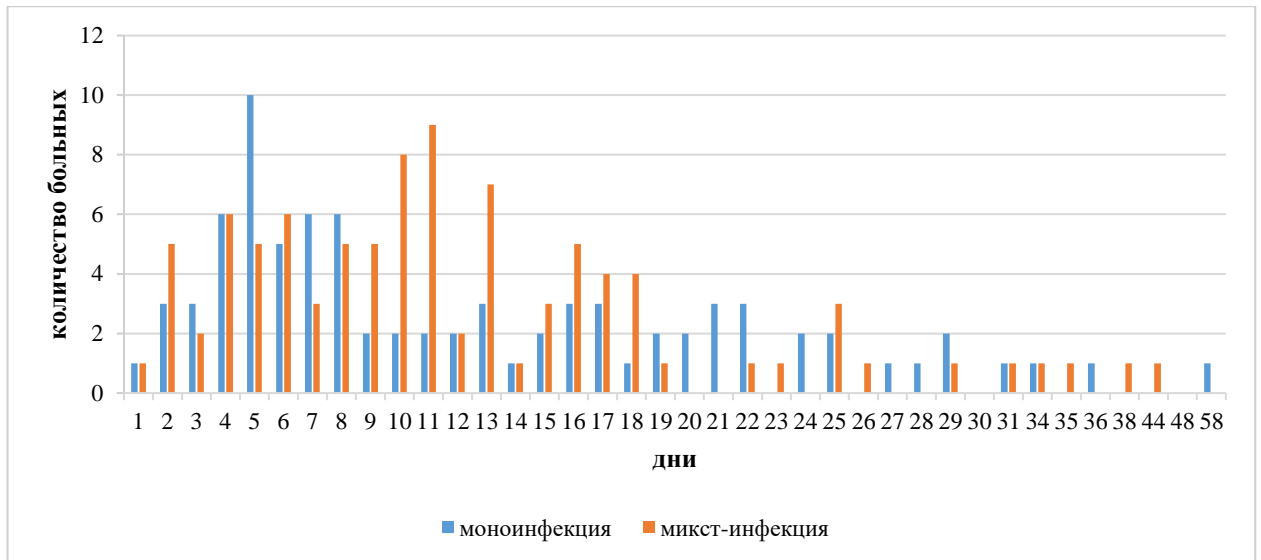
Из числа заболевших КЭ информация об экстренной специфической профилактике имела только для 170 пациентов (83,7%). Из них специфический иммуноглобулин против КЭ получили 37,6% (64 пациента), т.е. чуть более трети заболевших. Из них имели завершённый курс вакцинации – 12,5% (8 человек), у всех пациентов развилась лихорадочная форма заболевания; 2 прививки – 3,1% (9 человек), из них у 8 пациентов развилась лихорадочная форма заболевания и у одного – очаговая (менингоэнцефалитическая), что вероятно связано с незаконченным курсом

вакцинации, кроме того, первая прививка была введена за 10 лет до развития заболевания, т. е. человек фактически уже утратил специфический иммунитет к вирусу КЭ и уже относился к группе невакцинированных пациентов; при незавершенном курсе вакцинации (1 прививка) – у одного пациента (1,6%) была диагностирована лихорадочная форма КЭ. 57,8% больных (37 человек) получили иммуноглобулин человека против КЭ без учета массы тела (1:320). 84,4% пациентов (54 человека) получили специфический иммуноглобулин в первые 4 суток после удаления клеща, 15,6% (10 человек) – на 5-13-е сутки. Из них у четырех пациентов развилась менингеальная и очаговая формы заболевания, пациенты привиты не были, у одного пациента были множественные присасывания клещей. Остальные пациенты имели заверченный или незавершенный курс вакцинации.

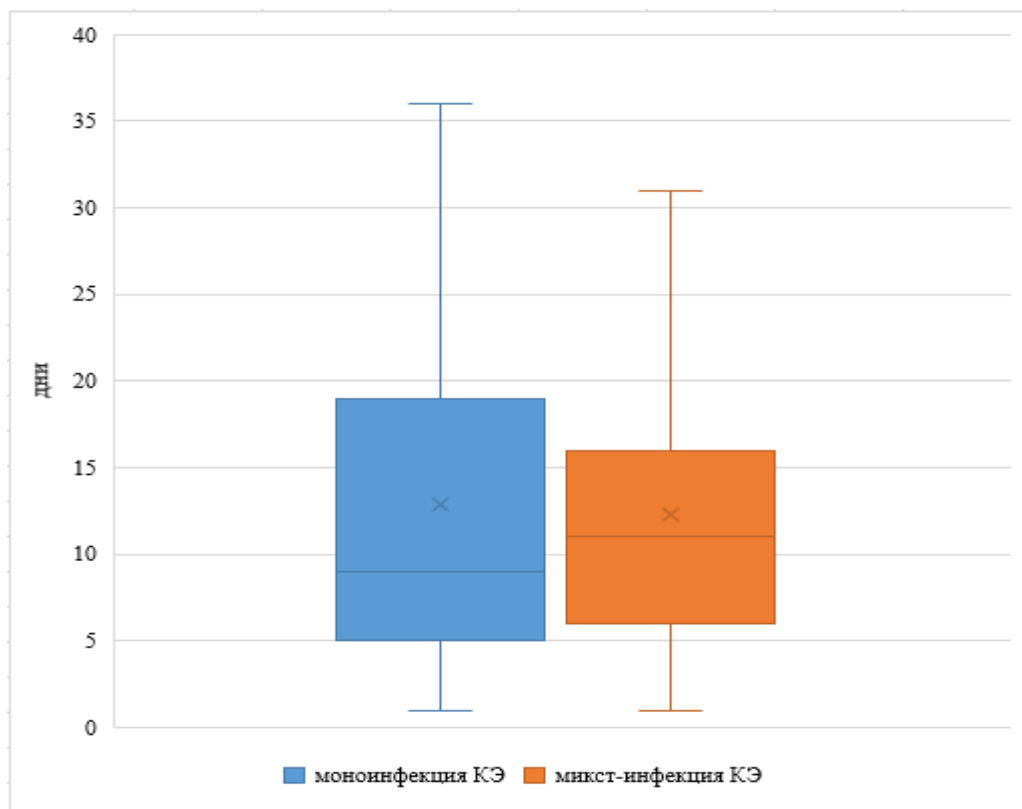
Пациенты старшей возрастной группы (60 лет и старше) (61 человек) в 16,4% (10 человек) имели очаговую форму заболевания, в 13,1% (8 человек) – менингеальную, в 59,0% (36 человек) – лихорадочную, в 8,2% (5 человек) –инаппарантную, в 1,6% (1 человек) – стертую.

На территории Свердловской области циркулирует сибирский подтип вируса КЭ. В настоящий момент в литературе широко обсуждается проблема тяжелых очаговых форм КЭ с летальным исходом, вызванным данным подтипом возбудителя, в том числе среди вакцинированных пациентов [107; 196]. Сообщается об увеличении и утяжелении с 2004 по 2012 гг. очаговых форм на европейской части России, в Сибири и на Урале, где доминирующим подтипом вируса КЭ является сибирский [170].

Данные о продолжительности инкубационного периода при КЭ приведены в Таблице 57 и Рисунках 105 и 106. Длительность инкубационного периода в исследуемой группе колебалась от 1 суток до 58 дней, составив в среднем $12,6 \pm 9,1$ дней. Средний инкубационный период при моноинфекции (медиана) составил $12,9 \pm 9,9$ дней и находился в интервале от 1 до 58 дней. Медиана инкубационного периода при микст-инфекции КЭ составила $12,3 \pm 8,4$ дней (от 1 до 44 дней) (Рисунки 106 и 107, Таблица 57). Достоверных отличий в длительности инкубационного периода при моно- и микст-инфекции нами обнаружено не было ($p = 0,9$).



Рисунки 106 – Продолжительность инкубационного периода при моно- и микст-инфекции КЭ



Показаны медианы, нижние и верхние квартили, минимальные и максимальные значения. Тест Манна-Уитни, $p = 0,9$ (статистически достоверное различие не наблюдается).

Рисунок 107 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных с КЭ с моно- и микст-инфекциями

Таблица 57 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных при моно- и микст-инфекции КЭ

КЭ (моно и микст-)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	31	34	35	36	38	44	58	Р
МОНО-	1	3	3	6	10	5	6	6	2	2	2	2	3	1	2	3	3	1	2	2	3	3	0	2	2	0	1	1	2	1	1	0	1	0	0	1	0,9
МИКСТ-	1	5	2	6	5	6	3	5	5	8	9	2	7	1	3	5	4	4	1	0	0	1	1	0	3	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	

Длительность лечения КЭ за изученный период в условиях стационара колебалась от трех суток до 44 дней, в среднем $15,1 \pm 6,2$: при моноинфекции – $15,6 \pm 6,4$ (от 3 до 35 дней), при микст-инфекции – $14,7 \pm 6,0$ (от 7 до 44 дней), достоверных отличий не обнаружено ($p = 0,22$).

Клинико-лабораторные проявления КЭ. У 93,1% (189 больных) в нашем исследовании было отмечено острое начало заболевания: с моноинфекцией – в 49,2% (93 человека), с микст-инфекцией – в 50,8% (96 человек), которое характеризовалось внезапным подъемом температуры до $38-40^{\circ}\text{C}$ (при моноинфекции – в 67,3% (64 человека), при микст-инфекции – в 62,0% (67 человек). Субфебрильная температура отмечалась у 31,2% случаев (29 человек) при моноинфекции и в 30,2% (29 человек) при микст-инфекции. У двух человек (2,2%) при моноинфекции КЭ температура была нормальной, при микст-инфекции – у 12 человек (12,5%). Лихорадка с ознобом была отмечена у 43 пациентов (21,2%): с моноинфекцией – у 25 человек (26,3%), с микст-инфекцией – у 18 человек (16,6%). Общая длительность всего лихорадочного периода в среднем составила $3,6 \pm 2,3$ дней (от 1 до 19 дней): при моноинфекции – $4,0 \pm 3,0$ дней (от 1 до 19 дней), при микст-инфекции – $3,1 \pm 1,9$ дней (от 1 до 9 дней) ($p = 0,08$). Фебрильная температура была выявлена у 133 пациентов (65,5%), из них с моноинфекцией – у 64 (48,1%), с микст-инфекцией – у 69 (51,9%). У 79,8% пациентов встречались слабость (162 человека), у 69,5% – головная боль (141 человек). Реже были зарегистрированы такие проявления интоксикации, как миалгии – 18,7% (38 человек) и артралгии – 9,4% (19 человек). Частота регистрации клинических симптомов приведена в Таблице 58, на Рисунке 108.

Таблица 58 – Частота регистрации клинических симптомов при моно- и микст-инфекции КЭ

Симптом заболевания	Моноинфекция КЭ (количество – 95), частота встречаемости в %												Микст-инфекция (количество – 108), частота встречаемости в %												P (всего при моно- и микст-инфекции)
	всего		Инаппарантная		Лихорадочная		Менингеальная		Очаговая		Стертая		всего		Инаппарантная		Лихорадочная		Менингеальная		Очаговая		Стертая		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Лихорадка (38 ⁰ С и выше)	64	67,3	0	0,0	32	33,7	13	13,7	19	20,0	0	0,0	67	62,0	1	0,9	45	42,7	8	7,4	12	11,1	1	0,9	0,46
Озноб	25	26,3	0	0,0	19	20,0	0	0,0	6	6,3	0	0,0	18	16,7	1	0,9	13	12,0	1	0,9	3	2,8	0	0,0	0,12
Головная боль	67	70,1	0	0,0	36	37,9	13	13,7	18	18,9	0	0,0	74	68,5	3	2,8	53	49,1	8	7,4	9	8,3	1	0,9	0,76
Головокружение	14	14,7	0	0,0	4	4,2	3	3,2	7	7,4	0	0,0	22	20,4	2	1,9	13	12,0	2	1,9	5	4,6	0	0,0	0,36
Общая слабость	80	84,2	0	0,0	49	51,6	13	13,7	18	18,9	0	0,0	82	75,9	7	6,5	58	53,7	8	7,4	8	7,4	1	0,9	0,16
Обложенность языка	25	26,3	0	0,0	11	11,6	3	3,2	11	11,6	0	0,0	14	13,0	0	0,0	8	7,4	1	0,9	5	4,6	0	0,0	0,02****
Першение в горле	2	2,1	0	0,0	1	1,1	0	0,0	1	1,1	0	0,0	1	0,9	0	0,0	1	0,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,60
Тошнота	23	24,2	0	0,0	13	13,7	3	3,2	7	7,4	0	0,0	17	15,7	1	0,9	9	8,3	0	0,0	7	6,5	0	0,0	0,16
Рвота	13	13,7	0	0,0	4	4,2	2	2,1	7	7,4	0	0,0	10	9,3	1	0,9	5	4,6	0	0,0	4	3,7	0	0,0	0,38
Диарея	3	3,2	0	0,0	1	1,1	2	2,1	0	0,0	0	0,0	2	1,9	0	0,0	1	0,9	1	0,9	0	0,0	0	0,0	0,67
Боли в поясничной области	3	3,2	0	0,0	3	3,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,10
Боли в животе	1	1,1	0	0,0	0	0,0	1	1,1	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,47
Регионарная лимфаденопатия	2	2,1	0	0,0	1	1,1	1	1,1	0	0,0	0	0,0	2	1,9	0	0,0	2	1,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,99
Генерализованная лимфаденопатия	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,9	0	0,0	1	0,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0,99
Миалгии	14	14,7	0	0,0	10	9,5	2	2,1	2	2,1	0	0,0	24	22,2	1	0,9	21	19,4	1	0,9	1	0,9	0	0,0	0,21
Артралгии	6	6,3	0	0,0	4	4,2	1	1,1	1	1,1	0	0,0	13	12,0	1	0,9	9	8,3	2	1,9	1	0,9	0	0,0	0,23
Менингеальные симптомы	15	15,8	0	0,0	0	0,0	14	14,7	1	1,1	0	0,0	13	12,0	0	0,0	1	0,9	9		3		0	0,0	0,54
Проба Ромберга*	18	28,6	0	0,0	6	9,5	6	9,5	6	9,5	0	0,0	18	24,0	3	4,0	8	10,7	2	2,7	5	6,7	0	0,0	0,56
Нистагм**	5	6,8	0	0,0	2	2,7	3	4,1	0	0,0	0	0,0	11	13,8	2	2,5	6	7,5	1	1,3	2	2,5	0	0,0	0,19
ЧСС > 80 уд/мин	40	54,8	0	0,0	19	20,0	6	6,3	15	15,8	0	0,0	34	31,5	2	1,9	24	22,2	1	0,9	7	6,5	0	0,0	0,14
Прочие симптомы***	47	49,4	0	0,0	27	28,4	4	4,2	16	16,8	0	0,0	41	38,0	4	3,7	25	23,1	4	3,7	7	4,5	0	0,0	0,12

Примечание: * Проба Ромберга была выполнена 63 пациентам при моноинфекции и 75 – при микст-инфекции; ** Нистагм проверялся у 73 человек при моноинфекции и у 80 – при микст-инфекции; *** прочие симптомы включали – тремор, оглушение, нарушение координации, проблемы с памятью, фонофобия, речевые нарушения, тяжесть в голове, рассеянность, эпилептический припадок и некоторые другие; **** обнаружены статистически значимые различия (p < 0,05).

Пациенты поступали в стационар с предварительными диагнозами «Острый клещевой энцефалит», «болезнь Лайма», «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими», «Острая респираторная вирусная инфекция», «Генерализованный эпилептический припадок», «Эписиндром», «Энцефалопатия при сахарном диабете», «Последствия черепно-мозговой травмы».

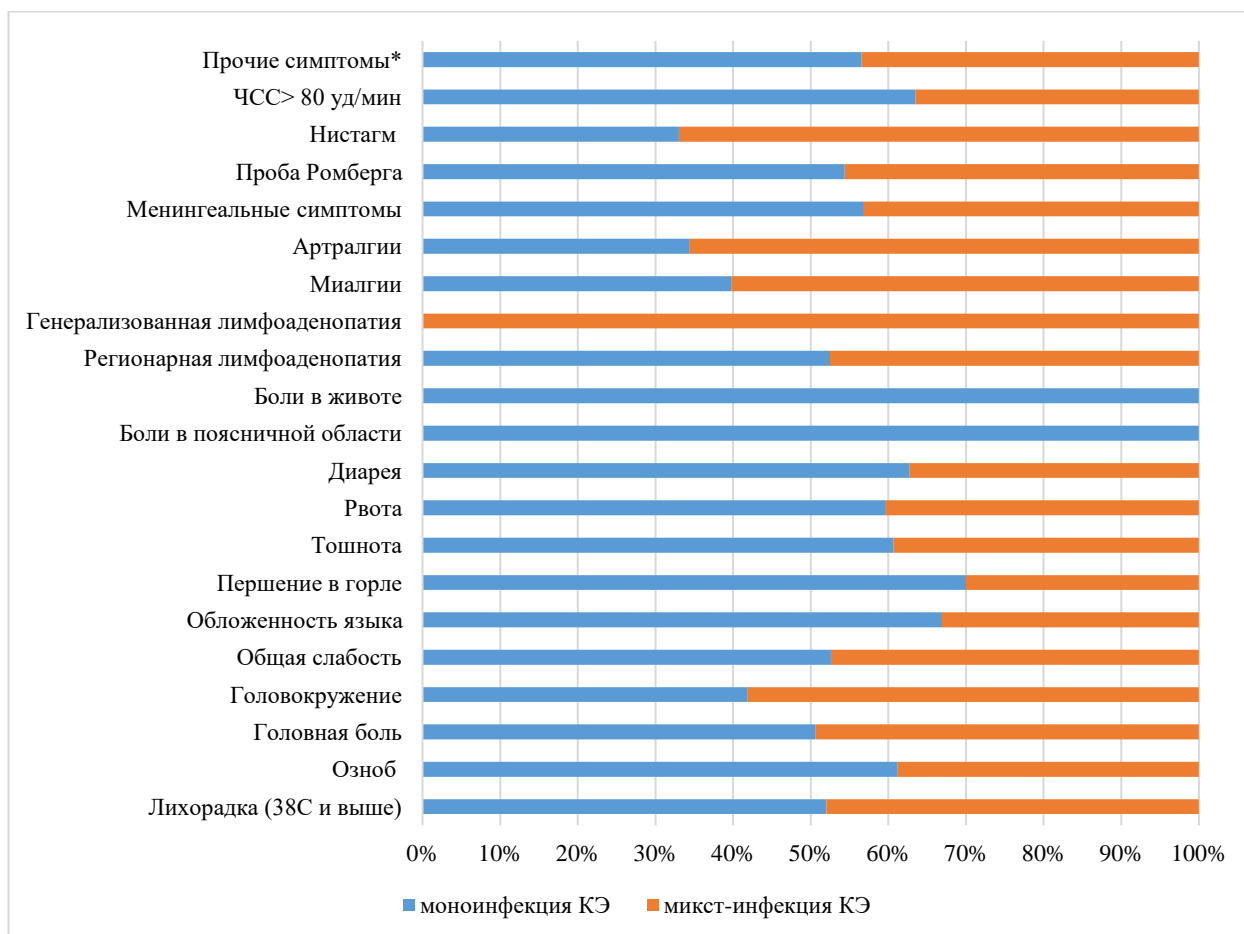


Рисунок 108 – Частота регистрации клинических симптомов у больных с моно- и микст-инфекцией КЭ

У всех больных исследовались общий анализ крови и мочи. У большей части больных проводился биохимический анализ крови с определением уровня печеночных ферментов – АЛТ (89,2%, 181 человек), АСТ (34,5%, 70 человек), общего билирубина (81,9%, 166 человек), креатинина (36,5%, 74 человека), С-реактивного белка (40,4%, 82 человека) и глюкозы (86,7%, 176 человек). В крови наблюдались умеренный лейкоцитоз у 20,2% пациентов (39 человек), лейкопения в 11,9% случаев (23 человека), сдвиг лейкоцитарной формулы влево в 9,2% (14 человек), тромбоцитопения в 11,1% (21 человек), повышение СОЭ (до 63 мм в час) в 43,9% (79 человек), повышение АЛТ (до 197,8 ммоль/л) в 16,6% (30 человек), повышение АСТ (до 92 ммоль/л) в 28,6% случаев (20 человек) (Таблица 59).

В моче отмечались изменения у 70,2% больных (115 человек). При моноинфекции КЭ отклонения были в плотности мочи в сторону гипостенурии (65,0%), гиперстенурия была у 5,0%, протеинурия – у 26,1% пациентов с КЭ. По показаниям проводилась люмбальная пункция. В СМЖ при менингеальной и очаговой формах были выявлены характерные признаки серозного менингита. Уровень белка был повышен незначительно $0,9 \pm 0,5$ г/л (размах значений от 0,34 до 2,57 г/л при норме 0,22-0,33 г/л). По клеточному составу в СМЖ преобладали лимфоциты (средний цитоз 131 ± 159 клеток/мл; размах значений от 6 до 557 клеток/мл).

Таблица 59 – Лабораторные показатели крови у обследованных пациентов с моно- и микст-инфекцией КЭ

Показатель	Моноинфекция КЭ		Микст-инфекция КЭ		P
	абс.	%	абс.	%	
Лейкоцитоз	25	28,1	14	13,5	0,02*
Лейкопения	9	10,1	14	13,5	0,99
Тромбоцитопения	11	12,5	10	9,8	0,65
Тромбоцитоз	0	0,0	2	2,0	0,50
Повышение АЛТ	13	15,5	17	17,5	0,84
Повышение АСТ	6	20,0	14	35,0	0,19
Повышение СОЭ	33	39,8	46	47,4	0,29
Повышение С-реактивного белка	23	57,5	26	61,9	0,82
Повышение общего билирубина	4	5,2	7	7,9	0,55
Повышение креатинина	3	7,9	1	2,8	0,62
Повышение глюкозы	25	30,1	15	16,1	0,03*
Гранулоцитоз	27	30,3	17	16,3	0,04*
Агранулоцитоз	4	4,5	8	7,7	0,76
Увеличение палочкоядерных нейтрофилов	6	9,0	8	9,3	0,99
Лимфоцитоз	11	12,5	19	18,4	0,32
Лимфоцитопения	19	21,6	19	18,4	0,85
Моноцитоз	5	5,7	10	9,7	0,42
Моноцитопения	10	11,4	8	7,8	0,47

Примечание: *статистически значимые различия показателей ($p < 0,05$).

Молекулярно-генетическая характеристика вируса КЭ. В ходе исследования были выявлены 14 положительных образцов РНК вируса КЭ. По результатам генотипирования все изоляты были отнесены к сибирскому подтипу возбудителя. Результаты секвенирования гена Е изолятов вируса КЭ, выделенных в 2021 г. из крови пациентов с различными клиническими формами заболевания были отнесены к сибирскому подтипу вируса субгенотипу «Заусаев». Данные образцы отмечены овалом на Рисунке 109. В дальнейшем из трех образцов крови (2021 г.) в лабораторных условиях были выделены изоляты (штаммы) вируса КЭ, подробнее об их нейровирулентных и нейроинвазивных свойствах будет сказано в главе 9 диссертационного исследования.



Рисунок 109 – Филогенетический анализ образцов кДНК вируса КЭ

Эволюционная история была определена с помощью метода ближайших соседей [773]. Для представления эволюционной истории анализируемых таксонов взято бутстреп-консенсусное дерево, полученное из 10000 реплик. Ветви, соответствующие разделам, воспроизведенным менее чем в 50% бутстреп-реплик, свернуты. Процент реплицированных деревьев, в которых соответствующие таксоны кластеризовались вместе в бутстреп-тесте (10000 реплик), показан рядом с ветвями. Эволюционные расстояния были рассчитаны по методу J-C [583] и представлены

в единицах числа замен оснований на сайт. 118 нуклеотидных последовательностей, 11174 позиции, все неоднозначные позиции были удалены для каждой пары последовательностей (опция парного удаления). Последовательность вируса Лангат выбрана в качестве корня. В подписях к верхушкам ветвей указаны номера, депонированные в GenBank нуклеотидных последовательностей, подтипы вируса КЭ (если известны ранее), место сбора, дата и источник изолята (кровь, аутопсийный материал от больных, вид клеща). Красными ромбами отмечены полученные в нашем исследовании нуклеотидные последовательности уникальных изолятов из клинического материала и клещей. Зеленый цвет – европейский подтип, пурпурный – дальневосточный, голубой – сибирский.

Филогенетическое древо, построенное с использованием полученных нами нуклеотидных последовательностей вируса КЭ в сочетании с референсными, указывает на то, что наши изоляты из Свердловской области (обозначенные как Екатеринбург на древе) относятся к сибирскому подтипу и родственны референсному штамму Заусаев. Однако при исследовании клещей *I. persulcatus*, собранных из природы, часть из них уверенно кластеризовалась отдельно, вместе с описанными финскими учеными изолятами Котка (2011, клещ) и Куутсало (2015, мозжечок человека).

По совокупности наших и других данных можно считать, что сибирский подтип в силу своего широкого географического распространения является уникальным, весьма разнообразным и активно эволюционирующим. В то время как дальневосточный и европейский подтипы находятся под пристальным контролем и обеспечены разработанными вакцинами, сибирский можно считать в долгосрочной перспективе самым опасным природным резервуаром эмерджентных вспышек различных тяжелых (очаговых) форм с развитием энцефалита у человека. Это указывает на необходимость его дальнейшего изучения, в частности, полногеномного секвенирования большего количества изолятов из разных областей РФ.

Таким образом, можно выделить следующие эпидемиологические особенности КЭ в Свердловской области. Во-первых, КЭ чаще болеют мужчины среднего и старшего возраста. Во-вторых, в большинстве случаев инфицирование происходит при присасывании иксодовых клещей, однако обращает на себя тот факт, что практически у каждого шестого заболевшего путь заражения установить не удалось. В-третьих, длительность присасывания клеща не влияет на развитие заболевания и клинической формы КЭ. В-четвертых, менингеальные и очаговые формы КЭ наиболее часто встречаются среди невакцинированных пациентов, хотя единичные случаи очаговых форм также могут наблюдаться и среди лиц с завершенным курсом вакцинации. Причины тяжелого течения КЭ, вызванного наиболее распространенным на территории России сибирским подтипом возбудителя среди вакцинированных пациентов, будут рассмотрены в главе 9 диссертационного исследования.

Также нужно отметить, что при поступлении в стационар пациента с наличием лихорадки и симптомов поражения ЦНС, проживающего или прибывающего с территории эндемичной по КЭ, но отрицающего факт присасывания клеща, или прошедшего полный курс вакцинации, нельзя исключить диагноз «Клещевой энцефалит». Необходимо более тщательно собрать

эпидемиологический анамнез и назначить серологическое исследование на выявление антител к вирусу КЭ, а также ПЦР на выявление вирусной РНК в крови или СМЖ (при наличии). При оценке результатов серологического исследования следует помнить о различных вариантах динамики гуморального иммунитета особенно у вакцинированных больных [210]. Также в данной группе пациентов в течение нескольких месяцев после вакцинации могут выявляться IgM [624]. Вопрос о динамике гуморального иммунитета у вакцинированных больных будет рассмотрен в главе 8 диссертационного исследования.

В нашей работе при оценке клинико-лабораторных проявлений у больных с моно- и микст-инфекцией КЭ не выявлено статистически значимых отличий в выявлении клинических симптомов, за исключением такого симптома, как «обложенность языка», который чаще встречался в группе пациентов с моноинфекцией КЭ. Среди лабораторных показателей при моноинфекции КЭ наиболее часто встречались лейкоцитоз, повышение глюкозы и гранулоцитоз ($p < 0,05$), достоверной разницы по другим показателям обнаружено не было. Также не выявлено статистически значимой разницы при моно- и микст-инфекции КЭ между продолжительностью инкубационного периода и продолжительностью лечения в стационаре. Установлено, что этиологическим агентом различных клинических форм КЭ на современном этапе на территории Свердловской области является сибирский подтип вируса, субгенотип «Заусаев».

7.2. Эпидемиологическая, клинико-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика болезни Лайма

В периоды 2009-2011 гг., 2015-2018 гг. и 2021 г. нами изучены истории болезни от 623 пациентов с подтвержденным диагнозом болезнь Лайма: 368 – с эритемной формой (моноинфекция – 274, микст-инфекция – 94), 255 – с безэритемной формой (моноинфекция – 184, микст-инфекция – 71) (Таблица 60). Соотношение эритемной и безэритемной форм в нашем исследовании составило 59,1% и 40,9% соответственно. При первичном обращении к врачу по месту жительства или при поступлении в ООО МО «Новая больница» при наличии мигрирующей эритемы диагноз «Болезнь Лайма, эритемная форма» был поставлен правильно в 98,4% случаев, в 1,6% случаев диагнозы были «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими», «Химический ожог 1 степени», «Дисциркуляторная энцефалопатия». В случае безэритемной формы БЛ наиболее частыми первоначальными диагнозами были: в 20,9% случаев «Острый клещевой энцефалит, лихорадочная форма», в 12,2% случаев «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими», реже – «Остеохондроз шейного отдела позвоночника 1-2 степени», «Острое нарушение мозгового кровообращения», «Острая

респираторная вирусная инфекция», «Нейропатия лицевого нерва», «Сахарный диабет 2 типа, декомпенсация. Цереброваскулярная болезнь», «Серозный менингит неуточненной этиологии».

У всех больных диагноз был подтвержден на основании эпидемиологических, клинико-лабораторных и специфических лабораторных методов исследования (ПЦР и серологических исследований парных сывороток крови). В целом диагноз БЛ был подтвержден серологически у 70,7% больных (440 человек), из них у 100% с БЛ-БЭФ и у 52,2% (192 человека) с БЛ-ЭФ. Диагноз у пациентов с БЛ-ЭФ ставился на основании наличия мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща, либо наличия множественных эритем, что свидетельствовало о диссеминации инфекции. От одного пациента сыворотка крови забиралась минимум два раза – в начале и в конце заболевания (как правило, перед выпиской – 10-14 дни). Трехкратное обследование значительно повышало чувствительность серологической диагностики. В 2009-2010 г. и 2021 г. серологические методы диагностики были дополнены методом ПЦР с определением 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в лейкоцитарной фракции и плазме крови. Кровь для ПЦР-исследования забиралась у пациента однократно, как правило, в первые 1-2 суток поступления в стационар или обращения за медицинской помощью амбулаторно. В ходе исследования 16S рРНК *B. burgdorferi* s.l. обнаружена у 15,5% (57 пациентов), из них с эритемной формой у 91,2% (52 больных), что свидетельствовало о диссеминации возбудителя; с безэритемной формой у 8,8% (5 пациентов). Исследования, проведенные методом ПЦР позволили поставить диагноз до результатов серологической диагностики, в т.ч. в период «серологического окна» или у пациентов с отрицательным результатом серологических тестов в 7,3% (18 случаев).

Диагноз «БЛ, эритемная форма» не требует обязательного лабораторного подтверждения. В большинстве случаев диагноз был поставлен на основе клинико-эпидемиологических данных. В ходе работы также апробировалась серологическая диагностика методом планарного белкового биочипа для дифференциальной диагностики БЛ и БМ.

Таблица 60 – Обследованные пациенты с БЛ в виде моно- и микст-инфекции

Моно- и микст-инфекция КЭ	Количество	%
БЛ-ЭФ	274	44,1
БЛ-БЭФ	184	29,6
БМ+БЛ-ЭФ	12	1,9
БМ+БЛ-ЭФ+ГАЧ	2	0,3
БМ+КЭ+БЛ-БЭФ+ГАЧ	1	0,2
БЛ-БЭФ+ГАЧ	11	1,8
БЛ-БЭФ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,2
БЛ-БЭФ+КЭ	53	8,5
БЛ-БЭФ+МЭЧ	2	0,3
БЛ-ЭФ+ГАЧ	55	8,8
БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ	4	0,6
БЛ-ЭФ+КЭ	18	2,9
БЛ-ЭФ+КЭ+ГАЧ	3	0,5

Продолжение Таблицы 60

БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ	2	0,3
БМ+КЭ+БЛ-БЭФ+ГАЧ	1	0,2
БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,2

Данные эпидемиологического анамнеза позволили построить картограмму мест инфицирования боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. Оказалось, что почти около половины случаев инфицирования произошла в подзоне южной предгорной и равнинной тайги в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга (264 случая заболевания (42,4%)). Эта территория стоит на первом месте по эпидемиологической значимости и при заражении вирусом КЭ (Таблица 61, Рисунок 110).

Таблица 61 – Подзоны и районы Свердловской области с количеством случаев заболевания БЛ

Лесная зона		
Подзона южной предгорной и равнинной тайги Включает 18 районов	Асбестовский	5
	Алапаевский	2
	Артемовский	2
	Березовский	32
	Белоярский	47
	Верхнепышминский	50
	Верхнесалдинский	0
	Верхотурский	1
	г. Екатеринбург и его окрестности	264
	г. Заречный	3
	Красноуральский	0
	Нижнетуринский, г. Качканар	0
	Невьянский	20
	Режевской	7
	Сысертский	40
	Таборинский	0
Тавдинский	1	
Туринский	1	
Подзона смешанных широколиственных и хвойных лесов Включает 1 район	Красноуфимский	0
Подзона южной горной тайги Включает 9 районов	Кировоградский	1
	Кушвинский	0
	Нижнесергинский (Бисерть)	9
	Первоуральский	15
	Пригородный	2
	Ревдинский	7
	Нижний Тагил	11
	Полевской	19
Шалинский	0	

Продолжение Таблицы 61

Подзона сосново-березовых лесов Включает 9 районов	Байкаловский	1
	Богдановичский	2
	Ирбитский	0
	Камышловский	0
	Пышминский	0
	Слободотуринский	0
	Суходожский	0
	Талицкий	5
	Тугулымский	0
Подзона средней предгорной и равнинной тайги Включает 7 районов	Ивдельский	1
	Гаринский	0
	Серовский	0
	Североуральский	0
	Карпинский	1
	Краснотурьинский	0
Новолялинский	2	
Лесостепная зона		
Лесостепь Предуралья Включает 2 района	Артинский	2
	Ачитский	3
Лесостепь Зауралья Включает 1 район	Каменский	19

Среди заболевших БЛ жителей Свердловской области были лица, посетившие другие территории, где произошло заражение боррелиями: Республика Башкортастан – 2 случая, Харьков – 1 случай, Курганская область – 3 случая, Орловская область – 1 случай, Пермский край – 6 случаев, Тульская область – 1 случай, Тюменская область – 2 случая, Челябинская область – 29 случаев, Финляндия – 1 случай, Ханты-Мансийский автономный округ – 1 случай.

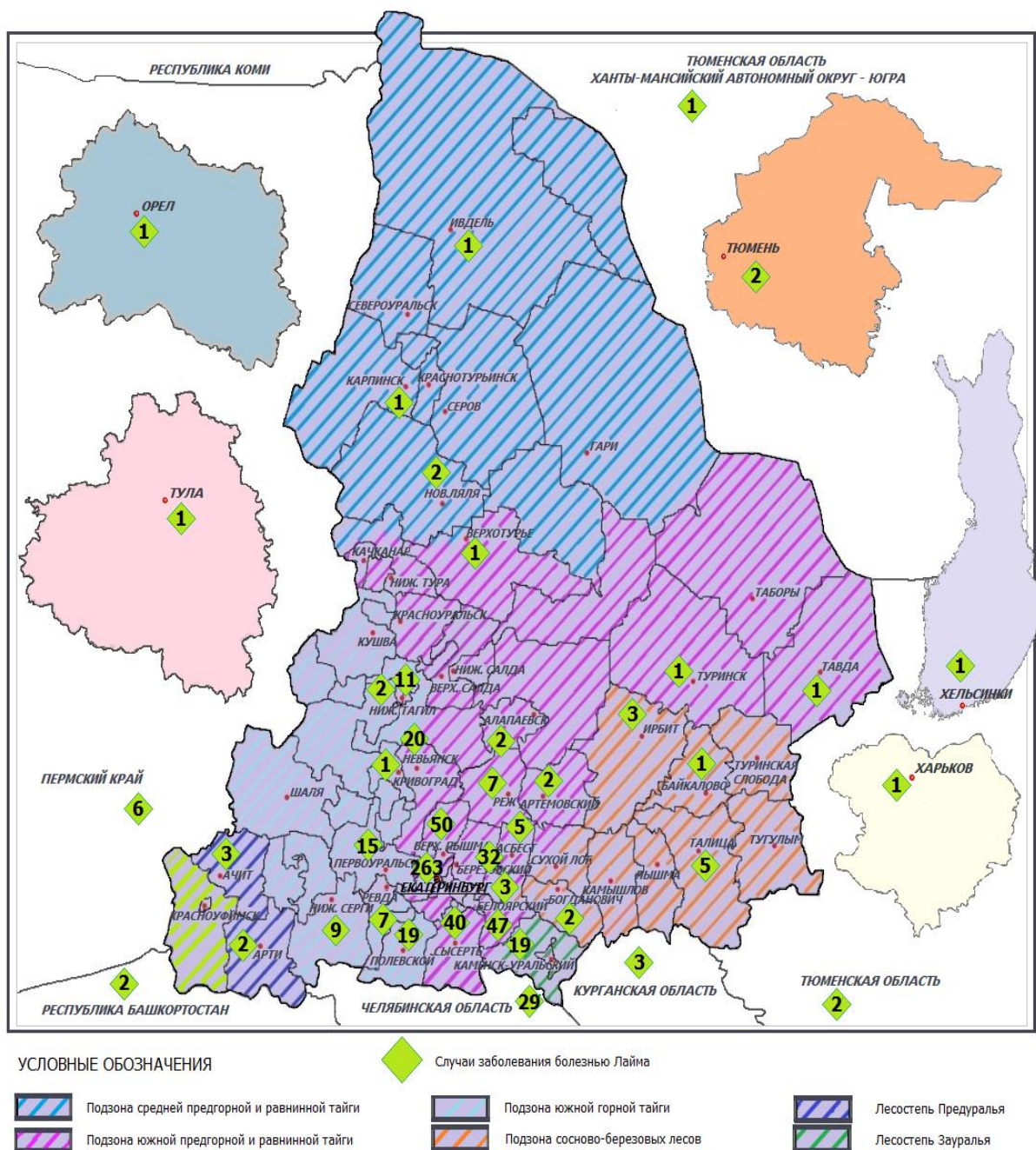


Рисунок 110 – Распределение мест заражения боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. на территории Свердловской области и за ее пределами (предполагаемое место заражения выделено ромбом)

При анализе заболеваемости БЛ по гендерному признаку несколько чаще болели лица женского пола 53,8% (335 человек), 46,2% (288 человек) пришлось на мужчин ($p = 0,009$). Также было обнаружено, что в Свердловской области БЛ чаще развивается у лиц трудоспособного возраста (20-59 лет) 53,6% (334 человека) и лиц 60 лет и старше 44,6% (278 человек) ($p < 0,0001$) (Таблица 62).

Таблица 62 – Распределение заболевших БЛ по возрасту и полу (%)

Всего 623 чел.	Пол		Возраст (лет)		
	мужчины	женщины	15-19	20-59	60 и старше
БЛ-ЭФ (368 чел.)	183 (49,7%)	185 (50,3%)	2 (0,5%)	161 (43,8%)	205 (55,7%)
БЛ-БЭФ (255 чел.)	105 (41,2%)	150 (58,8%)	9 (3,5%)	173 (67,8%)	73 (28,6%)

При сборе эпидемиологического анамнеза у пациентов с БЛ было выяснено, что факт присасывания клеща отмечали 88,9% заболевших (554 человек). Анализ мест локализации присасываний клещей на теле заболевших КЭ показал, что излюбленными местами присасывания являются: нижние конечности 20,9% (116 случаев), верхние конечности 16,4% (91 человек), живот 16,2% (90 человек) (Рисунок 111).

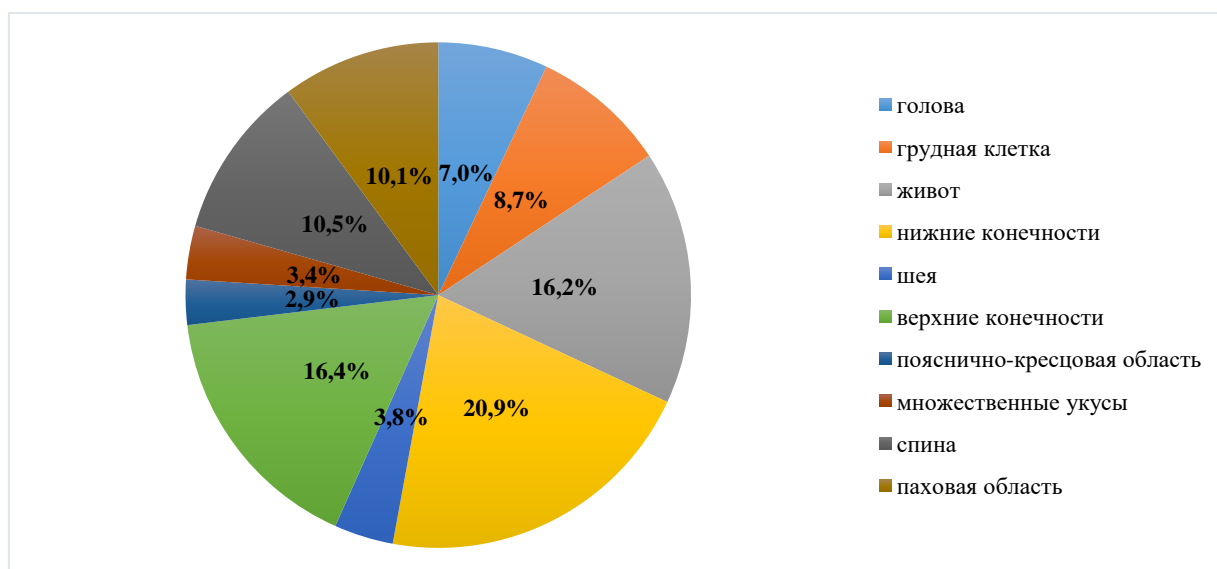


Рисунок 111 – Локализация мест присасывания клещей на теле заболевших БЛ на территории Свердловской области за изученный период

Необходимо отметить, что 11,1% (69 человек) всех заболевших отрицали факт присасывания клеща (у всех пациентов была зарегистрирована эритемная форма БЛ). Однако пациенты стряхивали клещей с одежды или кожи, снимали с людей или домашних животных, посещали лес или садово-огородные участки. Случаев заражения боррелиями при употреблении козьего или коровьего молока в нашей группе пациентов с БЛ зарегистрировано не было.

При анализе эпидемиологических данных было выявлено, что только 20,3% пациентов (126 человек) исследовали клеща (или клещей при многократном присасывании) на 16S рНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. методом ПЦР. Из них наибольшее количество исследований (96%, 121 клещ) было проведено в 2015-2018 и 2021 гг., что может быть связано с

большой доступностью ПЦР-исследования вследствие регистрации набора реагентов на 4 инфекции, а также проведением санпросветработы среди населения о том, что клещи кроме вируса КЭ являются еще переносчиками возбудителей наиболее распространенного в России заболевания – БЛ. 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. были выявлены в 91,8% случаев (112 исследованных клещей). Из 623 заболевших БЛ антибиотикопрофилактику получили 12,9% (80 пациентов), 10 из них отрицали факт присасывания клеща (так называемый «лесной фактор»). Более, чем в половине случаев 52,5% (42 человека) с целью экстренной антибиотикопрофилактики применялся доксицилин, в остальных случаях – юнидокс-солютаб, азитромицин, амиксин, амоксилав, амоксициллин, ампициллин, джозамицин, левофлоксацин, панцеф, сумамед, супракс, тетрацилин, цефабол, цефазолин, цефиксим, цефатоксим, цефтриаксон, цифран. При приеме антибиотиков с целью профилактики БЛ 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. удалось обнаружить только в одном образце крови, таким образом, данный фактор влияет на выявление нуклеиновых кислот возбудителя в биологическом материале. В 62,5% случаев (50 человек) у пациентов, получивших антибиотикопрофилактику, развилась безэритемная форма БЛ.

Следует отметить, что длительность присасывания клеща в случае БЛ может быть отягощающим фактором при развитии заболевания, вследствие того, что возбудитель часто локализуется в кишечнике клеща и необходимо время, чтобы он попал в слюнные железы, за исключением того, когда боррелии находятся уже в слюнных железах. В нашем исследовании в 66,5% случаев (414 человек) длительность присасывания клеща не превышала 1 сутки, в 14,3% (89 человек) – не более 2 суток, в 7,9% (49 человек) – не более 3 суток, в 4,0% (25 человек) – не более 4 суток, в 2,6% (16 человек) – 5 суток, в 1,6% (10 человек) – 6 суток, в 0,6% (4 человека) – 7 суток, в 1,0% (6 человек) – 8 суток, в 0,2% (1 человек) – 9 суток, в 0,5% (3 человека) – 10 суток, в 0,3% (2 человека) – 11 суток, в 0,3% (2 человека) – 12 суток, в 0,2% (1 человек) – 14 суток, в 0,2% (1 человек) – 16 суток. Независимо от длительности присасывания клеща регистрировались эритемная и безэритемная формы заболевания (Таблица 63).

Таблица 63 – Длительность присасывания и клинические формы заболевания БЛ

Длительность присасывания клеща	Клинические формы БЛ			
	эритемная		безэритемная	
	абс.	%	абс.	%
1-е сутки	216	58,7	198	77,6
2-е сутки	57	15,5	32	12,5
3-и сутки	40	10,9	9	3,5
4-е сутки	17	4,6	8	3,1
5-е сутки	11	3,0	5	2,0
6-е сутки	8	2,2	2	0,8
7-е сутки	3	0,8	1	0,4
8-е сутки	6	1,6	0	0,0

Продолжение Таблицы 63

9-е сутки	1	0,3	0	0,0
10-е сутки	3	0,8	0	0,0
11-е сутки	2	0,5	0	0,0
12-е сутки	2	0,5	0	0,0
14-е сутки	1	0,3	0	0,0
16-е сутки	1	0,3	0	0,0

Длительность инкубационного периода в группе пациентов с БЛ-ЭФ колебалась от 1 до 48 суток, в среднем $12,1 \pm 7,1$ дней: при моноинфекции - $11,9 \pm 7,2$ дней (от 1 до 48 дней); при микст-инфекции - $12,7 \pm 6,9$ дней (от 1 до 34 дней) ($p = 0,24$). В группе пациентов с БЛ-БЭФ от 1 до 71 дня, в среднем $13,5 \pm 10,5$ дней: при моноинфекции - $14,2 \pm 11,1$ дней (от 1 до 72 дней); при микст-инфекции - $11,6 \pm 9,0$ дней (от 2 до 44 дней) ($p = 0,08$) (Таблица 64, Рисунки 112 и 113).

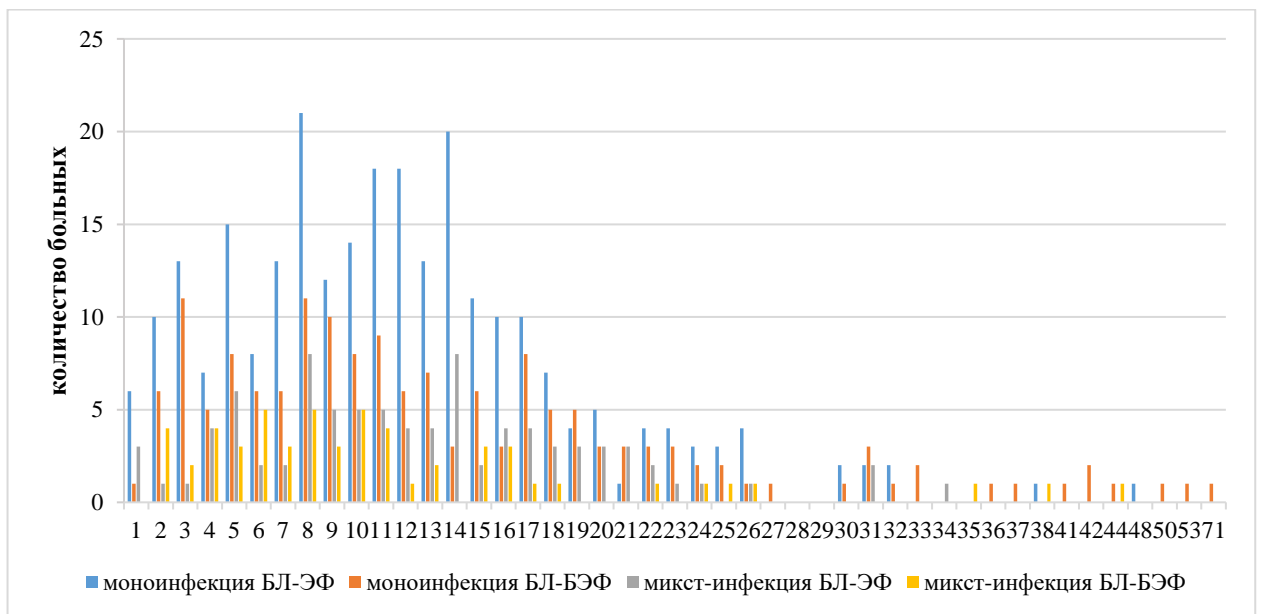
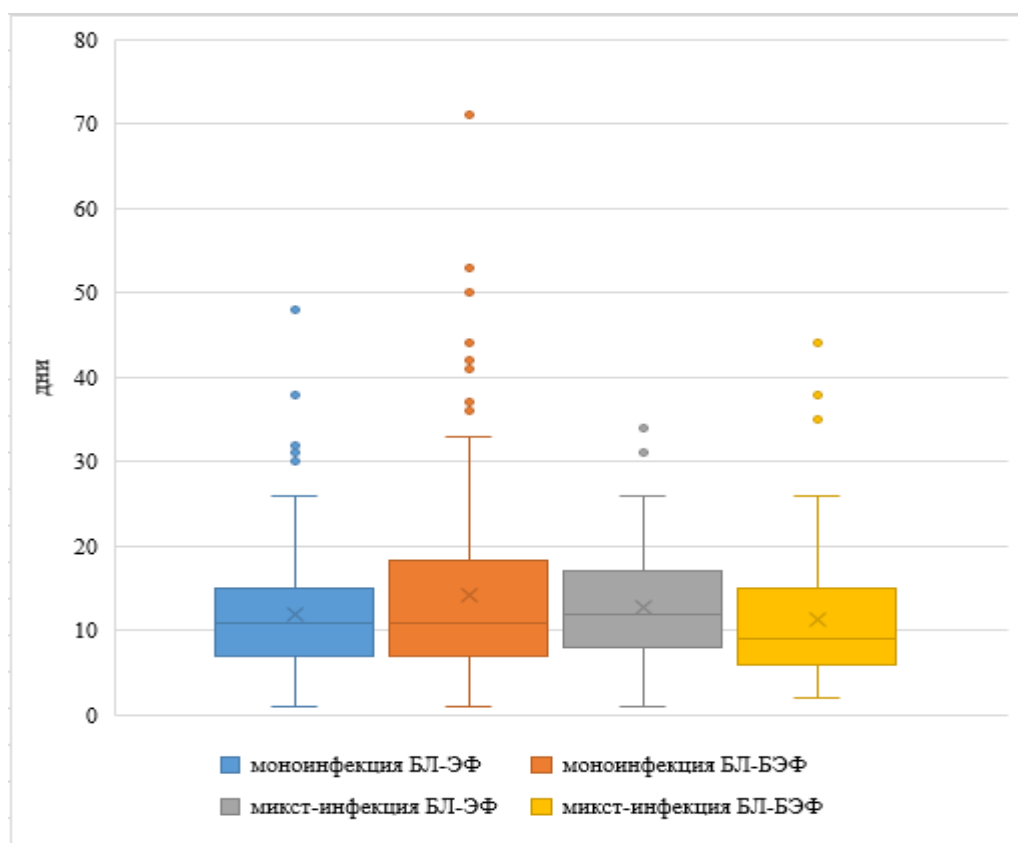


Рисунок 112 – Продолжительность инкубационного периода при БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ (моно- и микст-инфекция)



Показаны медианы, нижние и верхние квартили, минимальные и максимальные значения. Тест Крускал-Уоллеса, $p = 0,22$ (статистически достоверное различие не наблюдается).

Рисунок 113 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ с моно- и микст-инфекциями

Таблица 64 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных при моно- и микст-инфекции БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ

БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ (моно- и микст-)																													Р																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	30		31	32	33	34	35	36	37	38	41	42	44	48	50	53	71							
МОНО-	БЛ-ЭФ	6	10	13	7	15	8	13	21	12	14	18	18	13	20	11	10	10	7	4	5	1	4	4	3	3	4	0	2	2	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0,24 и 0,08		
	БЛ-БЭФ	1	6	11	5	8	6	6	11	10	8	9	6	7	3	6	3	8	5	5	3	3	3	3	2	2	1	1	1	3	1	2	0	0	1	1	0	1	2	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1		
МИКСТ-	БЛ-ЭФ	3	1	1	4	6	2	2	8	5	5	5	4	4	8	2	4	4	3	3	3	3	2	1	1	0	1	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	БЛ-БЭФ	0	4	2	4	3	5	3	5	3	5	4	1	2	0	3	3	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

За период наблюдения большинство пациентов с эритемной формой БЛ (без общеинфекционного синдрома) находились на амбулаторном лечении. Длительность лечения БЛ-ЭФ за изученный период в условиях стационара колебалась от трех суток до 35 дней, в среднем $11,3 \pm 2,6$: при моноинфекции – $11,2 \pm 4,0$ дня (от 3 до 21 дня), при микст-инфекции – $11,6 \pm 4,0$ дня (от 3 до 35 дней) ($p = 0,90$). При БЛ-БЭФ длительность лечения колебалась от 5 до 44 дней, в среднем $13,4 \pm 5,2$ дня: при моноинфекции – $13,0 \pm 5,3$ дня (от 5 до 41 дня), при микст-инфекции – $14,6 \pm 6,6$ дня (от 7 до 44 дня) ($p = 0,55$).

Клинико-лабораторные проявления болезни Лайма. В нашем исследовании в группе пациентов с БЛ-ЭФ в 50% случаях (184 человека) заболевание начиналось остро с подъема температуры до субфебрильных $37,0-37,9^{\circ}\text{C}$ (19,8%, 73 человек) и фебрильных цифр $38,0-40,2^{\circ}\text{C}$ (30,2%, 111 человек). В группе пациентов с моноинфекцией БЛ-ЭФ частота острого начала заболевания составила 49,6% (136 человек), в группе пациентов с микст-инфекцией 51,1% (48 человек): до субфебрильных цифр температура поднималась в 19,3% случаев (53 человека) у пациентов с моноинфекцией и фебрильных цифр в 30,3% (83 человека); с микст-инфекцией – до субфебрильных цифр в 21,3% (20 человек) и фебрильных цифр в 29,8% случаев (28 человек).

В группе пациентов с БЛ-БЭФ в 71,0% случаев (181 человек) заболевание начиналось остро с подъема температуры до субфебрильных $37,0-37,9^{\circ}\text{C}$ в 23,1% случаев (59 человек) и фебрильных цифр $38,0-40,2^{\circ}\text{C}$ в 47,8% (122 человека). В группе пациентов с моноинфекцией БЛ-БЭФ частота острого начала заболевания составила 66,8% (123 человека), в группе пациентов с микст-инфекцией – 81,7% (58 человек). До субфебрильных цифр у пациентов с моноинфекцией БЛ-БЭФ температура поднималась в 21,2% случаев (39 человек) и фебрильных цифр в 45,7% (84 человека); с микст-инфекцией: до субфебрильных – 28,2% (20 человек) и фебрильных цифр – 70,4% (50 человек).

Длительность лихорадочного периода в группе пациентов с БЛ-ЭФ колебалась от 1 до 9 дней, в среднем $3,0 \pm 1,4$ дня: при моноинфекции $3,1 \pm 1,5$ дня (от 1 до 9 дней), при микст-инфекции – $3,6 \pm 1,6$ дня (от 1 до 7 дней) ($p = 0,57$). При БЛ-БЭФ длительность лихорадочного периода колебалась от 1 до 24 дней, в среднем $3,5 \pm 3,2$ дня: при моноинфекции – $3,7 \pm 3,7$ дней (от 1 до 24 дней), при микст-инфекции – $3,1 \pm 1,4$ дня (от 2 до 9 дней) ($p = 0,57$).

Лихорадка с ознобом была отмечена в 9,1% случаев (57 пациентов): с моноинфекцией БЛ-ЭФ – в 7,3% (20 человек), БЛ-БЭФ – в 13,0% (24 человека). С микст-инфекцией БЛ-ЭФ – в 4,3% (4 человека), с микст-инфекцией БЛ-БЭФ – в 12,7% (9 человек). Более, чем у трети пациентов с БЛ в 41,7% (260 человек) была головная боль: при моноинфекции БЛ-ЭФ – в 35,0% (96 человек), при моноинфекции БЛ-БЭФ – в 52,2% (96 человек), при микст-инфекции БЛ-ЭФ – в 24,5% (23 человека), при микст-инфекции БЛ-БЭФ – в 64,8% (46 человек). Частота регистрации клинических симптомов представлена в Таблице 65, на Рисунках 114 и 115.

Размеры эритемы у больных с БЛ-ЭФ колебались от 5 до 60 см. Множественные эритемы были выявлены у 25 больных (6,8%), что говорило о диссеминации возбудителя и риске хронизации процесса. На зуд в области эритемы жаловались 65 человек (17,7%), болезненность – 66 (17,9%), инфильтрация отмечалась у 63 пациентов (17,1%).

Таблица 65 – Частота регистрации клинических симптомов при моно- и микст-инфекции БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ

Симптом заболевания	БЛ-ЭФ (количество – 368)				P	БЛ-БЭФ (количество – 255)				P	P (моноинфекции БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ)
	моно- 274		микст- 94			моно- 184		микст- 71			
	абс.	%	абс.	%		абс.	%	абс.	%		
Лихорадка (38°C и выше)	136	49,6	48	51,1	0,90	123	66,8	58	81,7	0,02****	0,0004****
Озноб	32	11,7	8	8,5	0,45	29	15,7	12	16,9	0,85	0,21
Головная боль	96	35,0	22	23,4	0,04** **	96	52,2	46	64,8	0,09	0,0003****
Головокружение	29	10,6	7	7,4	0,43	22	12,0	10	14,1	0,53	0,65
Общая слабость	171	62,3	41	43,6	0,002* ***	142	77,1	50	70,4	0,26	0,001****
Обложенность языка	10	3,6	2	2,1	0,74	15	8,2	7	9,9	0,63	0,06
Першение в горле	2	0,7	2	2,1	0,27	10	5,4	1	1,4	0,30	0,005****
Тошнота	16	5,8	6	6,4	0,80	26	14,1	15	21,1	0,19	0,005****
Рвота	4	1,5	3	3,3	0,38	12	6,5	8	11,3	0,20	0,007****
Диарея	3	1,1	0	0,0	0,57	2	1,1	2	2,8	0,31	> 0,99
Боли в поясничной области	3	1,1	1	1,1	> 0,99	3	1,6	1	1,4	0,99	0,69
Боли в животе	2	0,7	0	0,0	> 0,99	1	0,5	0	0,0	0,99	> 0,99
Множественные эритемы	20	7,3	5	5,5	0,64	0	0,0	0	0,0	0,99	< 0,0001****
Регионарная лимфаденопатия	16	5,8	3	3,2	0,42	8	4,3	0	0,0	0,11	0,53
Генерализованная лимфаденопатия	0	0,0	0	0,0	> 0,99	0	0,0	1	1,4	0,28	> 0,99
Миалгии	48	17,5	16	17,0	> 0,99	57	31,0	12	16,9	0,03****	0,0001****
Артралгии	23	8,4	1	1,1	0,01** **	38	20,7	11	15,5	0,38	0,0002****
Менингеальные симптомы	0	0,0	3	3,2	0,02** **	3	1,6	10	14,1	0,0002** **	0,06
Проба Ромберга*	30	14,6	9	11,8	0,57	28	18,4	11	19,3	0,85	0,20
Нистагм**	17	8,3	2	2,6	0,11	17	10,7	8	13,1	0,64	0,28
ЧСС > 80 уд в мин	62	22,6	19	20,2	0,67	40	21,7	16	22,5	0,87	0,91
Прочие симптомы***	45	16,4	12	13,2	0,73	80	43,5	34	47,9	0,58	< 0,0001****

Примечание: * Проба Ромберга была выполнена при моноинфекции БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ – 202 и 152 пациентам, соответственно; при микст-инфекции БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ – 76 и 57 пациентам, соответственно; ** Нистагм проверялся у пациентов с моноинфекцией БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ – 205 и 159, соответственно; при микст-инфекции БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ – 77 и 61 пациентам, соответственно; *** тремор, парестезии по всему телу, неврит лицевого нерва, потливость, нарушение памяти, шум в голове и некоторые другие; **** выявлены статистически значимые отличия ($p < 0,05$).

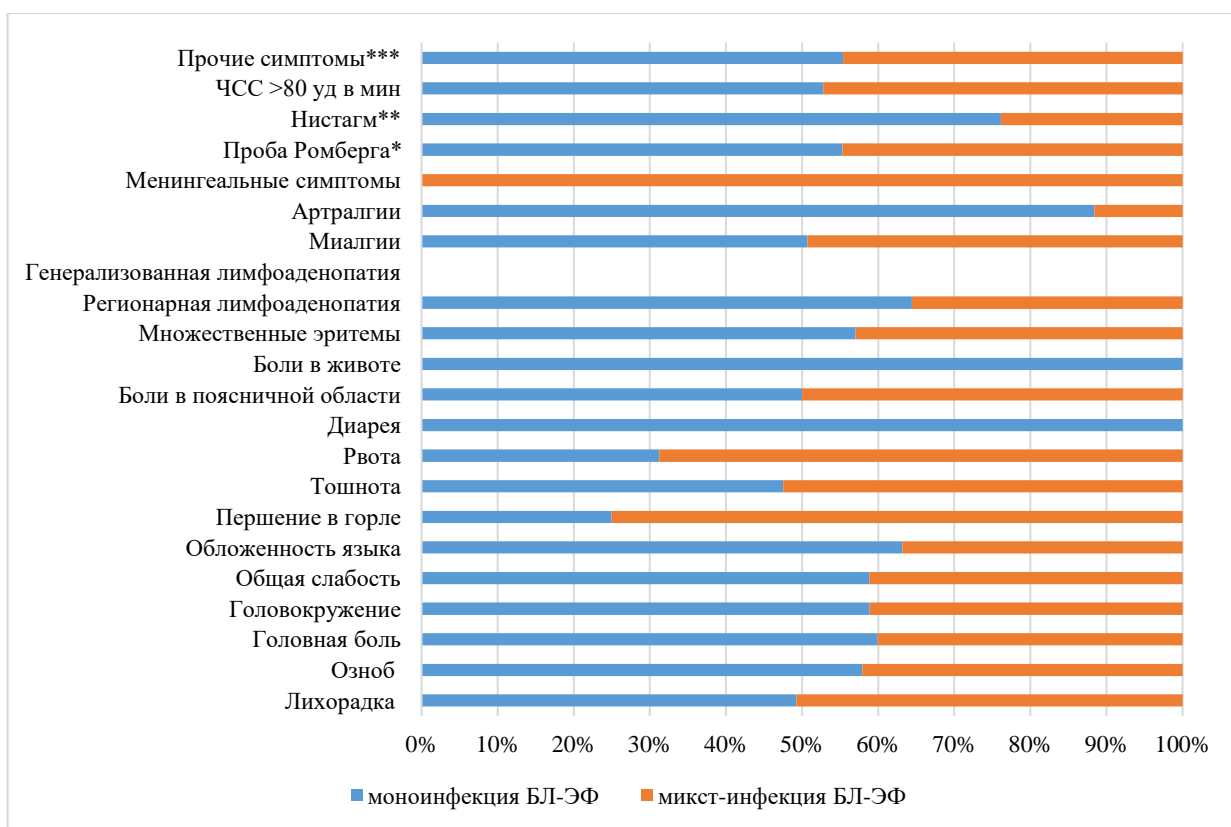


Рисунок 114 – Частота регистрации клинических симптомов у обследованных больных с моно- и микст-инфекцией БЛ-ЭФ

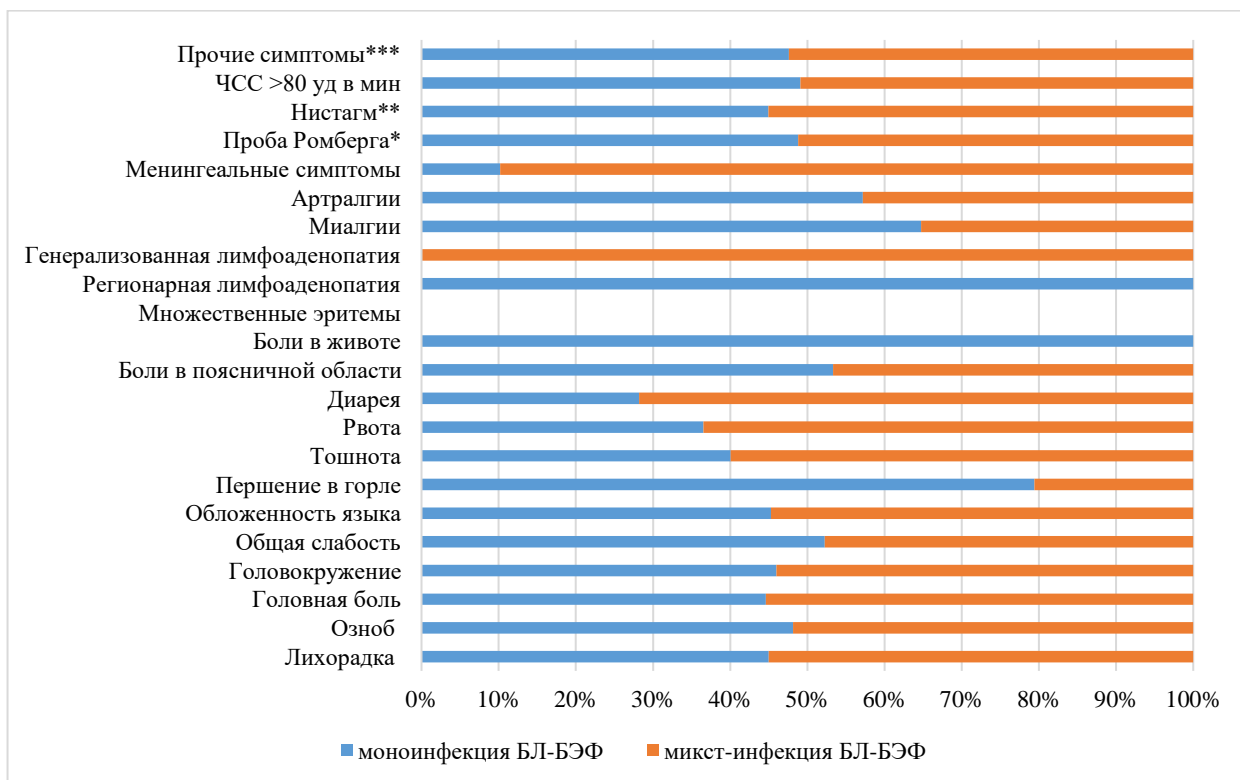


Рисунок 115 – Частота регистрации клинических симптомов у обследованных больных с моно- и микст-инфекцией БЛ-БЭФ

У всех больных исследовались общий анализ крови и мочи. У большей части больных проводился биохимический анализ крови с определением печеночных ферментов – АЛТ (86,2%, 537 человек), АСТ (28,3%, 176 человек), общего билирубина (80,6%, 502 человека), креатинина (21,3%, 133 человека), С-реактивного белка (28,3%, 176 человек) и глюкозы (87,0%, 542 человека). В крови наблюдались умеренный лейкоцитоз как в группе пациентов БЛ-ЭФ, так и в группе БЛ-БЭФ: БЛ-ЭФ – у 9,9% (33 человека), БЛ-БЭФ – 13,8% (33 человека), лейкопения: БЛ-ЭФ – у 7,5% (25 человек), БЛ-БЭФ – 10,5% (25 человек), сдвиг лейкоцитарной формулы влево: БЛ-ЭФ – у 8,1% (22 человека), БЛ-БЭФ – 10,5% (21 человек), тромбоцитопения: БЛ-ЭФ – у 7,5% (25 человек), БЛ-БЭФ – 12,7% (30 человек), повышение СОЭ (до 61 мм в час): БЛ-ЭФ – у 63,3% (197 человек), БЛ-БЭФ – 49,1% (106 человек), повышение АЛТ (до 402,3 ммоль/л): БЛ-ЭФ – у 19,8% (62 человека), БЛ-БЭФ – 18,3% (41 человек), повышение АСТ (до 297,2 ммоль/л): БЛ-ЭФ – у 45,0% (45 человека), БЛ-БЭФ – 31,6% (24 человека) (Таблица 66).

В моче отмечались изменения в группе пациентов с БЛ-ЭФ в 75,0% (223 человека), с БЛ-БЭФ – у 65,1% больных (124 человека). В группе пациентов с моноинфекцией БЛ-ЭФ в 74,7% наблюдадась гипостенурия, в 3,5% случаев – гиперстенурия, в 28,4% – лейкоцитурия, в 21,7% – протеинурия; в группе пациентов с моноинфекцией БЛ-БЭФ гипостенурия была выявлена у 61,0% пациентов, у 5,0% – гиперстенурия, лейкоцитурия – у 26,1%, протеинурия – у 28,3%.

Таблица 66 – Лабораторные показатели крови у обследованных пациентов с моно- и микст-инфекцией БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ

Показатель	Моноинфекция БЛ-ЭФ		Микст-инфекция БЛ-ЭФ		P	Моноинфекция БЛ-БЭФ		Микст-инфекция БЛ-БЭФ		P	P (моно БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ)
	абс.	%	абс.	%		абс.	%	абс.	%		
Лейкоцитоз	25	9,7	8	10,4	0,44	22	12,8	11	16,4	0,53	0,26
Лейкопения	12	4,7	13	16,9	0,0009*	19	11,1	6	9,0	0,81	0,01*
Тромбоцитопения	18	7,0	7	9,2	0,46	26	15,2	4	6,1	0,05	0,008*
Тромбоцитоз	6	2,3	2	2,6	0,69	6	3,5	1	1,5	0,68	0,38
Повышение АЛТ	45	18,6	17	23,6	0,39	33	20,3	8	13,3	0,33	0,70
Повышение АСТ	32	37,7	13	86,7	0,0005*	20	37,0	4	18,2	0,17	0,99
Повышение СОЭ	157	63,1	40	64,2	0,88	77	48,4	29	50,9	0,88	0,005*
Повышение С-реактивного белка	36	70,6	18	78,3	0,58	30	42,3	13	42,0	0,99	0,003*
Повышение общего билирубина	19	8,1	2	3,2	0,27	6	4,1	5	8,8	0,19	0,14
Повышение креатинина	0	0,0	1	4,8	0,31	1	2,1	0	0,0	0,99	0,99
Повышение глюкозы	48	19,2	19	26,4	0,19	32	19,9	12	20,3	0,99	0,89
Гранулоцитоз	19	7,4	6	7,8	0,99	16	9,4	12	17,9	0,12	0,36
Агранулоцитоз	16	6,2	3	3,9	0,58	25	14,7	5	7,5	0,26	0,004*

Продолжение Таблицы 66

Увеличение палочкоядерных нейтрофилов	18	7,6	4	12,1	0,32	20	13,3	1	2,0	0,03	0,08
Лимфоцитоз	55	21,4	11	14,3	0,19	59	34,7	15	22,7	0,19	0,002*
Лимфоцитопения	20	7,8	4	5,2	0,46	16	9,4	12	18,2	0,18	0,27
Моноцитоз	11	4,3	7	9,2	0,14	15	8,8	3	4,6	0,41	0,06
Моноцитопения	5	2,0	1	1,3	0,99	8	4,7	7	10,6	0,14	0,14

Примечание: * статистически значимые различия показателей ($p < 0,05$)

Молекулярно-генетическая характеристика боррелий комплекса B. burgdorferi s.l. В ходе исследования были выявлены 57 положительных образцов на 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi s.l.* Результаты генотипирования по межгенному спейсеру 5S-23S рРНК боррелий и гену флагеллина показали, что изоляты относятся к геновиду *B. garinii*. Расположение боррелий, выделенных из образцов крови представлены на филогенетическом древе (представлена только часть образцов по межгенному спейсеру 5S-23S рРНК) (Рисунок 116). При сравнении изолятов, выделенных в 2009-2010 гг. и 2021 г. установлено, что, по-прежнему, этиологическим агентом БЛ на территории Свердловской области является геновид *B. garinii*.

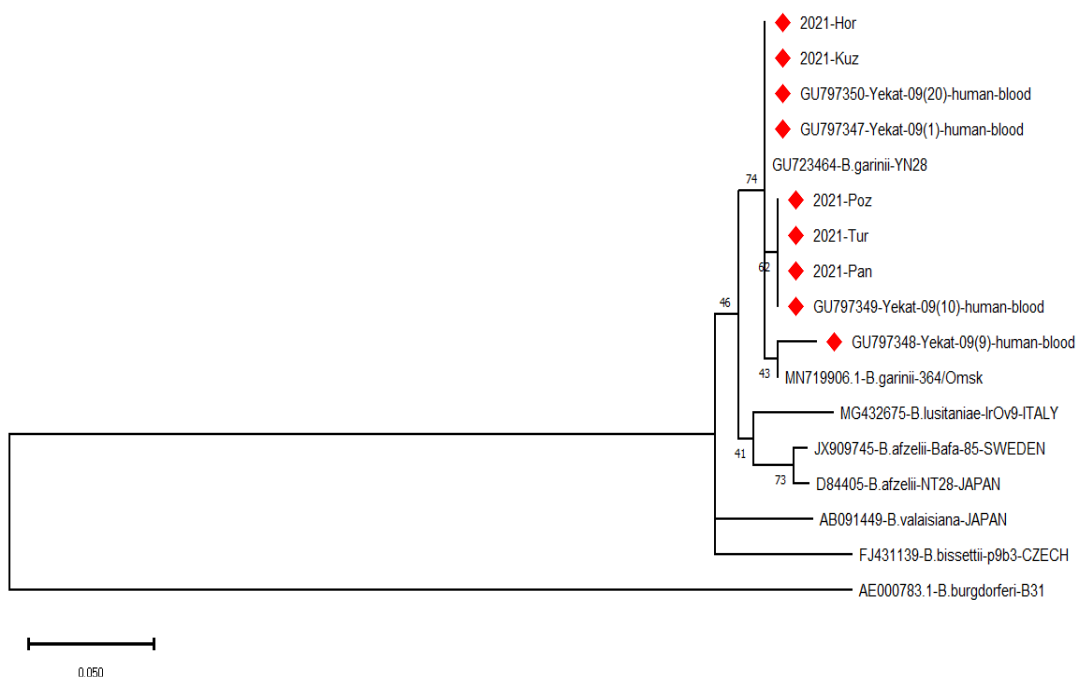


Рисунок 116 – Филогенетический анализ образцов по межгенному спейсеру 5S-23S рРНК боррелий из Свердловской области

Эволюционная история была оценена с помощью метода максимального правдоподобия и модели GTR [773]. Для представления эволюционной истории анализируемых таксонов взято бутстреп-консенсусное дерево, построенное по 100 репликам [583]. Ветви, соответствующие разделам, воспроизведенным менее чем в 50% бутстреп-реплик, свернуты. Процент реплицированных деревьев, в которых соответствующие таксоны кластеризовались вместе в бутстреп-тесте (100 реплик), показан рядом с ветвями [583]. Исходные деревья для эвристического поиска были

получены автоматически путем применения метода максимальной парсимонии. Для моделирования различий в скорости эволюции между сайтами (5 категорий (+G, параметр = 1,5448)) использовалось дискретное гамма-распределение. 15 нуклеотидных последовательностей, 224 позиции. *B. burgdorferi* B31 использована в качестве корневой. В подписях к вершинам ветвей указаны номера, депонированные в GenBank нуклеотидных последовательностей, виды (если известны), место, дата и источник изолята (кровь человека или вида клеща). Масштаб – число замен на сайт. Красными ромбами отмечены полученные в нашем исследовании нуклеотидные последовательности боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. из крови больных

Можно сделать однозначные выводы, что среди известных к настоящему времени боррелий секвенированные последовательности 5S-23S рРНК наиболее близки к 5S-23S рРНК *B. garinii*, четко группируясь с ранее известными последовательностями 5S-23S рРНК *B. garinii* из Китая и Омской области, и отличаясь примерно одинаково от других видов.

Таким образом, можно выделить следующие эпидемиологические особенности БЛ (эритемная и безэритемная формы) на территории Свердловской области. БЛ-ЭФ одинаково болеют как мужчины, так и женщины преимущественно старшей возрастной группы (60 лет и старше) ($p = 0,94$), в то время как БЛ-БЭФ – чаще женщины трудоспособного возраста (20-59 лет) ($p < 0,0001$). В большинстве случаев заражение боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. происходит за счет трансмиссивного механизма передачи (88,9%). В нашем исследовании в 66,5% случаев длительность присасывания клеща не превышала одни сутки и независимо от длительности присасывания клещей регистрировались как эритемная и, так и безэритемная формы заболевания. Оценивая длительность инкубационного периода в группе пациентов как с моно-, так и микст-инфекцией БЛ-ЭФ мы не отметили существенной разницы: при моноинфекции длительность инкубационного периода составила $11,9 \pm 7,2$ дней, при микст-инфекции – $12,7 \pm 6,9$ дней ($p = 0,24$). В группе пациентов с БЛ-БЭФ данный параметр в среднем составил $13,5 \pm 10,5$ дней: при моноинфекции – $14,2 \pm 11,1$ дней, при микст-инфекции – $11,6 \pm 9,0$ дней, т.е. при микст-инфекции инкубационный период был несколько короче, чем при моноинфекции БЛ-БЭФ и пациенты раньше обращались за медицинской помощью, однако достоверной разницы обнаружено не было ($p = 0,08$).

За изученный период большинство пациентов с эритемной формой БЛ (без общеинфекционного синдрома) находились на амбулаторном лечении. Длительность лечения БЛ-ЭФ за изученный период в условиях стационара при моно- и микст-инфекции практически не отличалась – $11,2 \pm 4,0$ дня и $11,6 \pm 4,0$ дня соответственно ($p = 0,90$). При моно- и микст-инфекции БЛ-БЭФ достоверной разницы в длительности лечения также выявлено не было: $13,0 \pm 5,3$ дня при моноинфекции и $14,6 \pm 6,6$ дня при микст-инфекции ($p = 0,55$).

Среди клинических симптомов у пациентов с БЛ-ЭФ на первое место выходил патогномичный симптом заболевания – мигрирующая эритема в месте присасывания клеща или множественные эритемы при диссеминации процесса, в то время как при БЛ-БЭФ – симптомы интоксикации: лихорадка более 38°C , головная боль, общая слабость, першение в

горле, тошнота, рвота, миалгии, артралгии, прочие симптомы. Следует отметить, что при сравнении групп моно- и микст-инфекции БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ, у пациентов с моноинфекцией БЛ-ЭФ чаще регистрировались такие симптомы как головная боль, общая слабость, артралгии, у пациентов с БЛ-БЭФ – миалгии, при этом как в группе микст-инфекции БЛ-ЭФ, так и в группе микст-инфекции БЛ-БЭФ наиболее часто наблюдались менингеальные симптомы.

В лабораторных показателях крови у больных с микст-инфекцией БЛ-ЭФ по сравнению с моноинфекцией БЛ-ЭФ достоверно чаще наблюдались лейкопения и повышение АСТ. При сравнении лабораторных показателей в группах пациентов с моноинфекцией БЛ-ЭФ и БЛ-БЭФ, у пациентов с БЛ-ЭФ чаще наблюдалось повышение СОЭ и С-реактивного белка, в то время как при БЛ-БЭФ – лейкопения, тромбоцитопения, агранулоцитоз, лимфоцитоз.

Установлено, что этиологическим агентом БЛ (эритменная и безэритменная формы) на современном этапе на территории Свердловской области является *B. garinii*.

7.3. Эпидемиологическая, клиничко-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi*, выделение и изучение клинических изолятов (штаммов)

Нами проанализирована 251 история болезни пациентов с боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi* (БМ) в возрасте от 15 до 88 лет, которые находились на стационарном лечении в ООО МО «Новая больница» (Городской центр природно-очаговых инфекций). В 2021 г. в связи с неблагоприятной эпидемиологической обстановкой по новой коронавирусной инфекцией пациенты, в зависимости от тяжести течения заболевания, могли находиться на амбулаторном лечении. Средний возраст пациентов исследуемой группы составил 54 ± 17 лет. Среди заболевших преобладали мужчины – 60,0% (148 человек), женщины составили 40,0% (103 человека) ($p < 0,0001$). Моноинфекция БМ была зарегистрирована в 82,1% случаев (206 человек), микст-инфекция в 17,9% (45 человек) (Таблица 67).

Таблица 67 – Распределение заболевших КЭ по возрасту и полу (%)

Всего	Пол		Возраст (лет)		
	мужчины	женщины	15-19	20-59	60 и старше
251 чел.	148 (60,0%)	103 (40,0%)	5 (2,0%)	133 (53,0%)	113 (45,0%)

Пациенты наиболее часто поступали в стационар с предварительными диагнозами «Острый клещевой энцефалит» (34,7%, 87 пациентов), «Вирусная лихорадка, передаваемая

членистоногими» (25,1%, 63 пациента), реже – «Болезнь Лайма», «Острая респираторная вирусная инфекция», «Пневмония», «Пиелонефрит».

Диагноз «Боррелиоз, вызываемый *Borrelia miyamotoi*» ставился на основании обнаружения ДНК *B. miyamotoi* в лейкоцитарной фракции крови и плазме методом ПЦР, серологического исследования сывороток крови методом ИФА с использованием стандартных тест-систем для серологической диагностики БЛ. Дополнительно в 2011 г. проводилась микроскопия окрашенных мазков крови на наличие боррелий (*Borrelia miyamotoi*). Для проведения ПЦР кровь забиралась в вакутейнеры с ЭДТА в первые 1-2 суток поступления пациента в стационар, как правило, на пике лихорадки. С 2015 г. в ходе работы проводилась апробация разработанного планарного белкового биочипа для серологической дифференциальной диагностики БМ и БЛ, основанного на выявлении специфичных для возвратных лихорадок антител к антигенам glpQ и Vmp, и спектру антигенов к возбудителям БЛ – OspC, VlsE, p100, p39, p41, ВВК32, p17. Диагностическая специфичность и чувствительность ПЦР-диагностики в период разгара болезни составила 100%, чувствительность ИФА с применением стандартных тест-систем – 34,3% (86 человека) для IgM и 11,2% (28 человек) – для IgG, чувствительность биочипа составила 60,6% – для IgM и 56,8% – для IgG. Результат считался положительным при исследовании сывороток крови методом биочипа в случае выявления IgM и IgG к антигену glpQ и одному из антигенов – Vmp, p41, p39, ВВК32. С целью изучения динамики и выбора оптимальных сроков взятия крови для исследования биоматериала от пациентов методом ПЦР, у 22 больных кровь забиралась до тех пор, пока ДНК возбудителя уже не определялась (до 6-го дня). Серологическая диагностика методом ИФА и биочипа проводилась как минимум в начале заболевания (1-2 день поступления пациента в стационар) и перед выпиской (как правило, на 10-14 дни). С целью оценки гуморального иммунитета к *B. miyamotoi* у 37 реконвалесцентов кровь забиралась в динамике – через 1 мес, 3 мес, 6 мес, 9 мес после лечения в стационаре. О специфической лабораторной диагностике БМ будет подробно сказано в главе 8 диссертационного исследования.

В период 2015-2018 гг. была предпринята попытка выделить клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*. Нам впервые в мире удалось выделить 24 клинических изолята возбудителя.

Таким образом, диагноз БМ ставился на основании ПЦР-исследования – обнаружение ДНК *B. miyamotoi* в плазме крови (лейкоцитарная фракция). Поскольку стандартные ИФА тест-системы могут выявлять, обладая перекрестной реакцией, а могут и не выявлять антитела к *B. miyamotoi*, данный метод использовался в качестве дополнительного к методу ПЦР-РРВ. К настоящему времени алгоритм диагностики данного заболевания не разработан.

У всех больных диагноз был подтвержден на основании эпидемиологических, клинико-лабораторных и специфических лабораторных методов исследования (ПЦР и серологических исследований парных сывороток крови) (Таблица 68).

Таблица 68 – Пациенты с боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi* в виде моно- и микст-инфекции

Моно- и микст-инфекция БМ	Количество	%
БМ	206	82,7
БМ+ГАЧ	5	2,0
БМ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,4
БМ+БЛ-ЭФ	12	4,8
БМ+БЛ-ЭФ+ГАЧ	2	0,8
БМ+КЭ	22	8,8
БМ+КЭ+ГАЧ	1	0,4
БМ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	53	21,1
БМ+КЭ+БЛ-БЭФ+ГАЧ	1	0,4

Больные с БМ наиболее часто поступали в ООО МО «Новая больница» с предварительным диагнозом «Острый клещевой энцефалит, лихорадочная форма» (29,5%, 74 человека), с диагнозом «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими» (25,1%, 63 человека), «Болезнь Лайма, безэритемная форма» (5,6%, 14 человек) и другие диагнозы: «Коронавирусная инфекция», «Пиелонефрит», «Дисциркуляторная энцефалопатия», «Острый клещевой энцефалит, стертая форма», «Пневмония».

Данные эпидемиологического анамнеза позволили построить картограмму мест инфицирования *B. miyamotoi*. Более трети случаев инфицирования было зарегистрировано в подзоне южной предгорной и равнинной тайги в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга (92 случая заболевания, 36,7%). Эта территория стоит на первом месте по эпидемиологической значимости как для заражения вирусом КЭ, так и возбудителями БЛ (Таблица 69, Рисунок 117).

Таблица 69 – Подзоны и районы Свердловской области с количеством случаев заболевания БМ

Лесная зона		
Подзона южной предгорной и равнинной тайги Включает 18 районов	Асбестовский	1
	Алапаевский	2
	Артемовский	1
	Березовский	12
	Белоярский	29
	Верхнепышминский	14
	Верхнесалдинский	0
	Верхотурский	0
	г. Екатеринбург и его окрестности	92
	г. Заречный	0
	Красноуральский	0
	Нижнетуринский, г. Качканар	1
	Невьянский	0
	Режевской	2
	Сысертский	12
	Таборинский	0
Тавдинский	0	
Туринский	0	
Подзона смешанных широколиственных и хвойных лесов Включает 1 район	Красноуфимский	1
Подзона южной горной тайги Включает 9 районов	Кировоградский	0
	Кушвинский	0
	Нижнесергинский (Бисерть)	13
	Первоуральский	9
	Пригородный	0
	Ревдинский	2
	Нижний Тагил	3
	Полевской	9
	Шалинский	1
Подзона сосново-березовых лесов Включает 9 районов	Байкаловский	0
	Богдановичский	8
	Ирбитский	2
	Камышловский	1
	Пышминский	0
	Слободотуринский	0
	Сухоложский	1
	Талицкий	1
Тугулымский	0	
Подзона средней предгорной и равнинной тайги Включает 7 районов	Ивдельский	0
	Гаринский	0
	Серовский	0
	Североуральский	0
	Карпинский	0
	Красноуральский	0
	Новолялинский	6
Лесостепная зона		
Лесостепь Предуралья Включает 2 района	Артинский	0
	Ачитский	0
Лесостепь Зауралья Включает 1 район	Каменский	8

В ходе исследования некоторые жители Свердловской области были инфицированы *B. miyatotoi* за пределами области: Республика Башкортостан – 3 случая, Кировская область – 1 случай, Курганская область – 2 случая, Пермский край – 3 случаев, Челябинская область – 11 случаев.

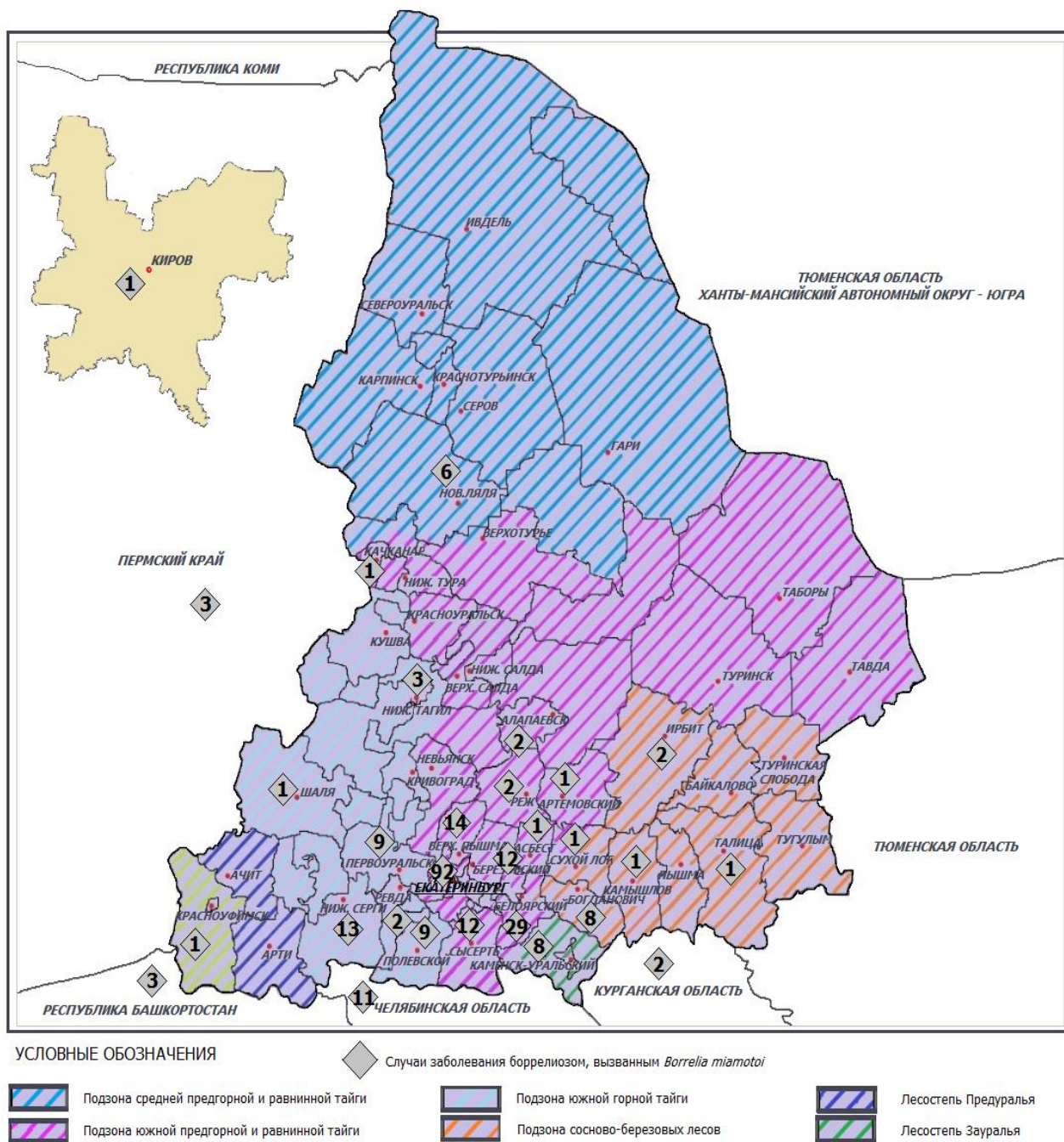


Рисунок 117 – Распределение мест заражения *B. miyatotoi* на территории Свердловской области и за ее пределами (предполагаемое место заражения выделено ромбом)

Наибольшее число случаев заражения *B. miyatotoi* было связано с работой или отдыхом на садовом/дачном участке – в 39,4% случаев (99 человек) и при посещении леса с различными

целями – 38,6% случаев (97 человек), в 22,0% случаев (55 человек) заражение *B. miyamotoi* произошло при посещении городской лесопарковой зоны.

При сборе эпидемиологического анамнеза у пациентов исследуемой группы было выяснено, что факт присасывания клеща отмечали 96,0% заболевших (241 человек). Необходимо отметить, что 4,0% (10 человек) всех заболевших отрицали факт присасывания клеща. Однако пациенты стряхивали клещей с одежды или кожи, снимали с людей или домашних животных, посещали лес или садово-огородные участки.

При анализе мест локализации присасывания клещей на теле было выявлено, что наиболее часто присасывание отмечалось в области нижних конечностей – 19,5% (47 человек), верхних конечностей – 17,4% (42 человека), живота – 16,2% (39 человек) и грудной клетки – 13,7% (33 случая) (Рисунок 118).

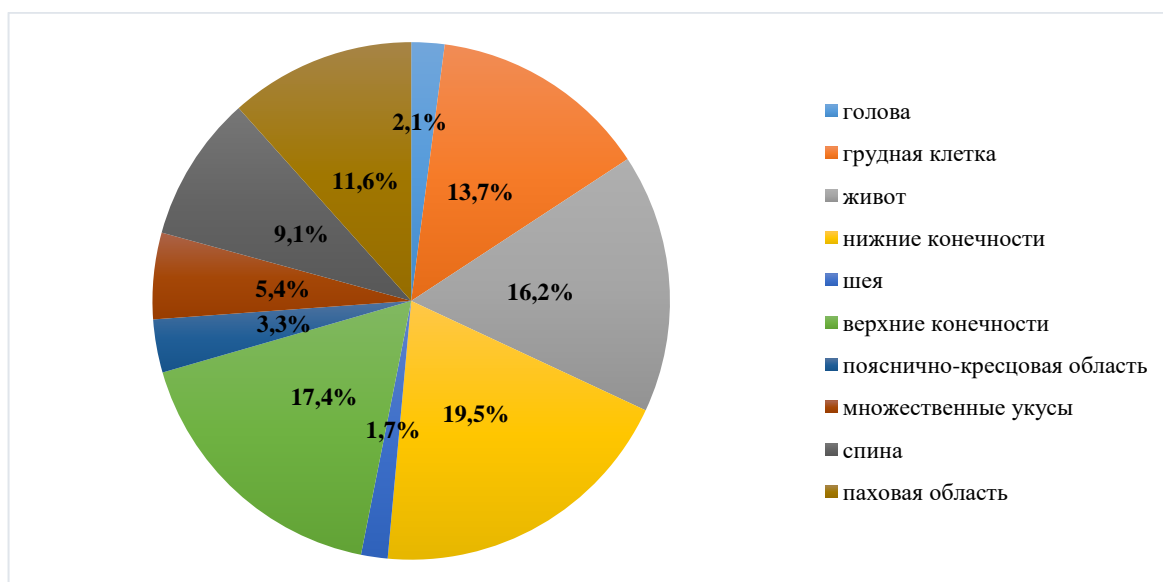


Рисунок 118 – Локализация мест присасывания клещей на теле заболевших БЛ на территории Свердловской области за изученный период

При анализе эпидемиологических данных было выявлено, что только 8,0% пациентов (20 человек) исследовали клеща (или клещей при многократном присасывании) на 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. методом ПЦР. 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в исследованных клещах была выявлена в 65% случаев (13 образцов). В связи с тем, что в настоящее время нет настороженности врачей в отношении боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* и, несмотря на то, что патогенность этого микроорганизма доказана [644] в развитии безэритемных форм боррелиоза, на сегодняшний день исследование клещей методом ПЦР, по-прежнему, проводится не более, чем на 4 возбудителя – вирус КЭ, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/ *E. muris*, но не на *B. miyamotoi*. Тест-система на основе ПЦР-РПВ

для выявления ДНК *B. miyamotoi* в клещах и клиническом материале, разработанная нами, как было сказано в главе 5 зарегистрирована (регистрационное удостоверение № РЗН/7316 от 11.04.2019 г., производитель ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). Наибольшее количество ПЦР-исследований было проведено в 2016-2018 и 2021 гг., что может быть связано с большей доступностью ПЦР тест-системы на 4 инфекции в связи с ее регистрацией, а также проведением санпросветработы среди населения о том, что клещи помимо вируса КЭ являются еще переносчиками возбудителей наиболее распространенного в России заболевания – БЛ. О боррелиозе, вызываемом *B. miyamotoi* в настоящее время есть настороженность только среди клиницистов тех больниц, где проводились или проводятся проспективные и ретроспективные исследования в отношении данного возбудителя безэритемной формы боррелиоза. Наиболее расширенные исследования проведены в Свердловской области [113; 644], в Удмуртской Республике [260], Новосибирской области [254]. Антибиотикопрофилактику в нашем исследовании (флемоксин, панцеф) получили только 2 пациента (0,8%), при этом данным пациентам исследование клещей на бактериальные патогены не проводилось.

Диспансерное наблюдение за реконвалесцентами с БМ с целью оценки динамики IgM и IgG в сыворотке крови методом планарного белкового биочипа осуществлялось по следующей схеме – 1, 3, 6, 9 месяцев после перенесенного заболевания. На протяжении 9 месяцев под диспансерным наблюдением находились 22 человека, 6 мес. – 30 человек, 3 мес. и 1 мес. – по 36 человек. Серологическое обследование проводилось с целью изучения динамики антител при новом боррелиозе. Результаты серологической диагностики БМ будут представлены в главе 8 диссертационного исследования.

При анализе фактора риска инфицирования – длительности присасывания клеща – в 72,5% случаев (182 человека) длительность присасывания клеща не превышала 1 сутки, в 19,1% случаев (48 человек) – не более 2 суток, в 4,8% (12 человек) – не более 3 суток, в 1,2% случаев (3 человека) – не более 4 суток, в 0,8% случаев (2 человека) – 5 суток, в 1,2% (3 человека) – 6 суток, в 0,4% (1 человек) – 7 суток (Таблица 70).

Таблица 70 – Длительность присасывания клеща при БМ

Длительность присасывания клеща	Количество пациентов с БМ	
	абс.	%
1-е сутки	182	72,5
2-е сутки	48	19,1
3-и сутки	12	4,8
4-е сутки	3	1,2
5-е сутки	2	0,8
6-е сутки	3	1,2
7-е сутки	1	0,4

Длительность инкубационного периода в группе пациентов с БМ колебалась от 2 до 45 суток, в среднем $15,4 \pm 6,1$ дней: при моноинфекции медиана составила $15,7 \pm 5,7$ дней (от 2 до 45 дней), при микст-инфекции – $14,1 \pm 7,7$ дней (от 2 до 32 дней), что статистически достоверно ($p = 0,02$). Данные о продолжительности инкубационного периода БМ приведены в Таблице 71 и на Рисунках 119 и 120.

Таблица 71 – Продолжительность инкубационного периода при моно- и микст-инфекции БМ

Количество дней от момента присасывания клеща до начала болезни																																		
БМ (моно- и микст-)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	28	29	30	31	32	34	45	P
моно-	0	2	1	1	1	1	3	4	7	9	9	11	13	15	21	27	19	20	6	6	7	3	6	1	1	1	2	2	1	0	0	1	2	0,02
микст-	0	2	0	2	3	0	2	0	2	3	6	3	4	2	0	2	0	3	2	1	1	0	1	2	0	0	0	1	0	1	2	0	0	

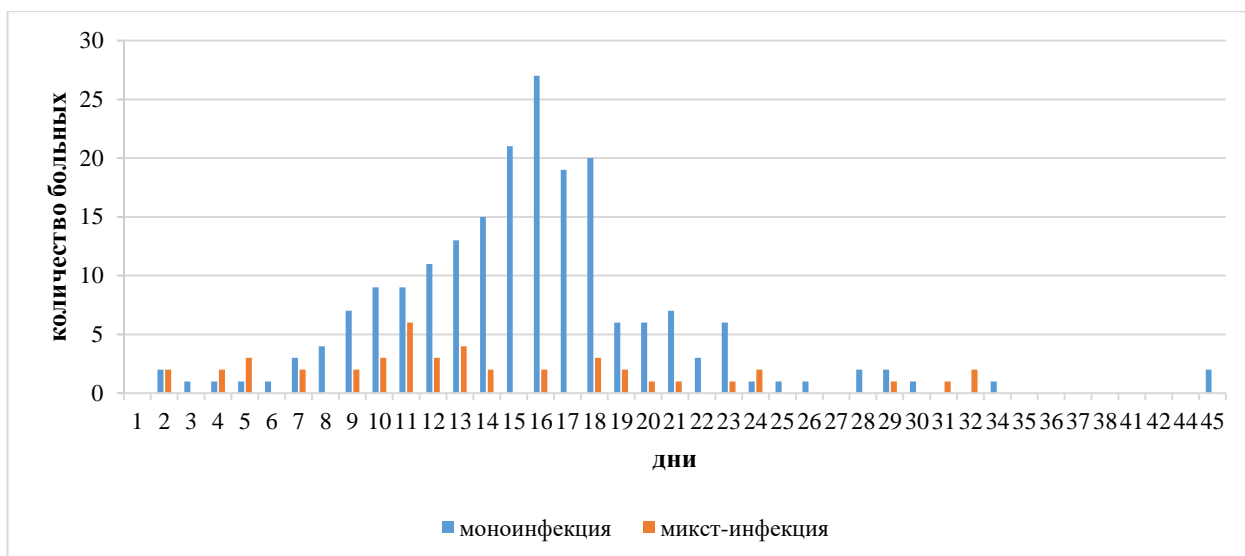
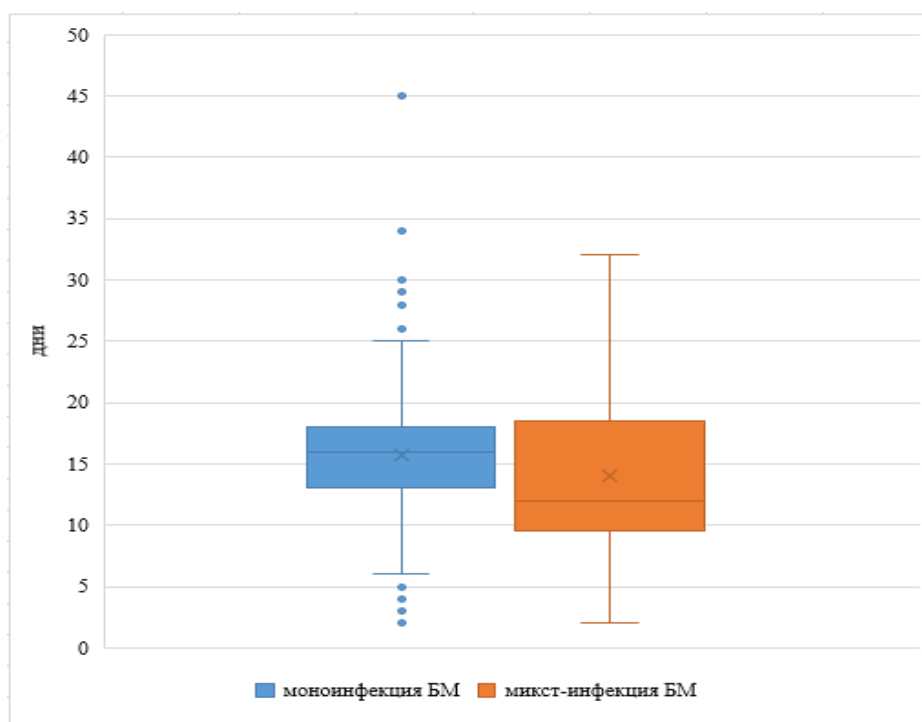


Рисунок 119 – Продолжительность инкубационного периода при моно- и микст-инфекции БМ у обследованных больных



Показаны медианы, нижние и верхние квартили, минимальные и максимальные значения. Медианные значения инкубационного периода: 16 дней для моно- и 12 дней для микст-инфекции. Тест Манна-Уитни ($p = 0,02$) указывает, что различие статистически достоверно.

Рисунок 120 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных БМ с моно- и микст-инфекциями

В 2021 г. в связи с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по новой коронавирусной инфекции, пациенты с нетяжелым течением заболевания находились на амбулаторном лечении, некоторые пациенты сами отказывались от госпитализации.

Длительность лечения БМ в условиях стационара колебалась от 1 суток до 31 дня, в среднем $13,6 \pm 4,0$. При моноинфекции сроки лечения составили в среднем $13,7 \pm 4,3$ дня (от 1 до 31 дня), при микст-инфекции – $13,1 \pm 2,8$ дня (от 1 до 24 дня) ($p = 0,62$).

Клинико-лабораторные проявления боррелиоза, вызываемого B. miyamotoi. В нашем исследовании в группе пациентов с БМ в 97,2% случаях (244 человека) заболевание начиналось остро с подъема температуры до субфебрильных $37,0-37,9^{\circ}\text{C}$ (7,6%, 19 человек) и фебрильных значений $38,0-40,2^{\circ}\text{C}$ (89,6%, 225 человек). В группе пациентов с моноинфекцией БМ частота острого начала заболевания составила 97,6% (201 человек), в группе пациентов с микст-инфекцией 43 человек (95,6%). С моноинфекцией БМ температура повышалась до субфебрильных значений в 6,8% (14 человек) и фебрильных цифр $38,0-40,0^{\circ}\text{C}$ в 90,1% (187 человек); с микст-инфекцией БМ: до субфебрильных $37,0-37,9^{\circ}\text{C}$ (11,1%, 5 человек) и фебрильных цифр $38,0-40,4^{\circ}\text{C}$ (84,4%, 38 человек).

Длительность лихорадочного периода в группе пациентов с БМ колебалась от 1 до 8 дней, в среднем $3,2 \pm 1,1$ дня: при моноинфекции – $3,3 \pm 1,1$ (от 1 до 8 дней), при микст-инфекции – $2,9 \pm 0,9$ (от 1 до 5 дней) ($p = 0,01$).

Лихорадка с ознобом была отмечена в 33,1% случаев (у 83 пациентов): с моноинфекцией БМ – 36,4% (75 человек), с микст-инфекцией – 17,8% (8 человек). Более, чем половина пациентов с БМ (70,5%, 177 человек) жаловались на головную боль: при моноинфекции БМ – в 72,8% (150 человек), при микст-инфекции БМ – в 60,0% (27 человек). Головокружение встречалось в 17,9% случаев (у 45 пациентов): при моноинфекции БМ – в 17,0% (35 человек), при микст-инфекции БМ – в 22,2% (10 человек). Слабость отмечали 90,0% пациентов (у 226 больных): при моноинфекции БМ – 90,8% (187 человек), при микст-инфекции БМ – 86,6% (39 человек). Частота регистрации клинических симптомов представлена в Таблице 72, на Рисунке 121.

Таблица 72 – Частота регистрации клинических симптомов при моно- и микст-инфекции БМ

Симптом заболевания	БМ (количество – 251)				P
	моно- 206		микст- 45		
	абс.	%	абс.	%	
Лихорадка (38°C и более)	201	97,6	43	95,6	0,61
Озноб	75	36,4	8	17,8	0,02*****
Головная боль	150	72,8	17	37,8	< 0,0001*****
Головокружение	35	17,0	10	22,2	0,40
Общая слабость	187	90,8	17	37,8	< 0,0001*****
Обложенность языка	49	23,8	8	17,8	0,44
Першение в горле	8	3,9	1	2,2	> 0,99
Тошнота	50	24,3	10	22,2	0,85
Рвота	21	10,2	7	15,6	0,30
Диарея	2	1,0	0	0,0	> 0,99
Боли в поясничной области	5	2,4	0	0,0	0,59

Продолжение Таблицы 72

Боли в животе	3	1,5	0	0,0	> 0,99
Эритема*	0	0,0	14	31,1	< 0,0001*****
Регионарная лимфаденопатия	2	1,0	1	2,2	0,45
Генерализованная лимфаденопатия	1	0,5	0	0,0	> 0,99
Миалгии	88	42,7	14	31,1	0,40
Артралгии	20	9,7	3	6,7	0,78
Менингеальные симптомы	7	3,4	4	8,9	0,11
Проба Ромберга**	23	21,5	5	21,7	> 0,99
Нистагм***	9	8,0	1	4,3	> 0,99
ЧСС > 80 уд в мин	118	57,3	20	44,4	0,14
Прочие симптомы****	50	24,3	13	28,9	0,57

Примечание: *Эритема была зарегистрирована в случае микст-инфекции с БЛ-ЭФ; ** Проба Ромберга была выполнена 107 пациентам при моноинфекции и 23 – при микст-инфекции; *** Нистагм проверялся у 112 человек при моноинфекции и 23 – при микст-инфекции; **** Прочие симптомы включали – тремор, нечеткость зрения, шаткость, потливость, боль в глазных яблоках и некоторые другие; ***** выявлены статистически значимые отличия ($p < 0,05$).

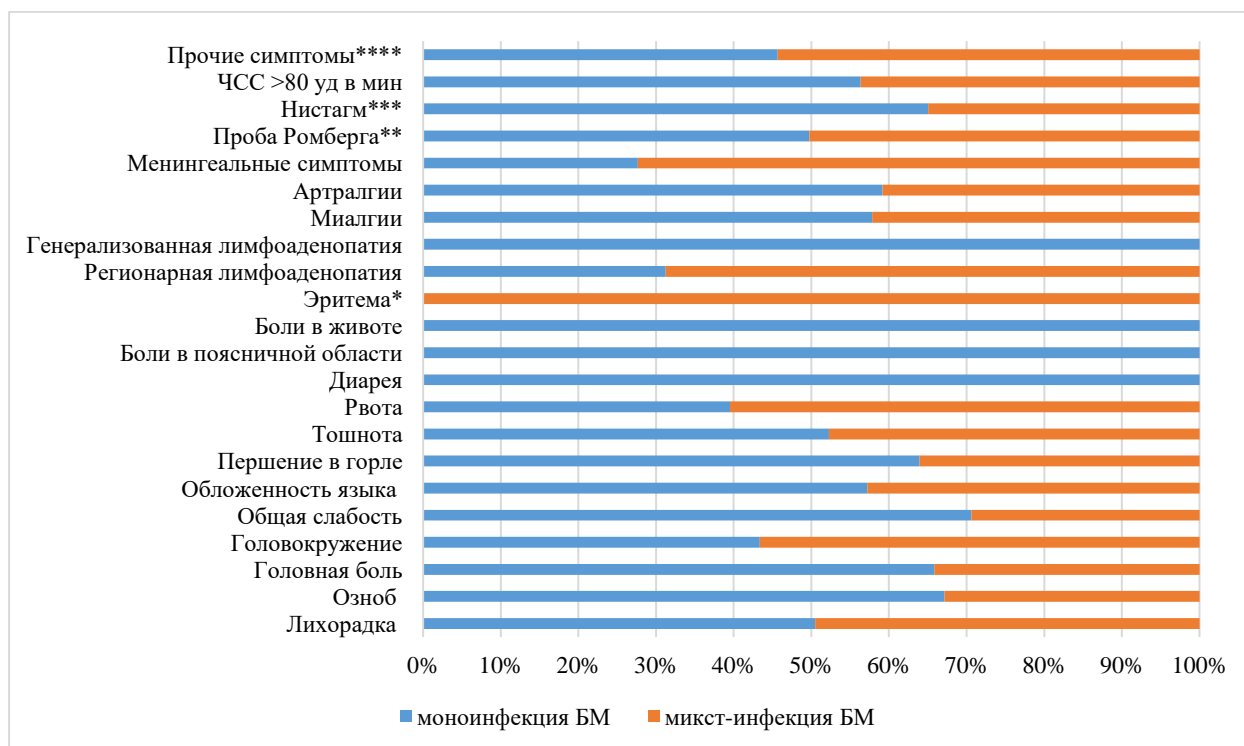


Рисунок 121 – Частота регистрации клинических симптомов у больных с моно- и микст-инфекцией БМ

У всех больных исследовались общий анализ крови и мочи. У большей части больных проводился биохимический анализ крови с определением уровня печеночных ферментов – АЛТ (96,0%, 241 человек), АСТ (55,4%, 139 человек), общего билирубина (92,0%, 231 человек), креатинина (28,3%, 71 человека), С-реактивного белка (41,8%, 105 человек) и глюкозы (94,0%,

236 человек). В крови наблюдались умеренный лейкоцитоз у 4,4% пациентов (11 человек), лейкопения в 33,7% случаев (84 человека), сдвиг лейкоцитарной формулы влево в 37,0% (84 человек), тромбоцитопения в 42,5% (104 человека), повышение СОЭ (до 60 мм в час) в 52,4% (121 человек), повышение АЛТ (до 354,0 ммоль/л) в 51,5% (124 человек), повышение АСТ (до 326 ммоль/л) в 69,8% случаев (97 человек) (Таблица 73).

В моче отмечались изменения у 68,8% больных (142 человека). У больных с моноинфекцией БМ были гипостенурия (67,9%), лейкоцитурия (31,7%), протеинурия (63,0%). СМЖ не исследовалась, т.к. не было показаний для проведения люмбальной пункции.

Таблица 73 – Лабораторные показатели у обследованных пациентов с моно- и микст-инфекцией БМ

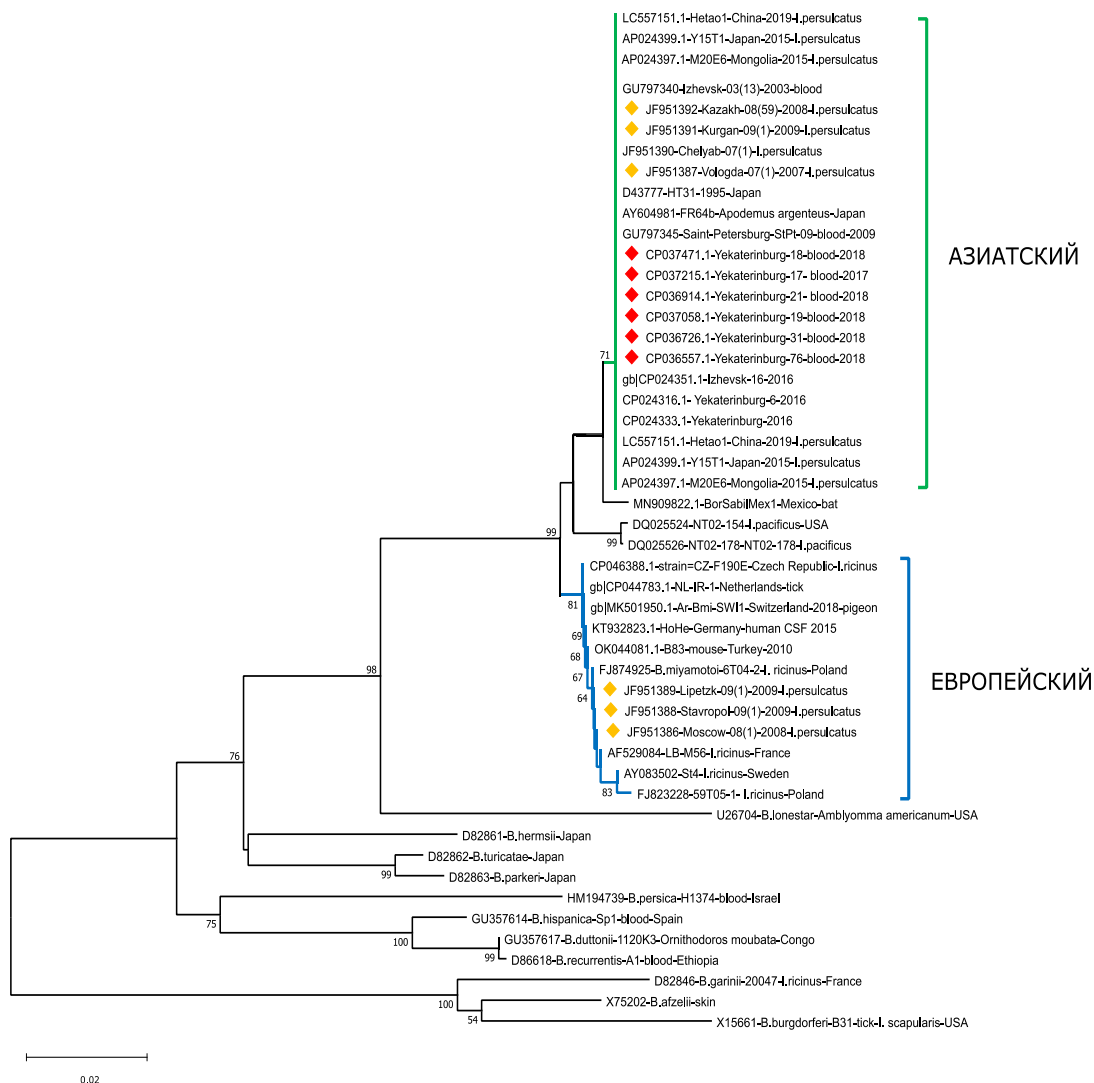
Показатель	Моноинфекция БМ		Микст-инфекция БМ		P
	абс.	%	абс.	%	
Лейкоцитоз	8	3,9	3	6,8	0,45
Лейкопения	72	35,1	12	27,3	0,47
Тромбоцитопения	95	46,8	9	21,4	0,003*
Тромбоцитоз	0	0,0	0	0,0	0,99
Повышение АЛТ	108	53,5	16	41,0	0,17
Повышение АСТ	81	69,8	16	69,6	0,99
Повышение СОЭ	100	52,6	21	51,2	0,99
Повышение С-реактивного белка	87	98,9	16	94,1	0,30
Повышение общего билирубина	25	12,8	0	0,0	0,02*
Повышение креатинина	5	8,9	2	13,3	0,63
Повышение глюкозы	68	34,2	8	21,6	0,18
Гранулоцитоз	51	25,1	10	22,7	0,84
Агранулоцитоз	25	12,3	6	13,6	0,80
Увеличение палочкоядерных нейтрофилов	73	38,4	11	29,7	0,36
Лимфоцитоз	23	11,3	8	18,6	0,33
Лимфоцитопения	74	36,3	11	25,6	0,35
Моноцитоз	22	10,8	6	14,0	0,61
Моноцитопения	27	13,3	3	7,0	0,43

Примечание: * статистически значимые различия показателей ($p < 0,05$).

Молекулярно-генетическая характеристика БМ. В ходе исследования был выявлен 251 положительный образец ДНК *V. miyamotoi*. В период 2015-2018 гг. были выделены 24 клинических изолята (штамма) *V. miyamotoi* из крови пациентов из Свердловской области с подтвержденным методом ПЦР результатом анализа на ДНК возбудителя, из них секвенировано 8 штаммов, все они отнесены к азиатскому генотипу (Таблица 74, Рисунки 122 и 123).

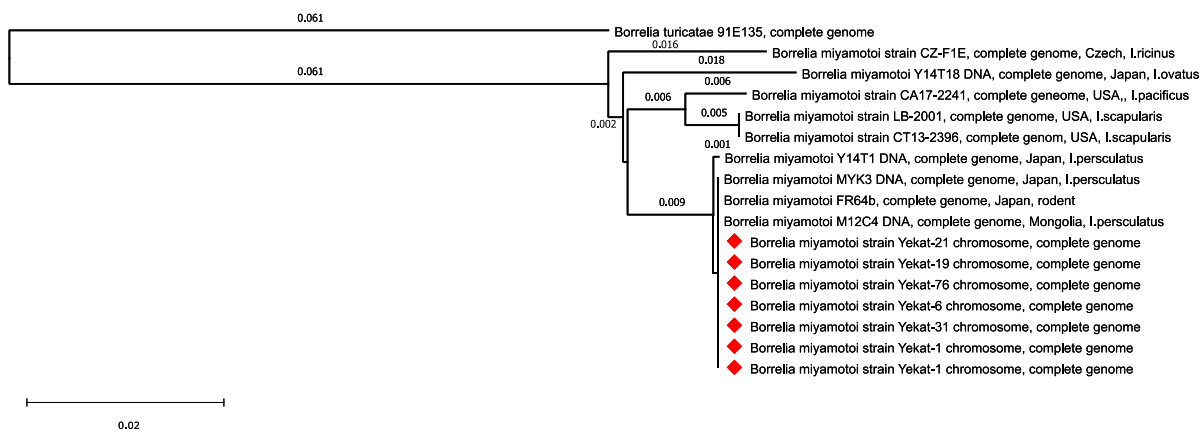
Таблица 74 – Изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*, выделенные из крови пациентов

Год выделения	Название штамма	Секвенирование нуклеотидной последовательности (полный геном или ген)	Номер в GenBank
2018	Yekat-19	Plasmid Ip72	NZ_CP37059.1
		Chromosome	NZ_CP37058.1
2018	Yekat-21	Plasmid Ip72	NZ_CP036915.1
		Chromosome	NZ_CP036914.1
2018	Yekat-76	Plasmid Ip72	NZ_CP036558.1
		Chromosome	NZ_CP036557.1
2017	Yekat-17	Plasmid Ip72	NZ_CP037216.1
		Chromosome	NZ_CP037215.1
2018	Yekat-31	Plasmid Ip72	NZ_CP036727.1
		Chromosome	NZ_CP036726.1
2016	Yekat-1	Plasmid pYkt1-Ip6	CP024350.1
		Plasmid pYkt1-Ip41	CP024336.1
		Plasmid pYkt1-Ip72	CP024334.1
		Chromosome	CP024333.1
2016	Yekat-6	Plasmid pYkt6-Ip6	CP024332.1
		Plasmid pYkt6-Ip41	CP024320.1
		Plasmid pYkt6-Ip23	CP024319.1
		Plasmid pYkt6-Ip72	CP024317.1
		Chromosome	CP024316.1
2018	Yekat-18	Plasmid Ip72	CP037472.1
		Chromosome	CP037471.1



Филогенетический анализ образцов ДНК флагеллина боррелий. Эволюционная история была определена с помощью метода максимального правдоподобия и модели GTR [750]. Показано дерево с наибольшим логарифмическим правдоподобием (-4334,91). Исходное дерево (деревья) для эвристического поиска было получено автоматически с помощью метода максимальной парсимонии. Для моделирования различий в скорости эволюции между сайтами (5 категорий (+G, параметр = 0,4232)) использовалось дискретное гамма-распределение. 31 нуклеотидная последовательность, 1464 позиции. Масштаб - число замен на сайт, менее 0.01 не показано. *B. burgdorferi* B31 выбрана в качестве корня. В подписях к верхушкам ветвей указаны номера, депонированные в GenBank нуклеотидных последовательностей, виды боррелий (если известны ранее), место сбора, дата и источник изолята (кровь человека или вида клеща). Ромбами отмечены секвенированные в нашем исследовании последовательности уникальных изолятов: красные ромбы – изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*, полученные из клинических образцов, желто-коричневые ромбики – клещи. Зеленый цвет – азиатский генотип, голубой – европейский.

Рисунок 122 – Филогенетический анализ образцов ДНК флагеллина боррелий



Использованы последовательности изолятов (штаммов) *B. miyamotoi*, полученные из клинических образцов крови от пациентов из г. Екатеринбурга (отмечены красными ромбами) и представители полноразмерных последовательностей *B. miyamotoi* из разных стран. Эволюционные дистанции 0,00 не показаны. Древо построено с использованием метода Fast Minimum Evolution с встроенными параметрами NCBI.

Рисунок 123 – Филогенетическое древо, построенное на основе полноразмерных хромосом

Выделенные изоляты *B. miyamotoi* также были подвергнуты полногеномному секвенированию. Оказалось, что последовательности их хромосом на 100% идентичны друг другу (Yekat-1, Yekat-6, Yekat-18, Yekat-19, Yekat-21, 7 Yekat-76). Эти секвенсы были использованы японскими исследователями для сравнения с их собственными изолятами из Японии и Монголии, идентичность которых с екатеринбургскими составляет 99,99%. Ими был сделан совершенно правильный вывод о том, что разновидности *B. miyamotoi* приспосабливаются к определенным видам клещей и заполняют ареал распространения каждого вида клещей глобально [906].

Чувствительность клинических изолятов B. miyamotoi к антибактериальным препаратам в системе in vitro. К настоящему времени не разработаны алгоритмы лечения боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*. В лечении заболевания исследователи придерживаются рекомендаций CDC для лечения локализованной формы БЛ [260]. Учитывая, что нам впервые в мире удалось выделить клинические изоляты *B. miyamotoi* из крови пациентов в Свердловской области, для оценки эффективности этиотропных препаратов, которые применяются при БЛ, нами было проведено изучение чувствительности на примере двух клинических изолятов *B. miyamotoi* (Yekat-1 – номер в GeneBank CP024333.1 и Yekat-6 – номер в GeneBank CP024316.1) *in vitro* к ряду антибиотиков – доксициклину, азитромицину, амоксициллину, цефтриаксону [667].

Чувствительность штаммов *B. miyamotoi* к антибактериальным препаратам определяли, как колориметрическим МИК (МИКк), так и микроскопическим МИК (МИКм) методами для каждого штамма (Таблица 75). Значения МИКк были равны или в пределах 2 разведений (2-

кратных значений) МИКм. Клинические изоляты *B. miyamotoi* показали сходную чувствительность к цефтриаксону и азитромицину по сравнению со штаммами *B. burgdorferi* s.l. (контрольный штамм *B. afzelii*), *B. hermsii* – возбудитель возвратных лихорадок (контрольный штамм HS1) и контрольным штаммом *B. miyamotoi* – НТ31, выделенным из клеща (Таблица 75).

Чувствительность к доксициклину была одинаковой (в пределах 2 разведений) для штамма HS1 *B. hermsii*, штамма НТ31 *B. miyamotoi* и клинических изолятов Yekat-1 и Yekat-6 *B. miyamotoi*. Диапазон МИКм колебался от 0,0625 до 0,25 мг/л. Однако значения МИКм всех протестированных штаммов (HS1, НТ31, Yekat-1, Yekat-6), были значительно ниже ($p = 0,03$), чем у контрольного штамма *B. afzelii* (Таблица 75). Интересно, что значения МИКм амоксициллина для штаммов HS1, НТ31, Yekat-1, Yekat-6 были значительно выше клинической контрольной точки резистентности (≤ 4 мг/л, согласно клиническим рекомендациям Института лабораторных стандартов (CLSI)) [448; 936]. Значение МИКм контрольного штамма *B. afzelii* составило 4 мг/л, что было значительно ниже ($p = 0,03$), чем значения МИКм для штаммов HS1, НТ31, Yekat-1, Yekat-6 (Таблица 75). Подобное различие также наблюдалось в колориметрических анализах, позволяющих оценить чувствительность к антибиотикам контрольного штамма *B. afzelii* по сравнению со штаммом HS1 *B. hermsii* и клиническими изолятами *B. miyamotoi* из Свердловской области (Yekat-1 и Yekat-6).

Таблица 75 – Чувствительность изолятов (штаммов) *B. miyamotoi* к антибактериальным препаратам

Антибиотики	Диапазон МИК (мг/л)					
	тип МИК	контрольный штамм <i>B. afzelii</i>	контрольный штамм HS1 <i>B. hermsii</i>	контрольный штамм НТ31 <i>B. miyamotoi</i>	Yekat-1	Yekat-6
Амоксициллин	МИКк	4	8	8	16	16
	МИКм	4	8-16	16	16	16
Доксициклин	МИКк	4	0,25	0,125	0,125	0,125
	МИКм	4	0,25	0,0625	0,25	0,25
Цефтриаксон	МИКк	0,125	0,06	0,03	0,06	0,06
	МИКм	0,125	0,125	0,03	0,03-0,06	0,03-0,06
Азитромицин	МИКк	0,0032	0,0032	не достигнут	0,0032	0,0032
	МИКм	0,0064	0,0064	0,0032-0,0064	0,0032	0,0032

Полученные результаты показали, что клинические изоляты *B. miyamotoi* обладают высокой чувствительностью к доксициклину, азитромицину, цефтриаксону и проявляют резистентность к амоксициклину, который входит в алгоритмы лечения БЛ. Данные результаты согласуются с результатами, полученными ранее коллегами из Голландии при изучении чувствительности изолятов *B. miyamotoi*, выделенных из клещей [669]. Изоляты *B. miyamotoi*, выделенные из клещей – НТ31 (Япония), LB-2001 (США) также были устойчивы к амоксициллину.

Таким образом, можно выделить следующие эпидемиологические особенности БМ на территории Свердловской области. Во-первых, БМ чаще болеют мужчины трудоспособного возраста. Во-вторых, заражение происходит при присасывании иксодовых клещей (доля трансмиссивного механизма передачи составила 96,0%). В-третьих, при анализе фактора риска инфицирования – длительности присасывания клеща – в нашей группе пациентов в 72,5% случаев длительность присасывания клеща не превышала одни сутки. В-четвертых, длительность инкубационного периода в группе пациентов как с моно-, так и микст-инфекцией составила $15,7 \pm 5,7$ дней и $14,1 \pm 7,7$ дней, соответственно, т.е. у пациентов с микст-инфекцией БМ раньше начиналось острое начало заболевания ($p = 0,02$). В-пятых, длительность лечения в стационаре пациентов с БМ в среднем составила $13,6 \pm 4,0$ дня, не отличаясь в группе с моно- и микст-инфекцией БМ – $13,7 \pm 4,3$ дня и $13,1 \pm 2,8$ дня соответственно ($p = 0,62$).

Среди клинических симптомов как у пациентов с моно-, так и микст-инфекцией БМ преобладали симптомы интоксикации, среди которых достоверно чаще в группе пациентов с моноинфекцией БМ встречались озноб, головная боль и общая слабость. При микст-инфекции БМ были эритемы, что вероятно связано с инфицированием боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l., которые вызывают БЛ. Следует отметить, что в обеих группах наблюдались менингеальные симптомы или симптомы менингизма.

В лабораторных анализах крови у больных с моноинфекцией БМ достоверно чаще наблюдались тромбоцитопения и повышение общего билирубина.

По результатам молекулярно-генетического исследования установлено, что этиологическим агентом БМ на современном этапе на территории Свердловской области является *B. miyamotoi*, азиатский геновариант. А выделенные клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi* на территории Свердловской области, *in vitro* обладают высокой чувствительностью к доксициклину, азитромицину, цефтриаксону и проявляют резистентность к амоксициклину, который входит в алгоритмы лечения БЛ.

7.4. Эпидемиологическая и клиничко-лабораторная характеристика моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека

В ходе проведения исследования было установлено, что доля этиологически не расшифрованных случаев инфекций, возникших после присасывания клещей или посещения лесной зоны в период активности клещей сократилась с 20,3% в начале работы (2009-2010 гг.) до 7,5% в конце исследования (2021 г.). До момента нашего исследования боррелиоз, вызываемый *B. miyamotoi* наиболее часто проходил под диагнозом ВЛПЧ. В 2021 г. мы провели

дополнительное исследование крови от пациентов, находящихся на стационарном или амбулаторном лечении на наличие ДНК *A. phagocytophilum*, 16S рРНК *E. chaffeensis/E. muris*, ДНК *Coxiella burnetii* (возбудитель Ку-лихорадки), риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок, РНК вирусов Кемерово, Алонгшан (Jingmen tick virus), Хасеки (Haseki tick virus). Также сыворотки крови от пациентов в динамике исследовались на наличие антител к возбудителям МЭЧ, ГАЧ, риккетсиоза. В ходе исследования методом ПЦР РНК/ДНК ни одного из вышеперечисленных возбудителей выявлено не было. В то время как были выявлены IgM и IgG к возбудителям МЭЧ и ГАЧ и их сероконверсия.

Диагнозы МЭЧ, ГАЧ, а также ВЛПЧ ставились на основании клинико-эпидемиологических данных и результатов лабораторных исследований. В случае постановки диагноза ВЛПЧ кровь исследовалась до 2021 г. методом ИФА только на антитела к вирусу КЭ, боррелиям комплекса *B. burgdorferi* s.l., а также методом ПЦР на ДНК *B. miyamotoi* во все годы, на РНК/ДНК возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ в 2009-2010 гг. Диагноз ВЛПЧ ставился на основании отсутствия специфических антител к вирусу КЭ и боррелиям комплекса *B. burgdorferi* s.l., а также отсутствия РНК/ДНК вышеперечисленных патогенов в лейкоцитарной фракции и плазме крови. В 2021 г. была проведена комплексная лабораторная диагностика методами ИФА, ПЦР, а также белкового планарного биочипа для дифференциальной диагностики БЛ и БМ, с целью характеристики этиологической структуры заболеваемости клещевыми инфекциями в Свердловской области в эпидемический сезон. В 2021 г. в период исследования не удалось расшифровать этиологию инфекций, передающихся иксодовыми клещами в 7,5%, пациенты были выписаны с диагнозом ВЛПЧ. Всего за период изучения с учетом введенных нами в протокол исследования новых ПЦР-методик было выявлено 109 случаев (10,1%) ВЛПЧ, 7 случаев (3,1%) моноинфекции ГАЧ, все остальные случаи ГАЧ представляли микст-инфекцию с КЭ, БМ или БЛ; МЭЧ был выявлен только в виде микст-инфекции (Таблица 76). В 2021 г. было выявлено 24 случая ВЛПЧ, из них ретроспективно удалось верифицировать 7 случаев ГАЧ (была выявлена сероконверсия IgM и IgG к анаплазмам).

Таблица 76 – Пациенты с ВЛПЧ, МЭЧ и ГАЧ в виде моно- и микст-инфекции

Нозологии	Количество	%
ВЛПЧ	109	10,1
ГАЧ	7	3,1
БМ+ГАЧ	5	2,2
БМ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,4
БМ+БЛ-ЭФ+ГАЧ	2	0,8
БМ+КЭ+ГАЧ	1	0,4
БМ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,4
БМ+КЭ+БЛ-БЭФ +ГАЧ	1	0,4
БЛ-БЭФ+ГАЧ	11	4,8
БЛ-БЭФ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,4
БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ	2	0,8

Продолжение Таблицы 76

БЛ-БЭФ+КЭ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,4
БЛ-БЭФ+МЭЧ	2	0,8
БЛ-ЭФ+ГАЧ	55	24,2
БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ	4	1,8
БЛ-ЭФ+КЭ+ГАЧ	3	1,3
КЭ+ГАЧ	4	1,8
КЭ+ГАЧ+МЭЧ	1	0,4
КЭ+МЭЧ	1	0,4

Средний возраст пациентов с ВЛПЧ составил $47,2 \pm 18,2$ лет (от 18 до 81 года), преобладали мужчины – 64,2% (70 человек), женщины – 35,8% (39 человек) ($p < 0,0001$) (Таблица 77).

Таблица 77 – Распределение заболевших ВЛПЧ по возрасту и полу (%)

Всего 109 чел.	Пол		Возраст (лет)		
	мужчины	женщины	18-19	20-59	60 и старше
	70 (64,2%)	39 (35,8%)	2 (1,8%)	73 (67,0%)	34 (31,2%)

Пациенты поступали в ООО МО «Новая больница» с предварительными диагнозами «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими» (63 человека, 57,8%), «Болезнь Лайма, безэритемная форма» (13 человек, 11,9%), в остальных случаях «Острый клещевой энцефалит, лихорадочная форма» (33 человека, 30,3%).

Данные эпидемиологического анамнеза позволили построить картограмму мест, где произошло присасывание клещей у пациентов с диагнозом ВЛПЧ. Оказалось, что более трети случаев инфицирования локализованы в подзоне южной предгорной и равнинной тайги в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга (39 случаев, 35,8%). Эта территория стоит на первом месте по эпидемиологической значимости при заражении вирусом КЭ, возбудителями БЛ и БМ (Таблица 78, Рисунок 124).

Таблица 78 – Подзоны и районы Свердловской области с количеством случаев заболевания ВЛПЧ

Лесная зона		
Подзона южной предгорной и равнинной тайги Включает 18 районов	Асбестовский	0
	Алапаевский	1
	Артемовский	0
	Березовский	3
	Белоярский	10
	Верхнепышминский	13
	Верхнесалдинский	0
	Верхотурский	1
	г. Екатеринбург и его окрестности	39
	г. Заречный	0
	Красноуральский	0
	Нижнетуринский, г. Качканар	0
	Невьянский	1
	Режевской	0
	Сысертский	8
Таборинский	0	
Тавдинский	0	
Туринский	0	
Подзона смешанных широколиственных и хвойных лесов Включает 1 район	Красноуфимский	0
Подзона южной горной тайги Включает 9 районов	Кировоградский	0
	Кушвинский	0
	Нижнесергинский (Бисерть)	3
	Первоуральский	2
	Пригородный	0
	Ревдинский	6
	Нижний Тагил	0
	Полевской	3
	Шалинский	0
Подзона сосново-березовых лесов Включает 9 районов	Байкаловский	0
	Богдановичский	0
	Ирбитский	0
	Камышловский	0
	Пышминский	0
	Слободотуринский	0
	Сухоложский	0
	Талицкий	0
	Тугулымский	0
Подзона средней предгорной и равнинной тайги Включает 7 районов	Ивдельский	0
	Гаринский	0
	Серовский	0
	Североуральский	1
	Карпинский	0
	Краснотурьинский	0
	Новолялинский	0
Лесостепная зона		
Лесостепь Предуралья Включает 2 района	Артинский	0
	Ачитский	1
Лесостепь Зауралья Включает 1 район	Каменский	3

Также данный диагноз был зарегистрирован у жителей Свердловской области, выезжавших за пределы области: Курганская область – 1 случай, Поволжье – 1 случай, Челябинская область – 11 случаев, Ханты-Мансийский автономный округ – 1 случай.

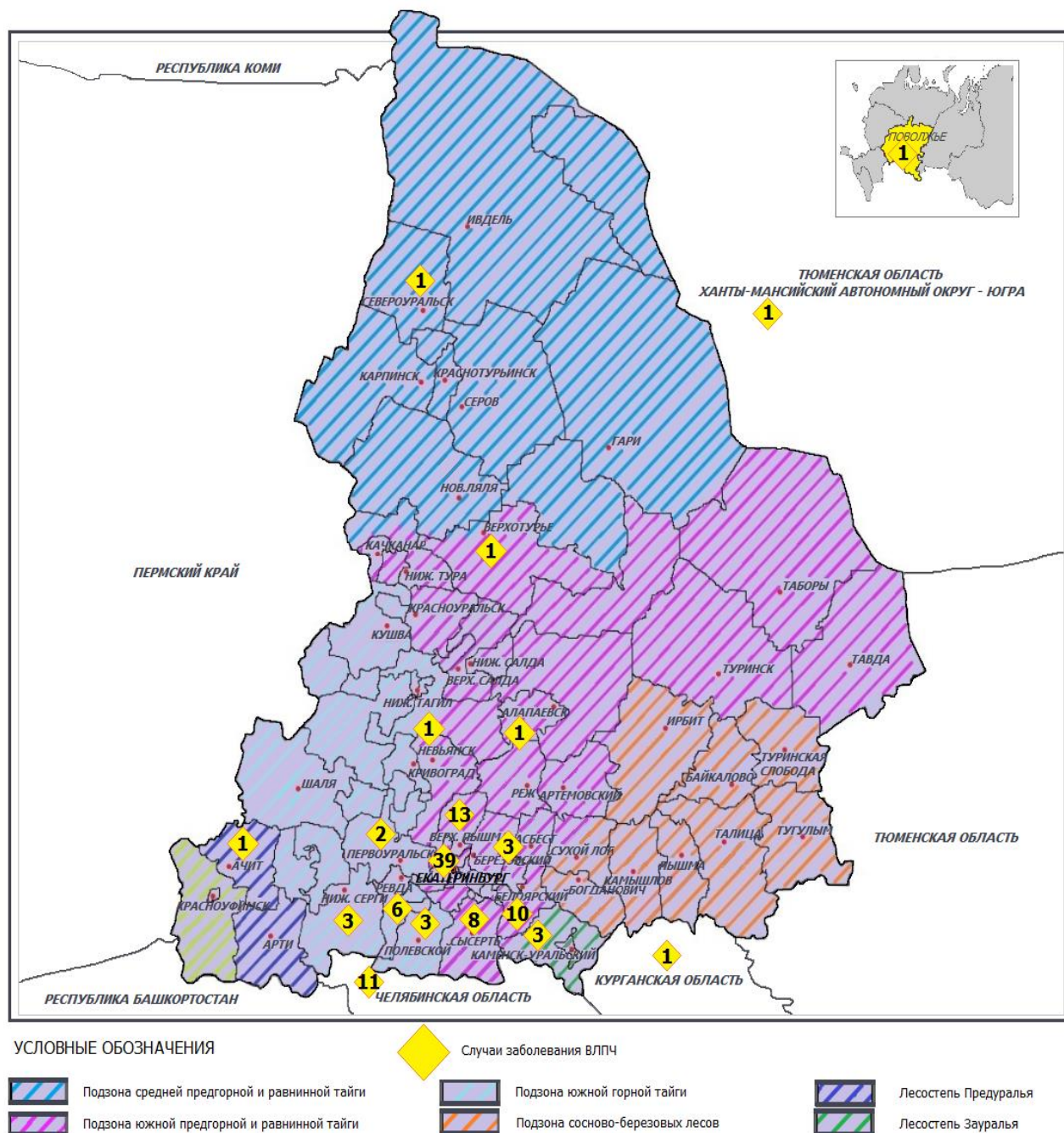


Рисунок 124 – Распределение мест заражения ВЛПЧ на территории Свердловской области и за ее пределами (предполагаемое место заражения выделено ромбом)

Наибольшее число случаев ВЛПЧ было связано с посещением леса – 52,3% (57 человек), с работой или отдыхом на садовом/дачном участке – 33,9% (37 человек), а при посещении городской лесопарковой зоны – 13,8% случаев заболевания ВЛПЧ (15 человек).

При сборе эпидемиологического анамнеза у пациентов с ВЛПЧ было выяснено, что факт присасывания клеща отмечали 94,5% заболевших (103 человек). Необходимо отметить, что 5,5% (6 человек) из всех заболевших отрицали факт присасывания клеща. Однако пациенты стряхивали клещей с одежды или кожи, снимали с людей или домашних животных, посещали лес или садово-огородные участки.

Анализ мест локализации присасываний клещей на теле заболевших КЭ показал, что излюбленными местами присасывания являются: нижние конечности 23,3% (24 человека), верхние конечности 18,4% (19 человек), живот 13,6% (14 человек) (Рисунок 125).

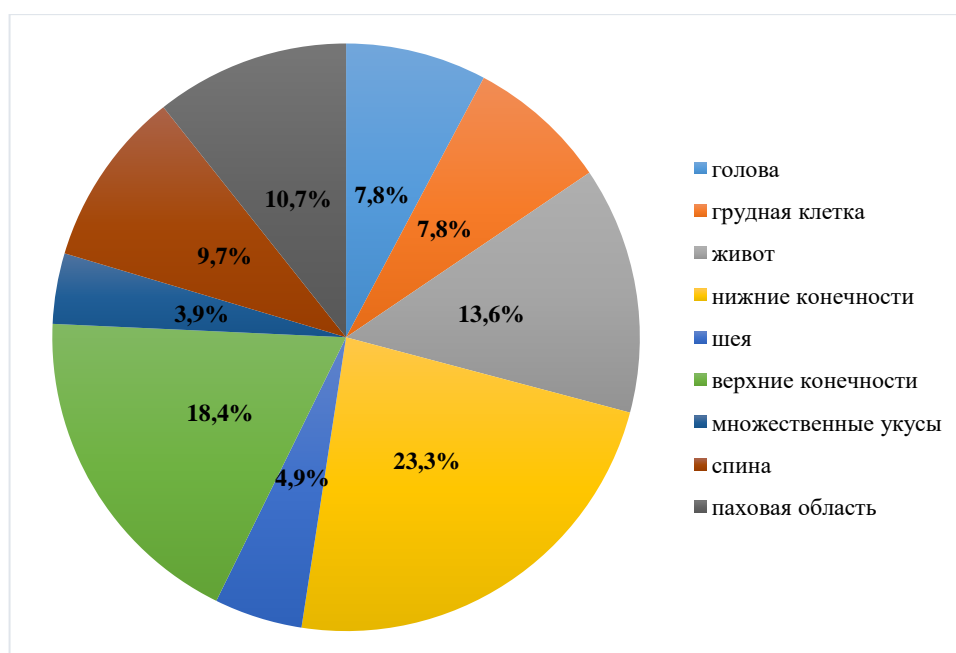


Рисунок 125 – Локализация мест присасывания клещей на теле заболевших ВЛПЧ за изученный период

При анализе эпидемиологических данных было выявлено, что только 27,5% пациентов (30 человек) исследовали клеща (или клещей при многократном присасывании) на РНК/ДНК возбудителей КЭ, БЛ, редко ГАЧ и МЭЧ методом ПЦР. РНК вируса КЭ была выявлена в 26,7% (8 образцов), 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в исследованных клещах была выявлена в 73,3% случаев (22 образца).

При анализе длительности присасывания клеща у пациентов с ВЛПЧ было установлено, что в 81,7% (89 человек) длительность присасывания клеща не превышала 1 сутки, в 14,7% (16 человек) – не более 2 суток, в 1,8% (2 человека) – не более 3 суток, в 0,9% (1 человек) – не более 4 суток, в 0,9% (1 человек) – 6 суток (Таблица 79).

Таблица 79 – Длительность присасывания клеща при ВЛПЧ

Длительность присасывания клеща	ВЛПЧ	
	абс.	%
1-е сутки	89	81,7
2-е сутки	16	14,7
3-и сутки	2	1,8
4-е сутки	1	0,9
5-е сутки	1	0,9

Длительность инкубационного периода в группе пациентов с ВЛПЧ колебалась от 1 до 43 суток, в среднем составила $10,3 \pm 8,1$ дней.

Данные о продолжительности инкубационного периода при ВЛПЧ приведены в Таблице 80 и на Рисунках 126 и 127. На Рисунке 128 приведено сравнение инкубационного периода у обследованных больных с ВЛПЧ и другими нозологиями.

Таблица 80 – Продолжительность инкубационного периода при ВЛПЧ

Количество дней от момента присасывания клеща до начала болезни																																										
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	34	42	43									
2	9	7	9	4	5	2	3	9	6	4	5	4	3	2	2	1	6	4	3	3	2	2	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1								

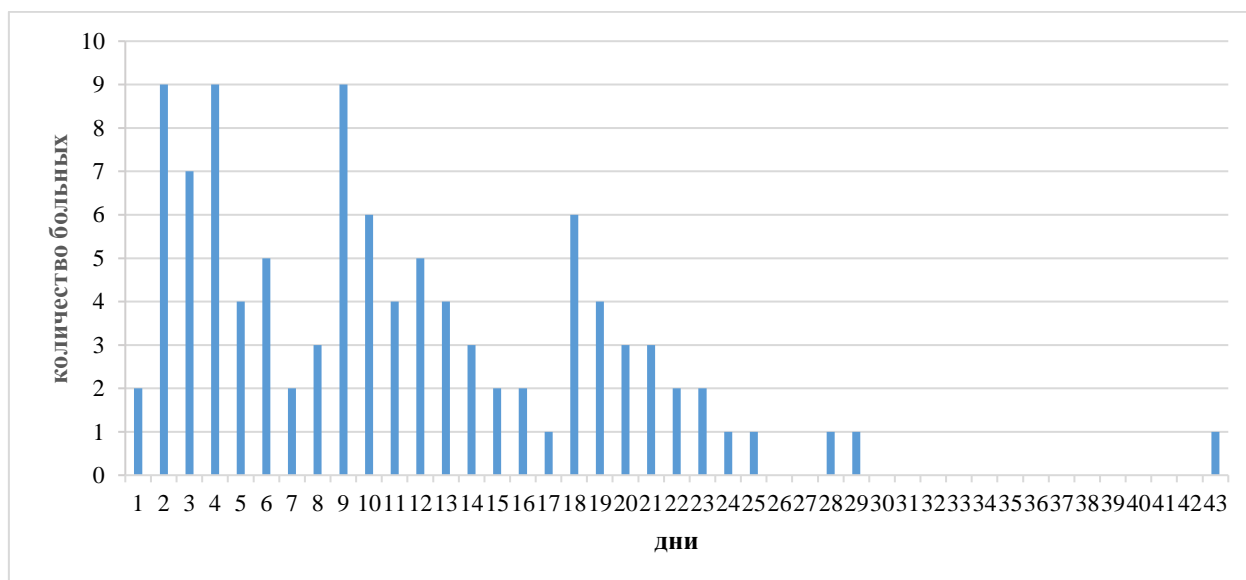


Рисунок 126 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных с ВЛПЧ

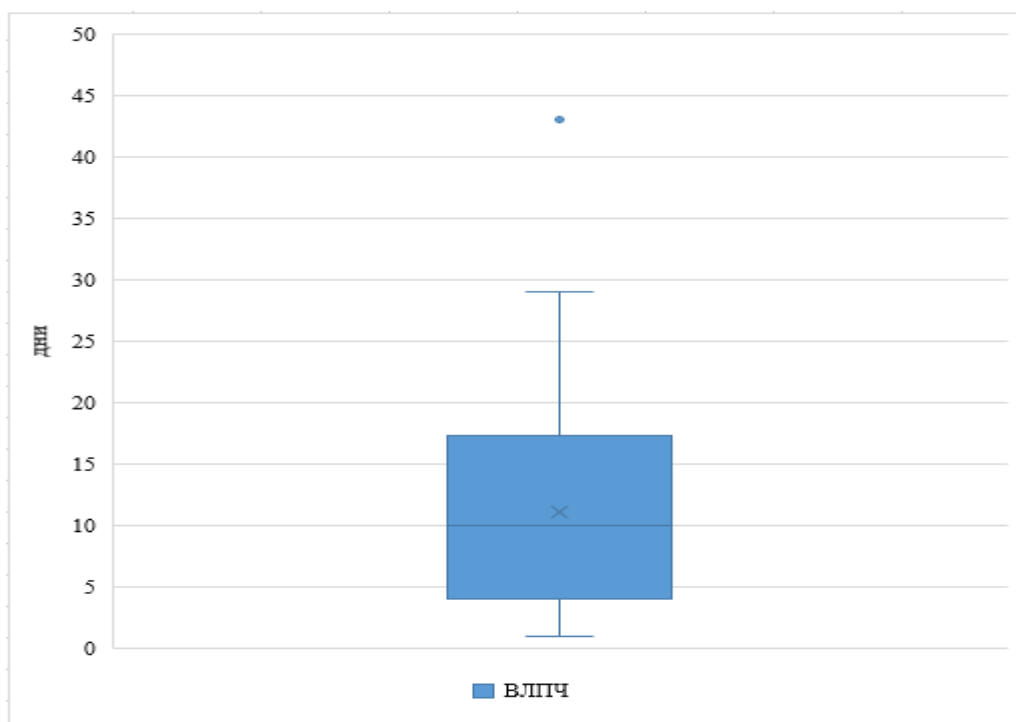
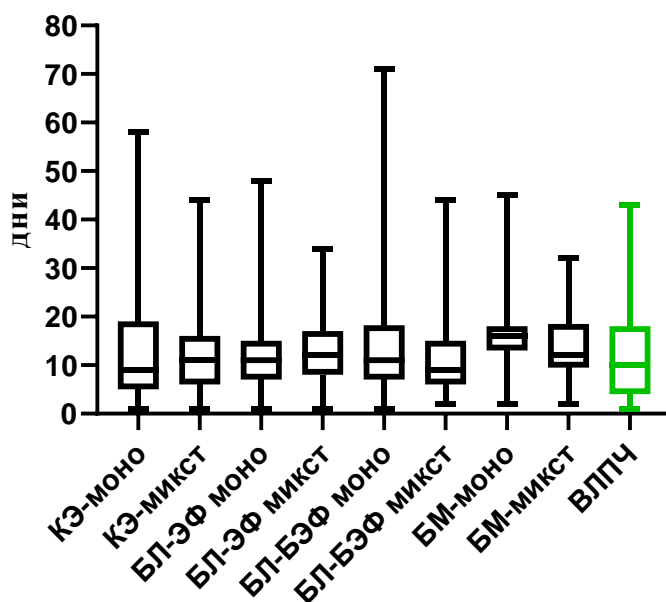


Рисунок 127 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных ВЛПЧ



Показаны медианы, нижние и верхние квартили, минимальные и максимальные значения. Тест ANOVA указывает на то, что ВЛПЧ имеет статистически достоверное отличие только от группы БМ-моно. Тест Манна-Уитни дает $p = 0,0003$, также указывая на то, что различие статистически достоверно.

Рисунок 128 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных с ВЛПЧ (выделено зеленым) в сравнении с другими группами с моно- и микст-инфекциями

В 2021 г. в связи с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по коронавирусной инфекции, пациенты с нетяжелым течением заболевания могли находиться на амбулаторном

лечения, некоторые пациенты отказывались от госпитализации. Длительность лечения пациентов с ВЛПЧ в условиях стационара колебалась от 2 суток до 33 дня, в среднем $11,9 \pm 4,1$.

Клинико-лабораторные проявления ВЛПЧ. В нашем исследовании в группе пациентов с ВЛПЧ в 100% случаях (109 человек) заболевание начиналось остро с подъема температуры до субфебрильных $37,0-37,9^{\circ}\text{C}$ (35,8%, 39 человек) и фебрильных цифр $38,0-40,2^{\circ}\text{C}$ (64,2%, 70 человек).

Длительность лихорадочного периода в группе пациентов с ВЛПЧ колебалась от 1 до 17 дней, в среднем $3,3 \pm 1,9$ дня.

Лихорадка с ознобом была отмечена у 19 пациентов (17,4%). У около половины пациентов с ВЛПЧ (51 человек, 46,8%) наблюдалась головная боль, у 13,8% – головокружение (15 пациентов), у 78,0% – слабость (85 больных). Частота регистрации клинических симптомов представлены в Таблице 81 и Рисунке 129.

Таблица 81 – Частота регистрации клинических симптомов при ВЛПЧ

Симптом заболевания	ВЛПЧ (количество – 109)	
	абс.значение	%
Лихорадка	109	100,0
Озноб	19	17,4
Головная боль	51	46,8
Головокружение	15	13,8
Общая слабость	85	78,0
Обложенность языка	19	17,4
Першение в горле	3	2,8
Тошнота	8	7,3
Рвота	4	3,7
Диарея	1	0,9
Боли в поясничной области	0	0,0
Боли в животе	0	0,0
Регионарная лимфаденопатия	0	0,0
Генерализованная лимфаденопатия	0	0,0
Миалгии	29	26,6
Артралгии	15	13,8
Менингеальные симптомы	3	2,8
Проба Ромберга*	15	15,3
Нистагм**	9	19,1
ЧСС > 80 уд в мин	27	24,8
Прочие симптомы***	47	43,1

Примечание: * Проба Ромберга была выполнена 98 пациентам; ** Нистагм проверялся у 99 человек; *** Прочие симптомы включали – потливость, учащенное мочеиспускание, сонливость, недомогание, отдышка и некоторые другие.

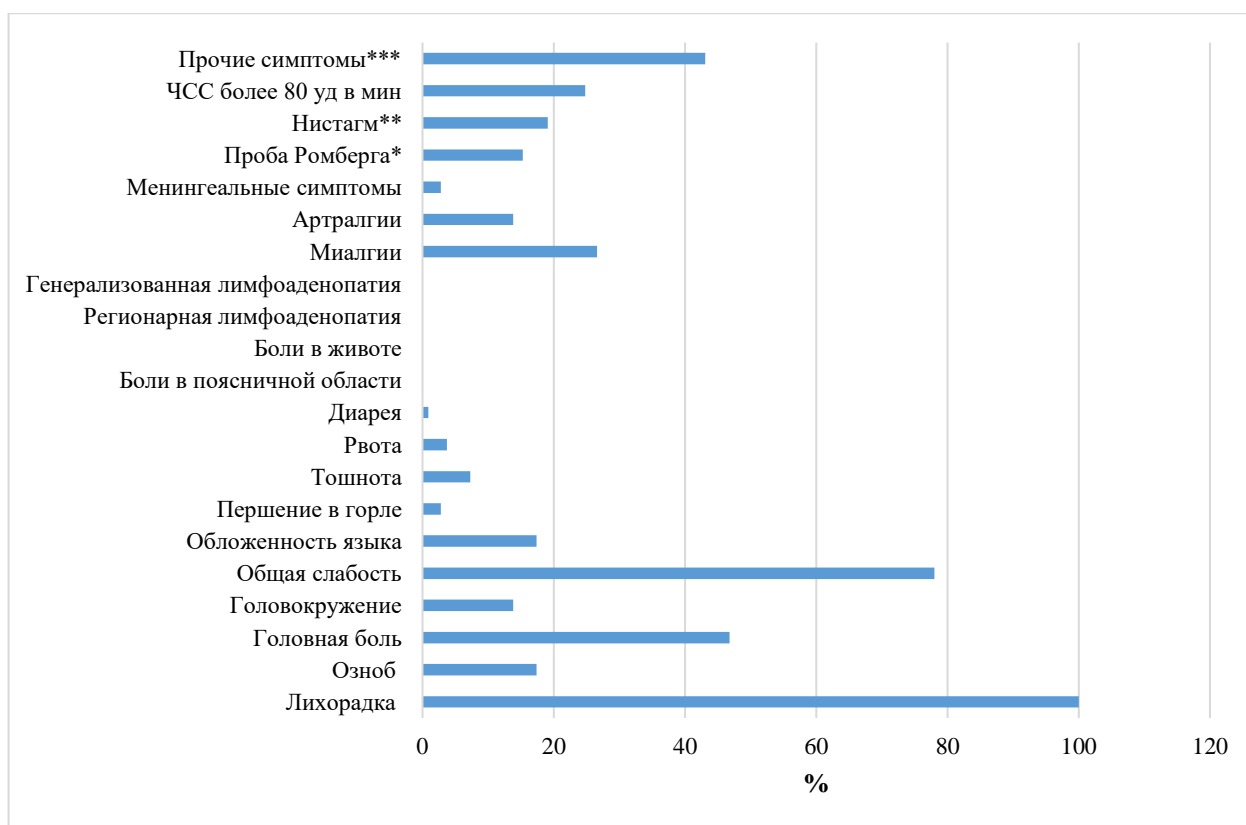


Рисунок 129 – Частота регистрации клинических симптомов у больных с ВЛПЧ

У всех больных исследовались общий анализ крови и мочи. У большей части больных проводился биохимический анализ крови с определением уровня печеночных ферментов – АЛТ (78,9%, 86 человек), АСТ (29,3%, 32 человека), общего билирубина (71,6%, 78 человек), креатинина (39,5%, 43 человека), С-реактивного белка (60,6%, 66 человек) и глюкозы (78,9%, 86 человек). В крови наблюдались одинаково часто как умеренный лейкоцитоз у 18,6% пациентов (18 человек), так и лейкопения в 18,6% случаев (18 человека), сдвиг лейкоцитарной формулы влево в 8,9% (7 человек), тромбоцитопения в 14,1% (13 человека), повышение СОЭ (до 75 мм в час) в 50,0% (41 человек), повышение АЛТ (до 323,0 ммоль/л) в 25,6% (22 человек), повышение АСТ (до 333,2 ммоль/л) в 37,5% случаев (12 человек) (Таблица 82).

В моче отмечались изменения у 73,0% больных (57 человека), при этом у 71,8% пациентов наблюдалась гипостенурия, у 33,3% – лейкоцитурия, у 33,4% - протеинурия.

Таблица 82 – Лабораторные показатели крови у обследованных пациентов с ВЛПЧ

Показатель	ВЛПЧ		P
	абс.	%	
Лейкоцитоз	18	18,6	0,99
Лейкопения	18	18,6	
Тромбоцитопения	13	14,1	0,0002*
Тромбоцитоз	0	0,0	

Продолжение Таблицы 82

Повышение АЛТ	22	25,6	-
Повышение АСТ	12	37,5	-
Повышение СОЭ	41	50,0	-
Повышение С-реактивного белка	42	63,6	-
Повышение общего билирубина	8	10,3	-
Повышение креатинина	3	7,0	-
Повышение глюкозы	14	16,3	-
Гранулоцитоз	12	12,6	0,48
Агранулоцитоз	8	8,4	
Увеличение палочкоядерных нейтрофилов	7	8,9	-
Лимфоцитоз	17	17,7	0,29
Лимфоцитопения	10	10,4	
Моноцитоз	13	13,5	0,02*
Моноцитопения	3	3,1	

Примечание: * статистически значимые различия показателей ($p < 0,05$); «-» – статистически значимые различия не оценивались

Средний возраст пациентов при моноинфекции ГАЧ (7 человек) составил $47,7 \pm 21,7$ лет (от 24 до 82 лет), мужчины составили в 57,1% (4 человека), женщины – 42,9% (3 человека) ($p > 0,99$) (Таблица 83); при микст-инфекции (93 человека) средний возраст пациентов составил – $57,6 \pm 14,9$ лет (от 22 до 83 лет), женщины составили 51,6% (48 человек), мужчины – 46,4% (45 человек) ($p = 0,77$).

Пациенты с моноинфекцией ГАЧ поступали в ООО МО «Новая больница» с предварительными диагнозами «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими», «Болезнь Лайма, безэритемная форма», «Острый клещевой энцефалит, лихорадочная форма», «Острая респираторная вирусная инфекция».

Таблица 83 – Распределение заболевших ГАЧ по возрасту и полу (%)

Всего 100 чел.	Пол		Возраст (лет)		
	мужчины	женщины	15-19	20-59	60 и старше
ГАЧ	49 (49,0%)	51 (51,0%)	0 (0,0%)	48 (48,0%)	52 (52,0%)

Данные эпидемиологического анамнеза позволили построить картограмму мест, где произошло присасывание клеща или посещение лесной зоны в период активности клещей у пациентов с ГАЧ. Оказалось, что около половины случаев инфицирования локализовано в подзоне южной предгорной и равнинной тайги в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга – 49,0% случаев (49 человек). Эта территория стоит на первом месте по эпидемиологической значимости при заражении возбудителями КЭ, БЛ, БМ, ВЛПЧ (Таблица 84, Рисунок 130).

Таблица 84 – Подзоны и районы Свердловской области с количеством случаев заболевания ГАЧ

Лесная зона		
Подзона южной предгорной и равнинной тайги Включает 18 районов	Асбестовский	2
	Алапаевский	0
	Артемовский	0
	Березовский	0
	Белоярский	5
	Верхнепышминский	6
	Верхнесалдинский	0
	Верхотурский	0
	г. Екатеринбург и его окрестности	49
	г. Заречный	0
	Красноуральский	0
	Нижнетуринский, г. Качканар	0
	Невьянский	5
	Режевской	1
	Сысертский	1
	Таборинский	0
Тавдинский	0	
Туринский	0	
Подзона смешанных широколиственных и хвойных лесов Включает 1 район	Красноуфимский	0
Подзона южной горной тайги Включает 9 районов	Кировоградский	0
	Кушвинский	0
	Нижнесергинский (Бисерть)	2
	Первоуральский	9
	Пригородный	0
	Ревдинский	3
	Нижний Тагил	0
	Полевской	1
Шалинский	0	
Подзона сосново-березовых лесов Включает 9 районов	Байкаловский	0
	Богдановичский	1
	Ирбитский	0
	Камышловский	0
	Пышминский	0
	Слободотуринский	0
	Суходожский	0
	Талицкий	1
Тугулымский	0	
Подзона средней предгорной и равнинной тайги Включает 7 районов	Ивдельский	0
	Гаринский	0
	Серовский	1
	Североуральский	0
	Карпинский	0
	Краснотурьинский	0
	Новолялинский	0
Лесостепная зона		
Лесостепь Предуралья Включает 2 района	Артинский	0
	Ачитский	0
Лесостепь Зауралья Включает 1 район	Каменский	1

Жители Свердловской области выезжали на другие территории, где произошло заражение анаплазмами: Пермский край – 2 случая, Тульская область – 1 случай, Челябинская область – 4 случая.

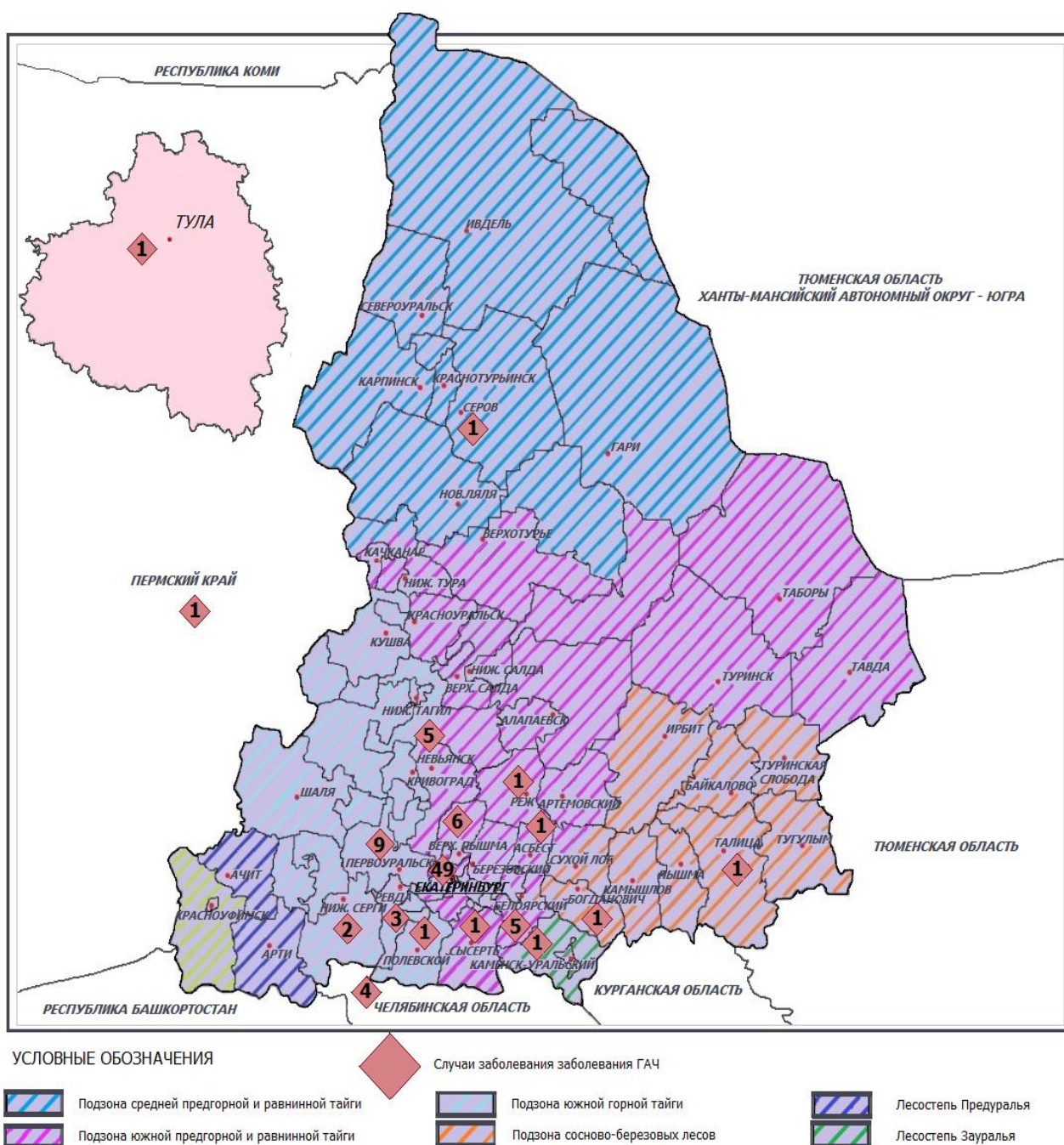


Рисунок 130 – Распределение мест заражения *A. phagocytophilum* на территории Свердловской области и за ее пределами (предполагаемое место заражения выделено ромбом)

Наибольшее количество случаев заражения возбудителем ГАЧ было связано с работой или отдыхом на садовом/дачном участке – 41 случай (41,0%), с посещением лесопарковой зоны – 38 случаев заболевания ГАЧ (38,0%), при посещении леса – 21 случай (21,0%).

При сборе эпидемиологического анамнеза у пациентов с ГАЧ было выяснено, что факт присасывания клеща отмечали 89,0% заболевших (89 человек). Необходимо отметить, что 11,0% (11 человек) от всех заболевших отрицали факт присасывания клеща. Однако пациенты стряхивали клещей с одежды или кожи, снимали с людей или домашних животных, посещали лес или садово-огородные участки.

Анализ мест локализации присасываний клещей на теле заболевших ГАЧ показал, что излюбленными местами присасывания являются: нижние конечности – 28,4% (23 человека), верхние конечности – 18,5% (15 человека), живот – 14,8% (12 человека) и спина – 14,8% (12 человека) (Рисунок 131).

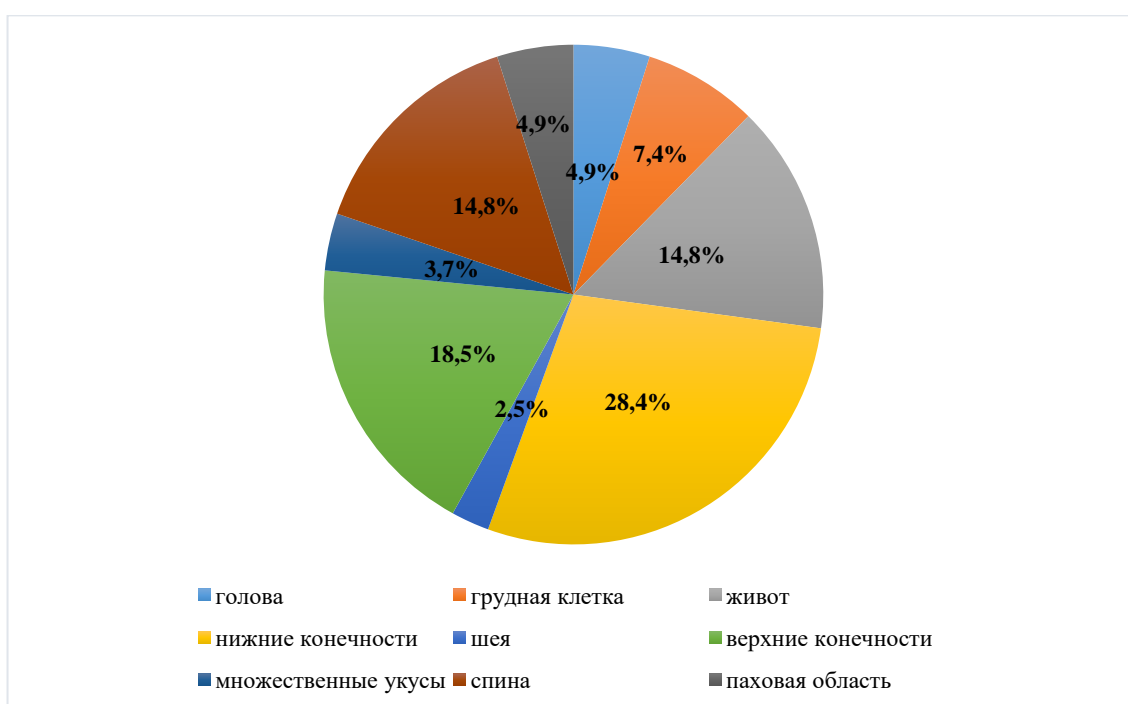


Рисунок 131 – Локализация мест присасывания клещей на теле заболевших ГАЧ за изученный период (2021 г.)

При анализе эпидемиологических данных было выявлено, что только 26,0% пациентов (26 человек) исследовали клеща (или клещей при многократном присасывании) на РНК/ДНК возбудителей КЭ, БЛ. В одном случае клещ был исследован на 4 инфекции, включая РНК/ДНК возбудителей КЭ, БЛ, ГАЧ и МЭЧ методом ПЦР, при этом в клеще была выявлена ДНК *A. phagocytophilum*.

У подавляющего большинства длительность присасывания клеща не превышала 1 сутки – 72,0% (72 человек), у 15,0% (15 человек) – не более 2 суток, у 2,0% (2 человека) – не более 3 суток, у 4,0% (4 человека) – не более 4 суток, у 1,0% (1 человек) – 5 суток, у 3,0% (3 человека) – не более 6 суток, у 1,0% (1 человек) – не более 8 суток, у 1,0% (1 человек) – не более 9 суток, у

1,0% (1 человек) – не более 11 суток. При моноинфекции ГАЧ по 42,9% (по 3 человека) – не превышала 1 сутки и двое, 14,2% (1 человек) – не более 4-х суток; при микст-инфекции – 74,2% (69 человек) – не более 1 суток, 12,9% (12 человек) – не более 2-х суток и т.д. (Таблица 85).

Таблица 85 – Длительность присасывания и клинические формы заболевания ГАЧ

Длительность присасывания клеща	ГАЧ (100 человек)			
	моно- 7		микст- 93	
	абс.	%	абс.	%
1-е сутки	3	42,9	69	74,2
2-е сутки	3	42,9	12	12,9
3-и сутки	0	0,0	2	2,2
4-е сутки	1	14,2	3	3,2
5-е сутки	0	0,0	1	1,1
6-е сутки	0	0,0	3	3,2
8-е сутки	0	0,0	1	1,1
9-е сутки	0	0,0	1	1,1
11-е сутки	0	0,0	1	1,1

Длительность инкубационного периода в группе пациентов с ГАЧ колебалась от 1 до 44 суток, в среднем составила $14,0 \pm 8,9$ дней: при моноинфекции – $15,8 \pm 9,4$ дней (от 3 до 33 дней), при микст-инфекции – $14,1 \pm 8,9$ дней (от 1 до 44 дней) ($p = 0,63$). Данные о продолжительности инкубационного периода при ГАЧ приведены в Таблице 86 и Рисунках 132 и 133.

Таблица 86 – Продолжительность инкубационного периода при моно- и микст-инфекции ГАЧ

Количество дней от момента присасывания клеща до начала болезни																
ГАЧ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
моно-	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
микст-	4	2	1	2	5	1	2	8	6	5	3	3	3	7	3	4

Продолжение Таблицы 86

Количество дней от момента присасывания клеща до начала болезни																	
ГАЧ	17	18	19	20	21	22	23	24	26	27	28	29	31	32	33	44	P
моно-	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0,63
микст-	3	2	2	2	2	3	2	2	1	1	0	1	2	2	0	2	

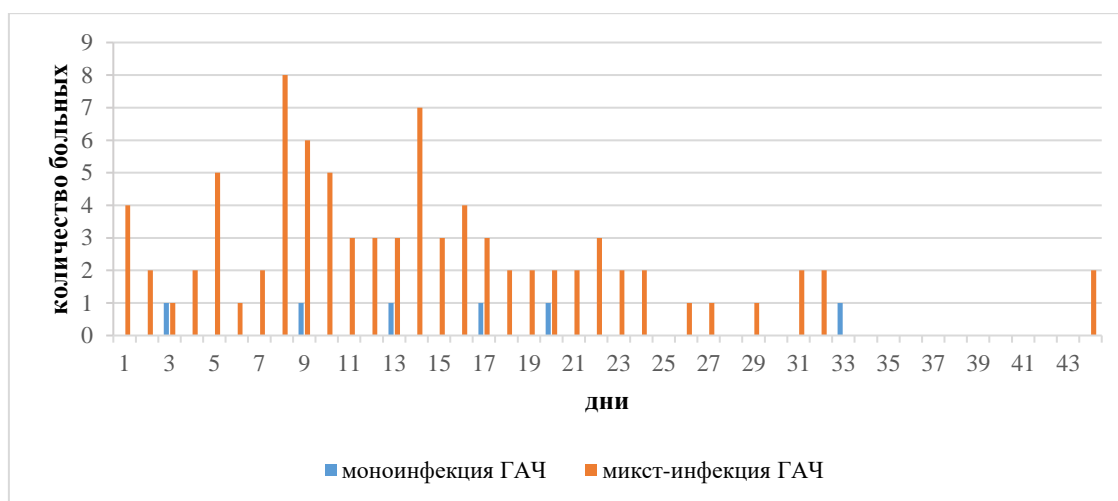
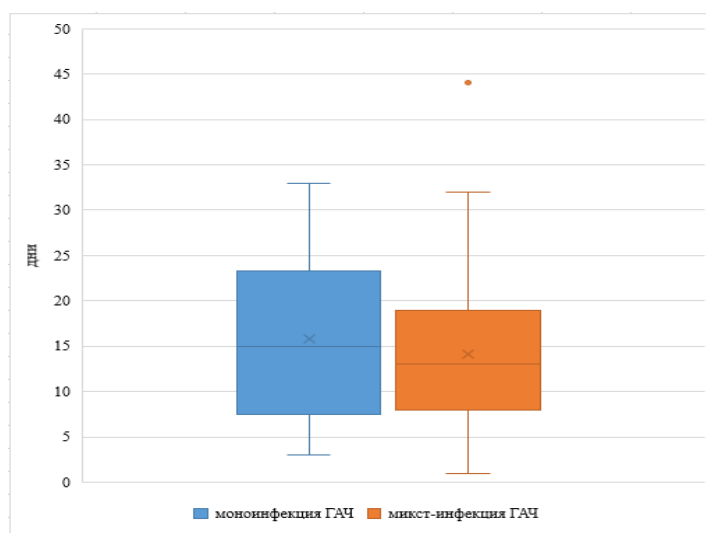


Рисунок 132 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных пациентов с моно- и микст-инфекцией ГАЧ



Показаны медианы, нижние и верхние квартили, минимальные и максимальные значения. Тест Манна-Уитни, $p = 0,63$ (статистически достоверное различие не наблюдается).

Рисунок 133 – Продолжительность инкубационного периода у обследованных больных ГАЧ с моно- и микст-инфекциями

В 2021 г. в связи с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по коронавирусной инфекции, пациенты с нетяжелым течением заболевания могли находиться на амбулаторном лечении, некоторые пациенты отказывались от госпитализации. Длительность лечения ГАЧ в условиях стационара колебалась от 3 суток до 17 дня, в среднем $10,5 \pm 2,0$ дня, при моноинфекции – $9,0 \pm 3,7$ дня (от 4 до 13 дней), при микст-инфекции – $10,5 \pm 1,8$ дня (от 3 до 17 дней) ($p = 0,58$).

Клинико-лабораторные проявления ГАЧ. В нашем исследовании в группе пациентов с ГАЧ в 51,0% случаях (51 человек) заболевание начиналось остро с подъема температуры до субфебрильных $37,0-37,9^{\circ}\text{C}$ (20,0%, 20 человек) и фебрильных цифр $38,0-40,0^{\circ}\text{C}$ (31,0%, 31 человек): при моноинфекции ГАЧ у 6 из 7 пациентов (85,7%) было выявлено повышение температуры $37,0-39,2^{\circ}\text{C}$; при микст-инфекции ГАЧ у 45 из 93 пациентов (48,4%) было повышение температуры до субфебрильных (16 пациентов, 35,6%) и фебрильных цифр (29 человек, 64,4%).

Длительность лихорадочного периода в группе пациентов с ГАЧ колебалась от 2 до 5 дней, в среднем $2,6 \pm 0,7$ дня: при моноинфекции – $2,7 \pm 0,7$ дня (от 2 до 4 дней), при микст-инфекции – $2,6 \pm 0,7$ дня (от 2 до 5 дней) ($p = 0,99$).

Лихорадка с ознобом была отмечена у 6 пациентов (6,0%), из них в 1 случае наблюдалась моноинфекция ГАЧ. У 16% пациентов с ГАЧ (16 человек, %) встречалась головная боль, среди них у одного пациента была моноинфекция ГАЧ. Головокружение было отмечено у 7 пациентов (7,0%), среди них у одного с моноинфекцией ГАЧ. Слабость встречалась у 39 больных (39,0%), среди них с моноинфекцией у 4-х пациентов. Частота регистрации клинических симптомов представлена в Таблице 87 и на Рисунке 134.

Таблица 87 – Частота регистрации клинических симптомов при моно- и микст-инфекции ГАЧ

Симптом заболевания	ГАЧ (количество – 100)				P
	моно- 7		микст- 93		
	абс.	%	абс.	%	
Лихорадка	6	85,7	45	48,4	0,11
Озноб	1	14,3	5	5,4	0,36
Головная боль	1	14,3	15	16,1	> 0,99
Головокружение	6	85,7	1	1,1	< 0,0001*
Общая слабость	4	57,1	35	37,6	0,43
Обложенность языка	0	0,0	1	1,1	> 0,99
Першение в горле	0	0,0	1	1,1	> 0,99
Тошнота	1	14,3	5	5,4	0,36
Рвота	1	14,3	2	2,2	0,20
Диарея	0	0,0	0	0,0	> 0,99
Боли в поясничной области	0	0,0	2	2,2	> 0,99
Боли в животе	0	0,0	0	0,0	> 0,99

Продолжение Таблицы 87

Регионарная лимфаденопатия	0	0,0	0	0,0	> 0,99
Генерализованная лимфаденопатия	0	0,0	0	0,0	> 0,99
Миалгии	1	14,3	8	8,6	0,49
Артралгии	0	0,0	1	1,1	> 0,99
Менингеальные симптомы	1	14,3	3	3,2	0,26
Проба Ромберга*	0	0,0	11	12,8	0,59
Нистагм**	0	0,0	4	4,7	> 0,99
ЧСС > 80 уд в мин	1	14,3	13	14,0	> 0,99
Прочие симптомы***	3	42,9	25	26,9	0,40

Примечание: * Проба Ромберга была выполнена всем пациентам с моноинфекцией ГАЧ и 86 пациентам с микст-инфекцией; ** Нистагм проверялся у всех пациентов с моноинфекцией ГАЧ и у 86 человек с микст-инфекцией; *** Прочие симптомы включали – высыпания, утомляемость и некоторые другие; **** выявлены статистически значимые отличия ($p < 0,05$)

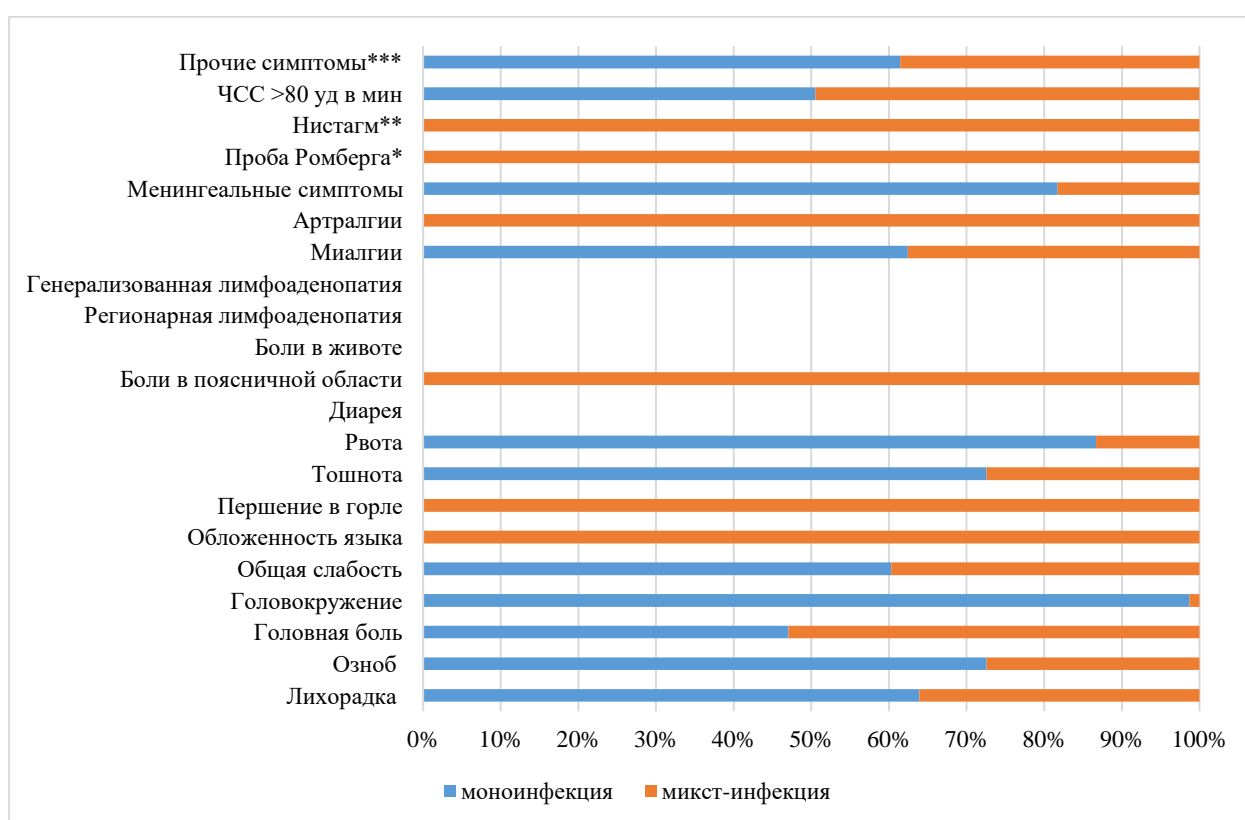


Рисунок 134 – Частота регистрации клинических симптомов у больных с моно- и микст-инфекцией ГАЧ

У всех больных исследовались общий анализ крови и мочи. У большей части больных проводился биохимический анализ крови с определением уровня печеночных ферментов – АЛТ (65,0%, 65 человек), АСТ (5,0%, 5 человек), общего билирубина (50,0%, 50 человек), креатинина (16,0%, 16 человек), С-реактивного белка (29,0%, 29 человек) и глюкозы (65,0%, 65 человек). В крови наблюдались умеренный лейкоцитоз у 13,2% пациентов (10 человек), лейкопения в 7,9% случаев (6 человека), сдвига лейкоцитарной формулы влево не было ни у одного пациента с ГАЧ,

тромбоцитопения в 5,4% (4 человека), повышение СОЭ (до 47 мм в час) в 53,9% (28 человек), повышение АЛТ (до 549,7 ммоль/л) в 16,9% (11 человек), повышение АСТ (до 70,9 ммоль/л) в 80,0% случаев (4 человек) (Таблица 88).

В моче отмечались изменения у 56,1% больных (37 человек). У пациентов с моноинфекцией ГАЧ была выявлена гипостенурия в 66,7%, лейкоцитурия – в 66,7%, протеинурия – в 33,3% случаев.

Таблица 88 – Лабораторные показатели у обследованных пациентов с моно- и микст-инфекцией ГАЧ

Показатель	Моноинфекция ГАЧ		Микст-инфекция ГАЧ		P
	абс.	%	абс.	%	
Лейкоцитоз	1	25,0	9	12,5	0,37
Лейкопения	1	25,0	5	6,9	0,25
Тромбоцитопения	0	0,0	4	5,7	0,99
Тромбоцитоз	0	0,0	1	1,4	0,99
Повышение АЛТ	0	0,0	11	17,7	0,99
Повышение АСТ	ни	ни	4	80,0	
Повышение СОЭ	1	50,0	27	54,0	0,99
Повышение С-реактивного белка	1	33,3	15	57,7	0,57
Повышение общего билирубина	0	0,0	2	4,2	0,99
Повышение креатинина	ни	ни	0	0,0	
Повышение глюкозы	0	0,0	16	25,4	0,99
Гранулоцитоз	2	50,0	8	11,1	0,047*
Агранулоцитоз	1	25,0	2	2,8	0,09
Увеличение палочкоядерных нейтрофилов	0	0,0	0	0,0	0,99
Лимфоцитоз	1	25,0	10	14,1	0,30
Лимфоцитопения	2	50,0	5	6,9	0,02*
Моноцитоз	0	0,0	0	0,0	0,99
Моноцитопения	0	0,0	2	2,9	0,99

Примечание: ни – не исследовался; * статистически значимые различия показателей ($p < 0,05$).

В ходе исследования было выявлено, что среди «новых» инфекций, помимо БМ, ГАЧ в структуре инфекционной патологии заболеваний, переносчиками возбудителей которых являются иксодовые клещи, встречается и МЭЧ. Все случаи МЭЧ в нашей группе пациентов были выявлены в сочетании с какими-либо другими клещевыми инфекциями (Таблица 76). Случаев моноинфекции МЭЧ выявлено не было. Всего с МЭЧ было установлено 12 человек.

Средний возраст пациентов при микст-инфекции МЭЧ составил $50,1 \pm 19,2$ лет (от 23 до 72 лет), женщины составили 66,7% (8 человек), мужчины – 33,3% (4 человека) ($p = 0,22$) (Таблица 89). Поскольку у всех пациентов МЭЧ был в сочетании с какой-либо другой клещевой инфекцией, либо несколькими клещевыми инфекциями диагнозы при поступлении были

разными: «Острый клещевой энцефалит, лихорадочная форма», «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими. Клещевой эрлихиоз, острый период», «Болезнь Лайма, эритемная форма». В случае диагноза «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими. Клещевой эрлихиоз, острый период» в 2017 г. в крови пациента была выявлена 16S рРНК эрлихий методом ПЦР в коммерческой лаборатории.

Таблица 89 – Распределение заболевших МЭЧ по возрасту и полу (%)

Всего	Пол		Возраст (лет)		
	мужчины	женщины	15-19	20-59	60 и старше
12 чел.	4 (33,3%)	8 (66,7%)	0 (0,0%)	6 (50,0%)	6 (50,0%)

Данные эпидемиологического анамнеза позволили построить картограмму мест, где произошло присасывание клеща у пациентов с микст-инфекцией МЭЧ. Оказалось, что половина случаев инфицирования локализована в подзоне южной предгорной и равнинной тайги в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга (6 случаев, 50,0%). Эта территория стоит на первом месте по эпидемиологической значимости и при заражении возбудителями КЭ, БЛ, БМ, ВЛПЧ, ГАЧ (Таблица 90, Рисунок 135).

Таблица 90 – Подзоны и районы Свердловской области с количеством случаев заболевания МЭЧ

Лесная зона		
Подзона южной предгорной и равнинной тайги Включает 18 районов	Асбестовский	0
	Алапаевский	0
	Артемовский	1
	Березовский	2
	Белоярский	1
	Верхнепышминский	0
	Верхнесалдинский	0
	Верхотурский	0
	г. Екатеринбург и его окрестности	6
	г. Заречный	0
	Красноуральский	0
	Нижнетуринский, г. Качканар	0
	Невьянский	0
	Режевской	0
	Сысертский	0
	Таборинский	0
Тавдинский	0	
Туринский	0	
Подзона смешанных широколиственных и хвойных лесов Включает 1 район	Красноуфимский	0

Продолжение Таблицы 90

Подзона южной горной тайги Включает 9 районов	Кировоградский	0
	Кушвинский	0
	Нижнесергинский (Бисерть)	0
	Первоуральский	1
	Пригородный	0
	Ревдинский	1
	Нижний Тагил	0
	Полевской	0
	Шалинский	0
Подзона сосново-березовых лесов Включает 9 районов	Байкаловский	0
	Богдановичский	0
	Ирбитский	0
	Камышловский	0
	Пышминский	0
	Слободотуринский	0
	Сухоложский	0
	Талицкий	0
	Тугулымский	0
Подзона средней предгорной и равнинной тайги Включает 7 районов	Ивдельский	0
	Гаринский	0
	Серовский	0
	Североуральский	0
	Карпинский	0
	Краснотурьинский	0
	Новоялинский	0
Лесостепная зона		
Лесостепь Предуралья Включает 2 района	Артинский	0
	Ачитский	0
Лесостепь Зауралья Включает 1 район	Каменский	0

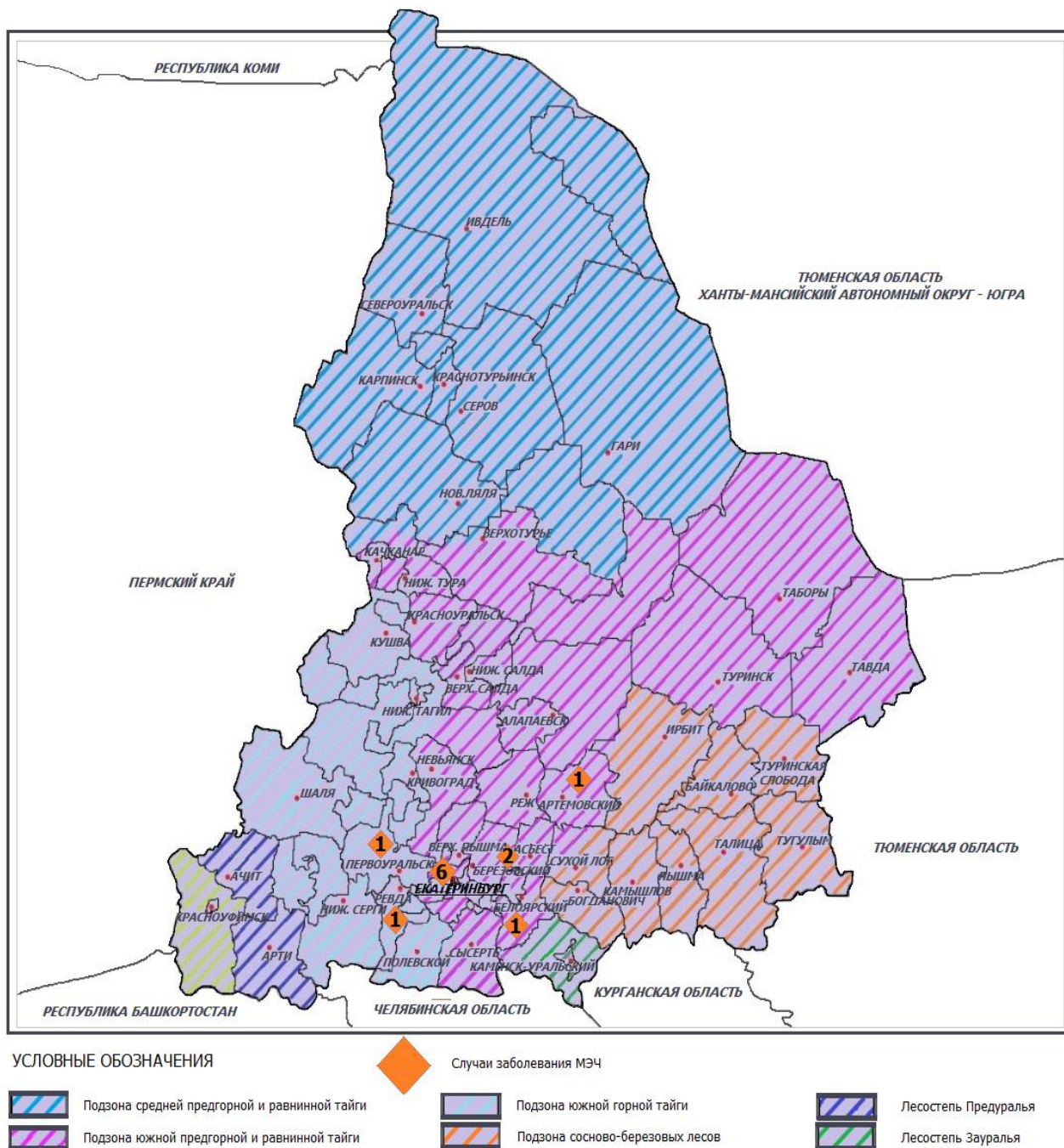


Рисунок 135 – Распределение мест заражения *E. muris* на территории Свердловской области (предполагаемое место заражения выделено ромбом)

Наибольшее количество случаев заражения МЭЧ было связано с работой или отдыхом на садовом/дачном участке – 50,0% случаев (6 человек), с посещением городской лесопарковой зоны – 41,2% случаев заболевания МЭЧ (5 человек), при посещении леса различными целями – 8,8% случаев (1 человек).

При сборе эпидемиологического анамнеза у пациентов исследуемой группы было выяснено, что факт присасывания клеща отмечали 100% заболевших (12 человек). Анализ мест

локализации присасываний клещей на теле заболевших МЭЧ показал, что излюбленными местами присасывания являются: нижние конечности 33,3% (4 случая), спина 25,0% (3 случая), живот 16,7% (2 случая) (Рисунок 136).

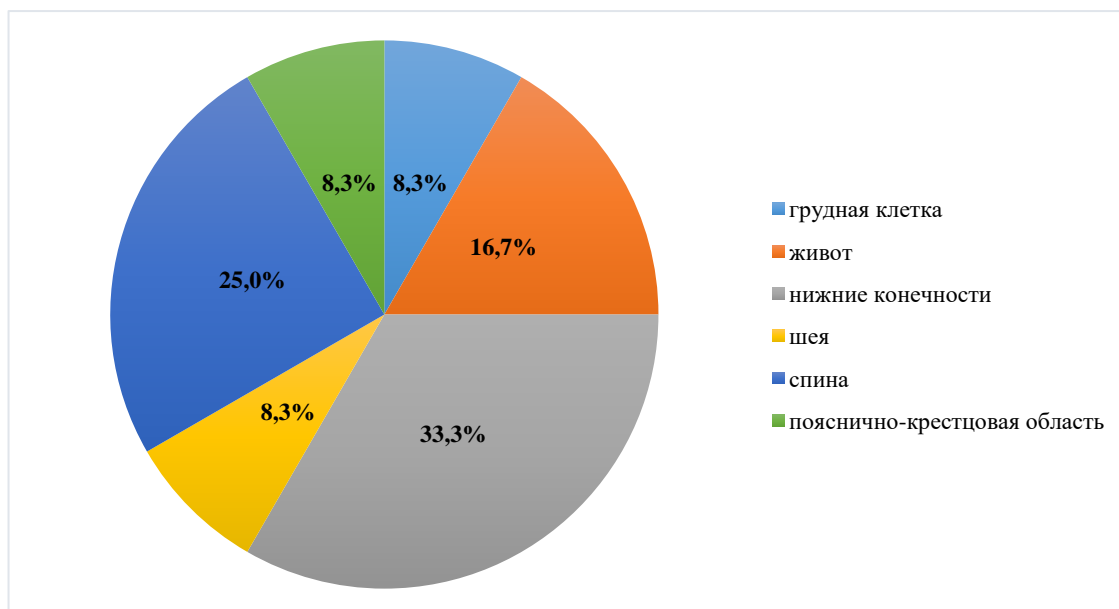


Рисунок 136 – Локализация мест присасывания клещей на теле заболевших МЭЧ за изученный период (2021 г.)

При анализе эпидемиологических данных было выявлено, что только 33,3% пациентов (4 человека) исследовали клеща на РНК/ДНК возбудителей КЭ, БЛ, редко ГАЧ и МЭЧ. В одном из клещей была выявлена 16S рРНК эрлихий и у одного больного в крови была обнаружена 16S рРНК эрлихий по результатам ПЦР-диагностики.

В нашем исследовании длительность присасывания клеща в большинстве случаев не превышала 1 суток (91,7%, 11 человек). Только у 1 пациента (8,3%) – не более 2 суток.

Длительность инкубационного периода в группе пациентов с микст-инфекцией МЭЧ колебалась от 2 до 32 суток, в среднем составила $16,0 \pm 8,5$ дней.

В 2021 г. в связи с неблагоприятной эпидемиологической ситуацией по новой коронавирусной инфекции, пациенты с нетяжелым течением заболевания находились на амбулаторном лечении, некоторые пациенты отказывались от госпитализации. Длительность лечения при микст-инфекции МЭЧ в условиях стационара колебалась от 7 суток до 17 дня, в среднем $10,6 \pm 2,4$ дня. 91,7% (11 человек) пациентов находились на стационарном лечении.

Трое пациентов принимали антибиотики с целью профилактики бактериальной инфекции, из них только 1 исследовал клеща (на возбудителей КЭ и БЛ), в клеще были обнаружены оба возбудителя. Пациент, у которого были выявлены в клеще эрлихии антибиотики не принимал. В

то время как пациент, у которого в крови была обнаружена эрлихия с целью антибиотикопрофилактики принимал антибиотик доксициклин (клещ на эрлихии не исследовался), у данного больного серологическое исследование крови на наличие IgM и IgG в 2017 г. не проводилось.

Клинико-лабораторные проявления МЭЧ. В нашем исследовании в группе пациентов с микст-инфекцией МЭЧ в 91,7% случаях (11 человек) заболевание началось остро с подъема температуры до субфебрильных 37,0-37,9⁰С (18,2%, 2 человека) и фебрильных цифр 38,0-39,7⁰С (81,8%, 9 человек).

Длительность лихорадочного периода в группе пациентов с микст-инфекцией МЭЧ колебалась от 1 до 3 дней, в среднем 2,5±0,9 дня. У пациента, у которого в крови была выявлена эрлихия методом ПЦР, зарегистрирована двухволновая лихорадка. Данному пациенту по результатам исследования был поставлен диагноз «микст-инфекция: Болезнь Лайма, безэритемная форма. Клещевой эрлихиоз».

Лихорадка с ознобом была отмечена у 2 пациентов (18,2%). У 16,7% (2 человека) пациентов с МЭЧ встречалась головная боль. Головокружение наблюдалось у 1 пациента (8,3%), слабость – в 33,3% (у 4 больных). Частота регистрации клинических симптомов у пациентов с микст-инфекцией МЭЧ представлена в Таблице 91.

Таблица 91 – Частота регистрации клинических симптомов при микст-инфекции МЭЧ

Симптом заболевания	Микст-инфекция МЭЧ	
	абс.	%
Лихорадка	11	91,7
Озноб	2	16,7
Головная боль	2	16,7
Головокружение	1	8,3
Общая слабость	4	33,3
Обложенность языка	0	0,0
Першение в горле	0	0,0
Тошнота	3	25,0
Рвота	2	16,7
Диарея	0	0,0
Боли в поясничной области	0	0,0
Боли в животе	0	0,0
Эритема	4	25,0
Регионарная лимфаденопатия	0	0,0
Генерализованная лимфаденопатия	0	0,0
Миалгии	1	8,3
Артралгии	2	16,7
Менингеальные симптомы	0	0,0
Проба Ромберга	1	8,3
Нистагм	1	8,3
ЧСС > 80 уд в мин	1	8,3

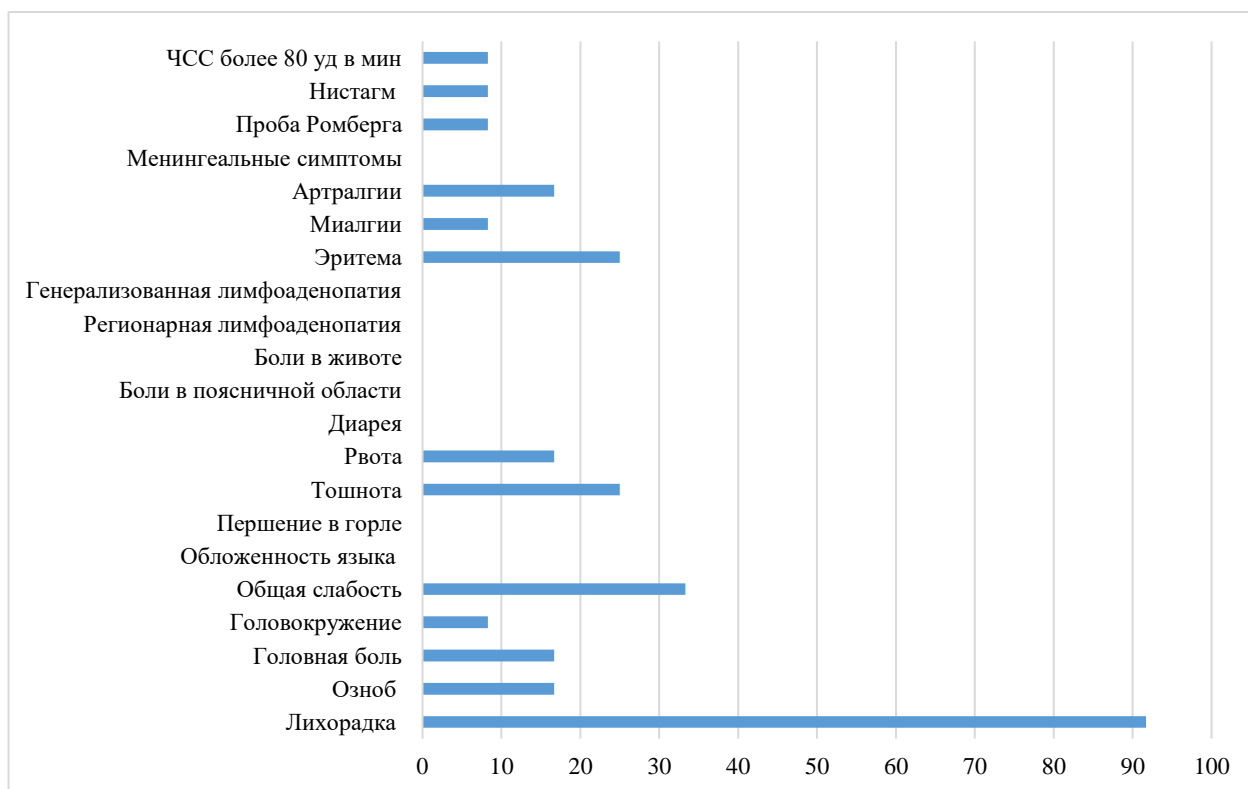


Рисунок 137 – Частота регистрации клинических симптомов у больных с микст-инфекцией МЭЧ

У всех больных исследовались общий анализ крови и мочи. У большей части больных проводился биохимический анализ крови с определением уровня печеночных ферментов – АЛТ (83,3%, 10 человек), АСТ (8,3%, 1 человек), общего билирубина (41,7%, 5 человек), креатинина (50,0%, 6 человек), С-реактивного белка (33,3%, 4 человек) и глюкозы (83,3%, 10 человек). В крови наблюдались умеренный лейкоцитоз у 16,7% пациентов (2 человека), лейкопения у 16,7% пациентов (2 человека), сдвига лейкоцитарной формулы влево у пациентов с МЭЧ не наблюдалось, тромбоцитопения в 8,3% (1 человек), повышение СОЭ (до 31 мм в час) в 55,6% (5 человек), повышение АЛТ (до 62,4 ммоль/л) в 10,0% (1 человек), повышение АСТ (до 45,9 ммоль/л) в 100,0% случаев (1 человек) (Таблица 92).

В моче отмечались изменения у 66,7% больных (6 человек), среди них у 44,4% была выявлена гипостенурия, у 22,2% – гиперстенурия, у 42,9% – лейкоцитурия, у 11,1% – протеинурия.

Таблица 92 – Лабораторные показатели у обследованных пациентов с моно- и микст-инфекцией МЭЧ

Показатель	МЭЧ		P
	абс.	%	
Лейкоцитоз	2	16,7	0,99
Лейкопения	2	16,7	
Тромбоцитопения	1	8,3	0,99
Тромбоцитоз	0	0,0	
Повышение АЛТ	1	10,0	
Повышение АСТ	1	100,0	
Повышение СОЭ	5	55,6	
Повышение С-реактивного белка	2	50,0	
Повышение общего билирубина	0	0,0	
Повышение креатинина	0	0,0	
Повышение глюкозы	1	10,0	
Гранулоцитоз	2	16,7	0,48
Агранулоцитоз	0	0,0	
Увеличение палочкоядерных нейтрофилов	0	0,0	
Лимфоцитоз	4	33,3	0,64
Лимфоцитопения	2	16,7	
Моноцитоз	2	16,7	0,48
Моноцитопения	0	0,0	

Таким образом, в ходе исследования в 2021 г. было установлено, что в этиологическую структуру инфекционной патологии, экологически связанной с присасыванием клещей рода *Ixodes*, помимо уже известных инфекций для Свердловской области – КЭ, БЛ, БМ – входят новые инфекции – ГАЧ и МЭЧ. Однако, в 10,1% случаев на протяжении всего изученного периода нам не удалось расшифровать этиологию инфекций, передающихся иксодовыми клещами, пациенты были выписаны с диагнозом «Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими». ВЛПЧ наиболее часто встречалась в группе мужчин среднего возраста. Преобладающим механизмом передачи (94,5%) неустановленных этиологических агентов был трансмиссивный механизм. Длительность присасывания клещей в большинстве случаев (81,7%) не превышала одни сутки. Средний инкубационный период составил $10,3 \pm 8,1$ день, причем он статистически достоверно отличался только от инкубационного периода при моноинфекции БМ. Длительность лечения пациентов с ВЛПЧ в стационаре составила $11,9 \pm 4,1$ дня. Во всех случаях заболевание начиналось остро с подъема температуры и других симптомов интоксикации (головная боль, общая слабость, миалгии, артралгии, тахикардия и др.). В анализе крови достоверно чаще выявлялись тромбоцитопения и моноцитоз. ГАЧ одинаково часто встречался как среди мужчин, так и среди женщин среднего и старшего возраста, и наиболее часто в сочетании с БЛ-ЭФ. Всего было выявлено 7 случаев моноинфекции ГАЧ в 2021 г., что позволило расшифровать ретроспективно 7 случаев ВЛПЧ. В 89,0% случаев передача возбудителя происходила при присасывании иксодовых клещей, при этом длительность присасывания не превышала одних суток в 72,0% случаев. Инкубационный период при моноинфекции ГАЧ был немного длиннее,

чем при микст-инфекции, и составил $15,8 \pm 9,4$ дня и $14,1 \pm 8,9$ дней соответственно, однако статистических различий выявлено не было ($p = 0,63$). Длительность лечения в стационаре при моноинфекции ГАЧ в среднем составила $9,0 \pm 3,7$ дней, при микст-инфекции – $10,5 \pm 1,8$ дня (статистического различия не наблюдалось, $p = 0,58$). Следует отметить, что среди клинических симптомов в группе пациентов с моно- и микст-инфекцией ГАЧ статистически достоверно отличался только такой симптом как головокружение, который наиболее часто встречался при моноинфекции. В одном случае моноинфекции ГАЧ наблюдались менингеальные симптомы. Менингеальные симптомы при микст-инфекции ГАЧ могли быть обусловлены сочетанием с другими клещевыми инфекциями. Среди лабораторных показателей крови статистически достоверно в группе пациентов с моноинфекцией ГАЧ по сравнению с микст-инфекцией встречались гранулоцитоз и лимфоцитопения. В 2021 г. в ходе исследования случаи моноинфекции МЭЧ выявлены не были, все случаи были сочетанными с какой-либо другой клещевой инфекцией. Однако, при анализе клинико-эпидемиологических и лабораторных показателей следует отметить, что случаи МЭЧ встречались как среди женщин, так и среди мужчин среднего и старшего возраста, все пациенты отмечали факт присасывания клеща, инкубационный период в среднем составил $16,0 \pm 8,5$ дней, а период лечения в стационаре – $10,6 \pm 2,4$ дня, более чем в 90% случаев заболевание началось остро, проявляясь симптомами интоксикации, среди показателей крови достоверных отличий выявлено не было.

Кроме описанных, генетического материала других этиологических агентов или специфических антител к ним выявлено не было.

7.5. Сравнительная характеристика эпидемиологических, клинических и лабораторных проявлений клещевого энцефалита (лихорадочная форма), болезни Лайма, боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi*, моноцитарного эрлихиоза человека, гранулоцитарного анаплазмоза человека, микст-форм заболеваний

В связи со сходством эпидемиологических данных, природно-экологических условий Свердловской области, как показали проведенные нами исследования, КЭ и особенно его наиболее распространенная лихорадочная форма требует дифференциальной диагностики с лихорадочными состояниями как минимум при изученных нами клещевых инфекциях, таких как БЛ (особенно безэритемная форма), БМ, МЭЧ и ГАЧ.

Результаты этого раздела основаны на ретроспективном анализе основных эпидемиологических и клинико-лабораторных данных, полученных в первые дни болезни при госпитализации пациента, или амбулаторном лечении. Сравнительная характеристика по этим

данным проводилась между больными лихорадочной формой КЭ, эритемной и безэритемной формами БЛ, БМ, МЭЧ и ГАЧ как при моно-, так и при микст-инфекции. Как ранее было сказано, диагноз подтверждался методами ПЦР (КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ, МЭЧ) и серологической диагностики: ИФА –КЭ, БЛ (ранняя локализованная, ранняя диссеминированная и поздняя диссеминированная стадии), БМ, ГАЧ, МЭЧ; иммуноблот – БЛ; планарный белковый биочип – для дифференциальной диагностики БЛ и БМ. В Таблицах 93, 94 и 95 представлены сравнительные результаты эпидемиологических, клинических и лабораторных показателей как моноинфекций (лихорадочная форма КЭ, БЛ-ЭФ, БЛ-БЭФ, ВЛПЧ, ГАЧ), так и наиболее распространенных микст-инфекций (БЛ-ЭФ+ГАЧ, БЛ-БЭФ+КЭ, БЛ-ЭФ+КЭ, БМ+КЭ, БМ+БЛ-ЭФ, БЛ-БЭФ+ГАЧ, БМ+ГАЧ, БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ, КЭ+ГАЧ).

Таблица 93 – Сравнительная характеристика наиболее часто встречающихся эпидемиологических показателей при моно и микст-инфекциях у обследованных больных

Эпидемиологические показатели	Моноинфекции							Микст-инфекции							
	КЭ, лихорадочная форма (количество=57)	БЛ-ЭФ (количество=274)	БЛ-БЭФ (количество=184)	БМ (количество=206)	ВЛПЧ (количество=109)	ГАЧ (количество=7)	БЛ-ЭФ+ГАЧ (количество=55)	БЛ-БЭФ+КЭ (количество=53)	БМ+КЭ (количество=22)	БЛ-ЭФ+КЭ (количество=18)	БМ+БЛ-ЭФ (количество=12)	БЛ-БЭФ+ГАЧ (количество=11)	БМ+ГАЧ (количество=5)	БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ (количество=4)	КЭ+ГАЧ (количество=4)
	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%
Возраст (среднее значение)*	45±15*	59±31	47±18*	54±17	48±18*	48±22	59±13	46±18*	58±17	52±15	63±16	56±18	50±14	60±15	52±11
Пол мужчины: женщины	40/ 70,2: 17/29,8*	137/50,0: 137/50,0	74/40,2: 110/59,8*	122/59,2: 84/40,8*	70 (64,2%): 39 (35,8%)*	4/57,1: 3/42,9	27/49,1: 28/50,9	24/45,3: 29/54,7	14 /63,6: 8/36,4	11/61,1: 7/38,9	6/50,0: 6 50,0	4/36,4: 7/63,6	4/80,0: 1/20,0	0/0,0: 4/100,0*	2/50,0: 2/50,0
Трансмиссивный механизм	51/89,5	259/94,5	154/83,7	197/95,6	103/94,5	7/100	46/83,6	41/77,4	21/95,5	16/88,9	12/100,0	10/90,9	5/100,0	4/100,0	3/75,0
Лес, сад, парк	24 (42,1)/22 (38,6)/11 (19,3)	104 (38,0)/119 (43,4)/51 (18,6)	82 (44,6)/75 (39,1)/27 (14,7)	79 (38,4)/82 (39,8)/45 (21,8)	57 (52,3)/37 (33,9)/15 (13,8)	1 (14,3)/5 (71,4)/1 (14,3)	13 (24,6)/21 (38,2)/21 (38,2)	20 (37,7)/23 (43,4)/10 (18,9)	11 (50,0)/10 (45,5)/1 (4,5)	5 (27,8)/10 (55,6)/3 (16,7)	5 (41,7)/5 (41,7)/2 (16,7)	4 (36,4)/7 (63,6)/0 (0,0)	2 (40,0)/1 (20,0)/2 (40,0)	1 (25,0)/2 (50,0)/1 (25,0)	0/2 (50,0)/2 (50,0)
Локализация присасывания клеща: верхние конечности/нижние конечности/живот	12 (23,5)/12 (23,5)/7 (13,7)	50 (18,2)/57 920,8)/42 (15,3)	19 (10,3)/35 (19,0)/26 (14,1)	33 (16,0)/42 (20,4)/31 (15,0)	19 (18,4)/24 (23,3)/14 (13,6)	1 (14,3)/3 (42,9)/0 (0,0)	9 (16,2)/11 (20,0)/8 (14,5)	6 (11,3)/6 (11,3)/6 (11,3)/	8 (36,4)/2 (9,1)/5 (22,7)	1 (5,6)/3 (16,7)/1 (5,6)	2 (16,7)/1 (8,3)/2 (16,7)	2 (18,2)/2 (18,2)/1 (9,1)	1 (20,0)/2 (40,0)/1 (20,0)	1 (25,0)/2 (50,0)/0	0/1 (25,0)/0
Длительность присасывания клеща (не более суток)	43/75,4	152/55,5*	139/75,5	152/73,8	89/81,7	3/42,3	41/74,5	46/86,8	17/77,3	10/55,6	6/50,0	8/72,7	4/80,0	4/100,0	3/75,0
День обращения (среднее значение)**	8,8±13,3	9,0±10,6	8,2±9,5	3,1±4,1*	4,7±6,4*	3,9±4,4	8,4±8,0	8,5±9,3	3,9±6,3*	11,4±17,1	4,1±4,2*	17,5±20,7	6,6±5,7	8,3±4,7	7,5±4,0
Инкубационный период (среднее значение)**	12,8±11,3	11,9±7,2*	14,3±11,2	15,7±5,8	11,4±8,5*	15,8±9,4	12,5±6,8	10,4±8,1*	12,9±5,8	13,1±8,1	11,9±6,4	15,2±12,1	19,2±10,1	14,3±3,6	16,7±19,4
Длительность пребывания в стационаре (среднее значение)**	14,2±6,0	11,2±2,0*	13,0±4,5	13,7±4,3	11,9±4,4*	9,0±3,7	10,4±1,8*	15,8±7,1*	14,7±2,6	14,5±6,7	12,0±2,0	10,3±0,4	10,8±0,8	10,0±0,0	13,3±1,2

Примечание: *статистически значимые различия ($p < 0,05$); **среднее значение рассчитывалось как среднее арифметическое±стандартное отклонение.

Таблица 94 – Сравнительная характеристика клинических симптомов при моно и микст-инфекциях у обследованных больных

Клинические показатели	Моноинфекции						Микст-инфекции									
	КЭ, лихорадочная форма (количество=57)	БЛ-ЭФ (количество=274)	БЛ-БЭФ (количество=184)	БМ (количество=206)	ВЛПЧ (количество=109)	ГАЧ (количество=7)	БЛ-ЭФ+ГАЧ (количество=55)	БЛ-БЭФ+КЭ (количество=53)	БМ+КЭ (количество=22)	БЛ-ЭФ+КЭ (количество=18)	БМ+БЛ-ЭФ (количество=12)	БЛ-БЭФ+ГАЧ (количество=11)	БМ+ГАЧ (количество=5)	БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ (количество=4)	КЭ+ГАЧ (количество=4)	
	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	абс. /%	
Лихорадка (38°C и более)	32/56,1*	83/30,3	83/45,1*	188/91,3*	79/64,2*	2/28,6	9/16,3	31/58,5*	20/90,9*	6/33,3*	9/75,0*	2/18,2	5/100,0*	1/25,0	2/50,0	
Длительность лихорадки (среднее значение)**	3,6±2,7	3,3±1,2	3,5±1,6	3,3±1,0	3,5±2,0	3,5±0,5	2,6±0,5	3,5±1,7	3,2±0,8	4,2±1,8	2,9±0,9	3,0±0,0	2,8±1,2	2	2,0±0,0	
Озноб	19/33,3*	32/11,7	29/15,8	75/36,4*	19/17,4	1/14,3	1/1,8	9/17,0	3/13,6	3/16,7	4/33,3	1/4,5	0/0,0	0/0,0	1/25,0	
Головная боль	36/63,2*	96/35,0*	96/52,2*	150/72,8*	51/46,8*	1/14,3	5/9,1	41/77,4*	18/81,8*	9/50,0	7/58,3	3/27,3	2/40,0	0/0,0	3/75,0	
Головокружение	4/7,0	29/10,6	22/12,0	35/17,0	15/13,8	1/14,3	1/1,8	9/17,0	7/31,8*	3/16,7	2/16,7	1/4,5	0/0,0	1/25,0	2/25,0	
Общая слабость	49/86,0*	171/62,4	142/77,2*	187/90,8*	85/78,0*	4/57,1	16/29,1	39/73,6*	22/100,0*	13/72,2*	11/91,7*	7/58,3	3/60,0	0/0,0	3/75,0	
Обложенность языка	11/19,3*	10/3,6	15/8,2	49/23,8*	19/17,4*	0/0,0	0/0,0	7/13,2	0/0,0	1/5,6	1/8,3	0/0,0	1/20,0	0/0,0	0/0,0	
Першение в горле	1/1,8	2/0,7	10/5,4	8/3,9	3/2,8	0/0,0	0/0,0	1/1,9	0/0,0	0/0,0	1/8,3	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Эритема	0/0,0	274/100,0*	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	55/100,0*	0/0,0	0/0,0	18/100,0*	12/100,0*	0/0,0	0/0,0	4/100,0*	0/0,0	
Тошнота	2/3,5	16/5,8	26/14,1	50/24,3*	8/7,3	1/14,3	1/1,8	10/18,9	4/18,2	1/5,6	4/33,3	1/4,5	1/20,0	0/0,0	0/0,0	
Рвота	4/7,0	4/1,5	12/6,5	21/10,2*	4/3,7	1/14,3	0/0,0	6/11,3	3/16,7	0/0,0	3/25,0*	0/0,0	1/20,0	0/0,0	0/0,0	
Диарея	4/7,0*	3/1,1	2/1,1	2/1,0	1/0,9	0/0,0	0/0,0	2/3,8	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Боли в поясничной области	2/3,5	3/1,1	3/1,6	5/2,4	0/0,0	0/0,0	1/1,8	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/4,5	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Боли в животе	0/0,0	2/0,7	1/0,5	3/1,5	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Регионарная лимфаденопатия	1/1,8	16/5,8	8/4,3	2/1,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	2/11,1	1/8,3	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Генерализованная лимфаденопатия	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/0,5	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/1,9	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Артралгии	4/7,0	23/8,4	38/20,7*	20/9,7	15/13,8	0/0,0	0/0,0	10/18,9	2/9,1	0/0,0	1/8,3	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Миалгии	10/17,5	48/17,5	57/31,0	88/42,7*	29/26,6	1/14,3	6/10,9	12/22,6	7/31,8	4/22,2	6/50,0	0/0,0	1/20,0	0/0,0	0/0,0	
Менингеальные симптомы***	0/0,0	0/0,0	3/1,6	8/3,9	3/2,8	1/14,3	0/0,0	10/18,9	3/13,6	1/5,6	1/8,3	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/25,0	
Проба Ромберга +	6/15,8	30/14,9	28/18,4	23/21,5	15/15,3	0/0,0	2/4,1	7/17,1	2/25,0	4/22,2	1/20,0	3/27,3	1/20,0	0/0,0	2/50,0	
Нистагм +	2/4,9	17/8,3	17/10,7	9/8,0	9/9,1	0/0,0	0/0,0	6/13,3	1/12,5	1/5,6	0/0,0	1/4,5	0/0,0	0/0,0	1/25,0	
ЧСС > 80 уд в мин	19/33,3	62/22,6	40/21,7	118/57,3*	27/24,8	1/14,3	7/12,7	13/24,5	12/54,5*	5/27,8	7/58,3	2/18,2	0/0,0	0/0,0	0/0,0	

Примечание: *статистически значимые различия ($p < 0,05$); **среднее значение рассчитывалось как среднее арифметическое±стандартное отклонение; ***менингеальные симптомы обусловлены менингеальной или менингоэнцефалитической формами КЭ.

Таблица 95 – Сравнительная характеристика лабораторных показателей при моно и микст-инфекциях у обследованных больных

Лабораторные показатели	Моноинфекции						Микст-инфекции									
	КЭ, лихорадочная форма	БЛ-ЭФ	БЛ-БЭФ	БМ	ВЛПЧ	ГАЧ	БЛ-ЭФ+ГАЧ	БЛ-БЭФ+КЭ	БМ+КЭ	БЛ-ЭФ+КЭ	БМ+БЛ-ЭФ	БЛ-БЭФ+ГАЧ	БМ+ГАЧ	БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ	КЭ+ГАЧ	
																абс. /%
Лейкоцитоз	25/28,1*	24/9,7	22/12,8*	8/3,9	18/18,6	1/25,0	0/0,0	8/15,4	1/4,6	3/16,7	0/0,0	1/11,1	1/25,0	0/0,0	0/0,0	
Лейкопения	9/10,1	12/4,7	19/11,1	72/35,1*	18/18,6*	1/25,0	3/7,5	6/11,5	5/22,7	2/11,1	7/58,3*	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Тромбоцитопения	11/12,5	18/7,0	26/15,2	95/46,8*	13/14,1	0/0,0	3/25,0	4/7,7	6/28,6	0/0,0	3/25,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Тромбоцитоз	0/0,0	6/2,3	6/3,5	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/1,9	0/0,0	1/5,6	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Повышение АЛТ	13/15,5	45/18,6	33/20,3	108/53,5*	22/25,6	0/0,0	7/12,7	6/12,2	7/31,8	3/16,7	7/63,6*	2/25,0	1/33,3	0/0,0	0/0,0	
Повышение АСТ	6/20,0	32/37,7	20/37,0	81/69,8*	12/37,5	0/0,0	8/100,0	2/10,5	8/53,3*	3/60,0	8/100,0*	2/66,7	ни	ни	ни	
Повышение СОЭ	33/39,8	157/63,1*	77/48,4	100/52,6	41/50,0	1/50,0	9/75,0	23/48,0	8/36,4	12/66,7	9/75,0	4/66,7	2/66,7	1/50,0	0/0,0	
Повышение С-реактивного белка	23/57,5	36/70,6*	30/42,3	87/98,9*	42/63,6	1/33,3	3/100,0	8/38,1	7/100,0*	8/88,9	3/100,0	3/50,0	3/75,0	ни	0/0,0	
Повышение общего билирубина	4/5,2	19/8,1	6/4,1	25/12,8	8/10,3	0/0,0	0/0,0	4/8,5	0/0,0	2/11,8	0/0,0	1/14,3	0/0,0	0/0,0	1/50,0	
Повышение креатинина	3/7,9	0/0,0	1/2,1	5/8,9	3/7,0	0/0,0	1/20,0	0/0,0	1/12,5	0/0,0	1/20,0	0/0,0	ни	0/0,0	0/0,0	
Повышение глюкозы	25/30,1	48/19,2	32/19,9	68/34,2*	14/16,3	0/0,0	4/36,3	8/17,0	3/15,0	4/22,2	4/36,4	4/44,4	1/33,3	1/100,0	0/0,0	
Гранулоцитоз	27/30,4*	19/7,4	16/9,4	51/25,1*	12/12,6	2/50,0	2/16,7	10/19,2*	5/22,7	0/0,0	2/16,7	0/0,0	2/50,0	0/0,0	0/0,0	
Агранулоцитоз	4/4,5	16/6,2	25/14,7	25/12,3	8/8,4	1/25,0	2/16,7	3/5,8	3/13,6	1/5,6	2/16,7	1/11,1	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Увеличение палочкоядерных нейтрофилов	6/9,0	18/7,6	20/13,3*	73/38,4*	7/8,9	0/0,0	4/33,3	1/2,2	7/31,8	0/0,0	4/33,3	0/0,0	0/0,0	ни	0/0,0	
Лимфоцитоз	11/12,5	55/21,4	59/34,7*	23/11,3	17/17,7	1/25,0	2/16,7	12/23,1	3/13,6	0/0,0	2/16,7	2/22,2	2/50,0	0/0,0	0/0,0	
Лимфоцитопения	19/21,6	20/7,8	16/9,41	74/36,3*	10/10,4	2/50,0	2/16,7	10/19,2	8/36,4*	0/0,0	2/16,7	0/0,0	1/25,0	0/0,0	0/0,0	
Моноцитоз	5/5,7	11/4,3	15/8,8	22/10,8	13/13,5	0/0,0	3/25,0	3/5,8	3/13,6	4/22,2	3/25,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	
Моноцитопения	10/11,4	5/2,0	8/4,7	27/13,3*	3/3,1	0/0,0	0/0,0	5/9,6	6/28,6	0/0,0	0/0,0	0/0,0	0/0,0	1/50,0	0/0,0	

Примечание: * статистически значимые различия ($p < 0,05$); ни – не исследовался.

Таким образом, в ходе исследования проведена сравнительная оценка эпидемиологических, клинических и лабораторных показателей, которые наиболее часто встречаются при той или иной трансмиссивной клещевой инфекции, и которые следует учитывать при постановке диагноза. При анализе эпидемиологических показателей, таких как возраст, пол, механизм, место заражения (лес, сад или парк), локализация (место укуса), длительность присасывания клеща (не более суток), день обращения за медицинской помощью, инкубационный период и длительность пребывания в стационаре, выявлено, что возраст заболевших КЭ (лихорадочная форма) достоверно отличается от возраста заболевших БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,0008$), БМ+БЛ-ЭФ ($p = 0,05$), т.е. средний возраст заболевших КЭ (45 ± 15) ниже, чем при перечисленных инфекциях; также статистически достоверно отличается возраст заболевших БЛ-ЭФ (59 ± 31) от больных с БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), БМ ($p = 0,05$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$); возраст БЛ-БЭФ статистически достоверно отличается от возраста заболевших БМ ($p = 0,02$) и БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,0003$); возраст больных ВЛПЧ отличается от больных с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,002$), возраст больных БЛ-ЭФ+ГАЧ от возраста больных БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,048$). Установлено, что статистически чаще в группе пациентов с КЭ (лихорадочная форма) болеют мужчины ($p < 0,0001$), в группе БЛ-БЭФ – женщины ($p = 0,0003$), в группе БМ и ВЛПЧ – мужчины ($p = 0,0003$ и $p < 0,0001$, соответственно), в группе БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ среди заболевших были только женщины ($p = 0,03$), в других группах больных достоверных различий выявлено не было. Достоверные различия были выявлены в длительности присасывания клеща (менее суток) в группе пациентов с БЛ-ЭФ по сравнению с БЛ-БЭФ ($p = 0,0002$), БМ ($p = 0,0008$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$) и БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,0003$). Пациенты с БЛ-ЭФ только в 55,5% случаев указывали на присасывание менее суток, в других группах этот процент был выше. Пациенты с БМ достоверно чаще раньше обращались за медицинской помощью по сравнению с группами пациентов с КЭ (лихорадочная форма) ($p = 0,003$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,016$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,01$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$); пациенты с ВЛПЧ раньше обращались за медицинской помощью БЛ-ЭФ ($p = 0,0046$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,001$), а пациенты с БЛ-БЭФ+ГАЧ достоверно статистически реже по сравнению с пациентами с БМ+КЭ ($p = 0,006$) и БМ+БЛ-ЭФ ($p = 0,04$). Инкубационный период у пациентов с БМ был статистически достоверно длиннее, чем при БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p = 0,001$) и БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,01$). Длительность пребывания в стационаре пациентов с БЛ-ЭФ+ГАЧ была достоверно статистически короче по сравнению с БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БМ+КЭ ($p = 0,0002$), БЛ-ЭФ+КЭ ($p = 0,002$), а у пациентов с БЛ-БЭФ+ГАЧ по сравнению с БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,004$).

Среди клинических симптомов лихорадка (более 38°C) достоверно чаще встречалась в группе пациентов с КЭ (лихорадочная форма) по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,004$), БМ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$); в группе пациентов с БЛ-ЭФ лихорадка встречалась достоверно

статистически реже по сравнению с БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), БМ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,002$), БМ+КЭ ($p < 0,0001$), БМ+ГАЧ ($p = 0,03$), БМ+БЛ-ЭФ ($p = 0,04$). В группе пациентов с БЛ-БЭФ статистически достоверно реже по сравнению с БМ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,0016$), БМ+КЭ ($p = 0,003$). В группе пациентов с БМ лихорадка чаще встречалась по сравнению с группами больных с ВЛПЧ ($p = 0,02$), ГАЧ ($p = 0,01$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+КЭ ($p < 0,0001$). В группе пациентов с ВЛПЧ статистически достоверно чаще встречалась по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+КЭ ($p = 0,03$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,007$). В группе пациентов с БЛ-ЭФ+ГАЧ лихорадка реже встречалась по сравнению с БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БМ+КЭ ($p < 0,0001$), БМ+БЛ-ЭФ ($p = 0,002$), БМ+ГАЧ ($p = 0,004$). В группе пациентов с БМ+КЭ статистически достоверно чаще встречалась по сравнению с БЛ-ЭФ+КЭ ($p = 0,003$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,0006$), а в группе с БМ+ГАЧ – по сравнению с группой больных с БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,04$). Достоверных различий в длительности лихорадки во всех группах больных выявлено не было. Озноб достоверно чаще встречался в группе больных с КЭ (лихорадочная форма) по сравнению с группой больных с БЛ-ЭФ ($p = 0,009$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,001$) и чаще в группе пациентов с БМ по сравнению с группами с БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p = 0,003$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$). Головная боль чаще встречалась в группе больных с КЭ (лихорадочная форма) по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,003$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,03$); в группе пациентов с БЛ-ЭФ головная боль реже встречалась по сравнению с группами с БЛ-БЭФ ($p = 0,09$), БМ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,01$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БМ+КЭ ($p = 0,0006$); в группе пациентов с БЛ-БЭФ реже чем при БМ ($p = 0,0012$), но чаще, чем при БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$) и БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,04$); в группе с БМ достоверно чаще по сравнению с группами с ВЛПЧ ($p = 0,0003$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,001$); в группе с ВЛПЧ достоверно чаще по сравнению с группами с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,0001$) и БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,008$); в группе пациентов с БЛ-ЭФ+ГАЧ реже чем в группе пациентов с БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$) и БМ+КЭ ($p < 0,0001$); в группе пациентов с БЛ-БЭФ+КЭ чаще, чем при БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ ($p = 0,001$); в группе БМ+КЭ чаще по сравнению с БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,002$). Головокружение достоверно чаще было обнаружено в группе пациентов с БМ+КЭ по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,03$). Общая слабость была чаще выражена в группе пациентов с КЭ (лихорадочная форма) по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,007$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ ($p = 0,006$): реже в группе пациентов с БЛ-ЭФ по сравнению с БЛ-БЭФ ($p = 0,01$), БМ ($p < 0,0001$), БМ+КЭ ($p = 0,004$), но чаще по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$); в группе пациентов с БЛ-БЭФ общая слабость встречалась чаще, чем при БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ ($p = 0,02$); в группе пациентов с БМ чаще по сравнению с группами БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$) и БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ ($p = 0,001$); при ВЛПЧ чаще, чем при БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$) и БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ ($p = 0,02$); при БЛ-ЭФ+ГАЧ реже,

чем при БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БМ+КЭ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+КЭ ($p = 0,011$), БМ-БЛ-ЭФ ($p = 0,0002$); при БЛ-БЭФ+КЭ чаще по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ ($p = 0,05$); при БМ+КЭ чаще, чем при БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ ($p = 0,0009$), а при БМ+БЛ-ЭФ чаще, чем при БЛ-ЭФ+ГАЧ+МЭЧ ($p = 0,01$). Обложенность языка достоверно чаще встречалась при КЭ (лихорадочная форма) по сравнению с группой пациентов с БЛ-ЭФ ($p = 0,03$); реже при БЛ-ЭФ по сравнению с БМ ($p < 0,0001$) и ВЛПЧ ($p = 0,006$); в группе пациентов с БМ чаще по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$) и БМ+КЭ ($p = 0,04$). На тошноту достоверно чаще жаловались пациенты с БМ по сравнению с КЭ ($p = 0,0015$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p = 0,0008$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,0004$). Рвота чаще встречалась в группах пациентов с БМ, как моно-, так и микст-инфекциями: БМ по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,004$), БМ+БЛ-ЭФ по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,04$), БМ+БЛ-ЭФ по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,05$). На диарею чаще жаловались пациенты с КЭ (лихорадочная форма) по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,04$) и БМ ($p = 0,04$). Артралгии достоверно чаще встречались в группе пациентов с БЛ-БЭФ по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,003$), БМ ($p = 0,04$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,002$). Миалгии наиболее часто встречались в группе пациентов с БМ по сравнению с КЭ (лихорадочная форма) ($p = 0,008$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,0001$). Менингеальные симптомы в группах с микст-инфекцией КЭ были связаны с менингеальной или менингоэнцефалитической формами заболеваний, таким образом чаще встречались в группе пациентов с БЛ-БЭФ+КЭ и БЛ-ЭФ+КЭ по сравнению с КЭ (лихорадочной формой) ($p < 0,0001$ и $p = 0,0002$, соответственно); в группе с БЛ-БЭФ+КЭ по сравнению с БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$); в группах БЛ-БЭФ+КЭ, БМ+КЭ, БЛ-ЭФ+КЭ по сравнению с БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$, $p = 0,0002$, $p < 0,0001$, соответственно); в группах пациентов с БЛ-БЭФ+КЭ и БЛ-ЭФ+КЭ по сравнению с БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$ и $p = 0,0002$, соответственно); в группах БЛ-БЭФ+КЭ и БЛ-ЭФ+КЭ по сравнению с БМ ($p < 0,0001$ и $p = 0,002$, соответственно); в группах БЛ-БЭФ+КЭ и БЛ-ЭФ+КЭ по сравнению с ВЛПЧ ($p < 0,0001$ и $p = 0,001$, соответственно); в группах БЛ-БЭФ+КЭ и БЛ-ЭФ+КЭ по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$ и $p = 0,0002$, соответственно). Достоверных различий в группах пациентов по показателям (положительная проба Ромберга и нистагм) отмечено не было. ЧСС более 80 ударов в минуту наиболее часто встречалась в группе пациентов с БМ по сравнению с КЭ (лихорадочная форма) ($p = 0,02$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,002$), а также в группе пациентов с БМ+КЭ по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,01$).

Среди лабораторных показателей лейкоцитоз наиболее часто встречался в группе пациентов с КЭ (лихорадочная форма) по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,0004$), БМ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$); чаще в группе пациентов с БЛ-БЭФ по сравнению с БМ ($p = 0,05$). Лейкопения наиболее часто встречалась в группах пациентов с БМ как при моно-, так и при микст-инфекциях: в группе пациентов с БМ чаще, чем при КЭ (лихорадочная форма) ($p = 0,002$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$),

БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,002$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,01$); в группе пациентов с БМ+БЛ-ЭФ чаще, чем БЛ-ЭФ ($p = 0,01$); в группе ВЛПЧ чаще, чем при БЛ-ЭФ ($p = 0,02$). Тромбоцитопения также чаще встречалась у пациентов с БМ как моно, так и микст-инфекцией: в группе пациентов с БМ чаще, чем при КЭ (лихорадочная форма) ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+ГАЧ ($p = 0,01$). В анализируемых группах больных достоверной разницы по тромбоцитозу выявлено не было. Также в группах больных с БМ (моно- и микст-) отмечалось достоверное повышение АЛТ: чаще в группе пациентов с БМ по сравнению с КЭ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p = 0,01$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,03$); в группе пациентов с БМ+БЛ-ЭФ по сравнению с БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,02$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$); в группе пациентов с БМ+БЛ-ЭФ чаще, чем при КЭ (лихорадочная форма) ($p = 0,03$), БЛ-ЭФ ($p = 0,04$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,02$). Повышение АСТ также отмечалось достоверно чаще среди больных с БМ (моно- или микст-): в группе пациентов с БМ чаще, чем при КЭ (лихорадочная форма) ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p = 0,001$), ВЛПЧ ($p = 0,03$); в группе пациентов с БМ+БЛ-ЭФ чаще по сравнению с КЭ (лихорадочная форма) ($p = 0,001$), БЛ-ЭФ ($p = 0,02$), БЛ-БЭФ ($p = 0,02$), ВЛПЧ ($p = 0,03$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p = 0,0004$). СОЭ достоверно чаще была выше в группе пациентов с БЛ-ЭФ по сравнению с КЭ (лихорадочная форма) ($p = 0,01$). С-реактивный белок достоверно чаще был повышен в группе пациентов с БМ по сравнению с КЭ (лихорадочная форма) ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$), а также в группе БМ+КЭ по сравнению с БЛ-БЭФ ($p = 0,03$); в группе пациентов с БЛ-ЭФ по сравнению с БЛ-БЭФ ($p = 0,02$) и ВЛПЧ ($p = 0,01$). Глюкоза была достоверно повышена в группе пациентов с БМ по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,01$). Гранулоцитоз достоверно чаще встречался в группе пациентов с КЭ (лихорадочная форма) по сравнению с БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$) и БЛ-БЭФ ($p = 0,003$); в группе пациентов с БМ гранулоцитоз чаще встречался в сравнение с группой пациентов с БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p = 0,002$); в группе пациентов с БЛ-БЭФ+КЭ чаще по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,01$). Статистически значимых различий по агранулоцитозу, общему билирубину и креатинину в анализируемых группах выявлено не было. Увеличение палочкоядерных нейтрофилов было отмечено в группе пациентов с БМ по сравнению с КЭ (лихорадочная форма) ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ+КЭ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+КЭ ($p = 0,002$), а также в группе с БЛ-БЭФ по сравнению с ВЛПЧ ($p < 0,0001$). Лимфоцитоз достоверно чаще наблюдался у пациентов с БЛ-БЭФ по сравнению с КЭ (лихорадочная форма) ($p = 0,02$), БЛ-ЭФ ($p = 0,04$), БМ ($p = 0,004$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,007$). Лимфоцитопения достоверно чаще отмечалась в группе пациентов с БМ по сравнению с БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p < 0,0001$), ВЛПЧ ($p < 0,0001$), БЛ-ЭФ+КЭ ($p < 0,0001$); чаще в группе пациентов с БМ+КЭ по сравнению с БЛ-ЭФ ($p = 0,04$). Также в группе пациентов с БМ достоверно чаще встречалась моноцитопения

по сравнению с БЛ-ЭФ ($p < 0,0001$), БЛ-БЭФ ($p = 0,02$), ВЛПЧ ($p = 0,04$), БЛ-ЭФ+ГАЧ ($p = 0,04$). Достоверных различий по моноцитозу в анализируемых группах выявлено не было.

Заключение по главе 7

В ходе многолетнего комплексного исследования, проведенного на территории Свердловской области установлено, что в структуре инфекций, передающихся иксодовыми клещами помимо КЭ и БЛ, представляют эпидемиологическую значимость такие новые инфекции, как БМ, ГАЧ и МЭЧ. Тем не менее около 10% случаев заболеваний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей, остаются нерасшифрованными.

Эпидемиологию клещевых боррелиозов на территории Свердловской области определяют, как боррелии группы *B. burgdorferi* s.l. – *B. garinii* (геновариант NT29), так и боррелии группы *B. miyamotoi* s.l. (азиатский геновариант). Этиологическим агентом КЭ является сибирский подтип вируса КЭ.

Общими эпидемиологическими характеристиками для вышеперечисленных инфекций являются: трансмиссивный механизм передачи возбудителей; преобладание заболеваний в группах лиц среднего и старшего возраста; наибольшее количество случаев заражения возбудителями той или иной клещевой инфекции происходит в подзоне южной предгорной и равнинной тайги в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга; наиболее излюбленные места присасываний иксодовых клещей – верхние и нижние конечности, живот, реже другие области тела; длительность присасывания иксодовых клещей в большинстве случаев составляет не более суток. Различия наблюдаются при заболевании той или иной клещевой инфекцией по половому признаку, так при моноинфекции КЭ, БМ, ВЛПЧ наиболее часто болеют лица мужского пола, а при БЛ-БЭФ – чаще болеют женщины. Варьирует частота инфицирования тем или иным возбудителем при посещении леса, садово-огородного участка или городской лесопарковой зоны. Раньше за медицинской помощью обращаются больные с БМ и ВЛПЧ, в среднем через трое-четыре суток после появления первых симптомов заболевания.

Клиническая симптоматика при инфекциях, передающихся иксодовыми клещами сходна, единственный клинический патогномичный симптом, по которому можно поставить диагноз без лабораторного подтверждения при наличии эпидемиологического анамнеза – мигрирующая эритема в месте присасывания клеща (при эритемной форме БЛ). Все остальные клинические симптомы неспецифичны, однако наиболее выражены симптомы интоксикации при моноинфекции КЭ, БЛ-БЭФ, БМ, ВЛПЧ. Что касается микст-инфекций в том или ином

сочетании, то частота клинических симптомов сильно варьирует. Однако, по результатам наших исследований нельзя сказать, что микст-инфекции протекают тяжелее. Например, при БМ, при котором наиболее часто выражен интоксикационный синдром, в сочетании с другими нозологиями утяжеления течения не установлено.

Принимая в качестве контроля референсные значения, отметим, что, достоверно значимые изменения отмечены в показателях крови пациентов с БМ: лейкопения, тромбоцитопения, лимфоцитопения, моноцитопения, повышение печеночных ферментов (АСТ и АЛТ), С-реактивного белка, глюкозы, гранулоцитоз, увеличение палочкоядерных нейтрофилов; при лихорадочной форме КЭ наблюдается достоверно чаще лейкоцитоз, гранулоцитоз; при БЛ-ЭФ – повышение СОЭ; при БЛ-БЭФ – лимфоцитоз, увеличение палочкоядерных нейтрофилов (по сравнению с ВЛПЧ); при ВЛПЧ лейкопения достоверно чаще встречается по сравнению с группой пациентов с БЛ-ЭФ. Остальные изменения показателей крови статистически не достоверны.

Таким образом, диагностика вышеперечисленных заболеваний может основываться на комплексе клинико-эпидемиологических данных, показателей лабораторной диагностики, а подтверждение диагноза должно проводиться только с учетом серологических и молекулярно-биологических методов исследования.

ГЛАВА 8. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПЕРЕДАЮЩИХСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ

8.1. Специфическая лабораторная диагностика клещевого энцефалита, болезни Лайма, моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза человека

Специфическая лабораторная диагностика КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ включала в себя молекулярно-генетическое исследование биоматериала (кровь, СМЖ) методом ПЦР-РРВ с помощью разработанной нами и зарегистрированной мультиплекс тест-системы «АмплиСенс® TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/09026 от 22.02.2019), а также серологическое исследование методом ИФА для выявления IgM и IgG к возбудителям вышеперечисленных заболеваний с помощью коммерческих тест-систем согласно инструкциям производителей (Anti-TBE Virus ELISA (IgM), Anti-TBE Virus ELISA (IgG) – производитель Euroimmun AG, Германия; ВектоВКЭ-IgM, ВектоВКЭ-IgG – производитель АО Вектор-Бест, Новосибирск; Anti-Borrelia afzelii/Anti-VlsE/Anti-Borrelia burgdorferi/Anti-OspC ИФТ (IgM), Anti-Borrelia afzelii/Anti-VlsE/Anti-Borrelia burgdorferi/Anti-OspC ИФТ (IgG) – производитель Euroimmun AG, Германия; Лайм-Бест-IgM, Лайм-Бест-IgG – производитель АО Вектор-Бест, Новосибирск; МЭЧ-ИФА-IgM, МЭЧ-ИФА-IgG, ГАЧ-ИФА-IgM, ГАЧ-ИФА-IgG – производитель «Омникс», Санкт-Петербург). Кроме того, в ряде случаев для подтверждения результатов ИФА для диагностики БЛ использовался иммуноблот (Anti-Borrelia EUROLINE-WB (IgM), Anti-Borrelia EUROLINE-WB (IgG) – производитель Euroimmun AG, Германия). Кровь от пациентов забиралась, как правило, в первые двое суток поступления в стационар или обращения за медицинской помощью на амбулаторном этапе, затем через 10-14 дней (зачастую перед выпиской) для исследования сывороток крови в динамике. Трехкратное обследование значительно повышало чувствительность серологической диагностики. В 2021 г. с целью дифференциальной диагностики БЛ и БМ был применен разработанный белковый планарный биочип у пациентов с эритемной и безэритемной формами БЛ. Также 2021 г. мы провели исследование сывороток крови от пациентов в динамике на специфические антитела к риккетсиям с помощью ИФА тест-системы «Rickettsia conorii ELISA IgG/IgM» (Viracell, Испания). Все серологические исследования проводились согласно прилагаемым инструкциям к наборам реагентов.

Взятие крови и ее исследование методом ПЦР проводилось в первые 1-2 дня поступления пациента на стационарное, либо амбулаторное лечение в ООО МО «Новая больница» г.

Екатеринбурга. Исследование методом ПЦР на РНК/ДНК возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ проводилось в 2009-2010 гг., 2017 г. и 2021 г. Таким образом методом ПЦР-РРВ была исследована кровь на ту или иную клещевую инфекцию от 528 человек. СМЖ была исследована от 73 пациентов (70 образцов от больных с КЭ и 3 образца от пациентов с БЛ). РНК/ДНК ни одного из исследованных микроорганизмов в СМЖ выявить не удалось. Дополнительно в 2021 г. кровь и СМЖ (при наличии) исследовались на ДНК *Coxiella burnetii* и риккетсии группы пятнистых лихорадок с помощью коммерческих наборов реагентов – «АмплиСенс® *Coxiella burnetii*-FL», «АмплиСенс® *Rickettsia* spp.-FL», а также на РНК вирусов Кемерово, Алонгшан и Хасеки с помощью разработанных тест-систем в научных целях (основной разработчик – руководитель научной группы разработки новых методов диагностики природно-очаговых заболеваний – Л. С. Карань). Результаты ПЦР-исследования представлены в Таблице 96.

Таблица 96 – Результаты ПЦР-диагностики крови от обследованных пациентов в Свердловской области

РНК/ДНК возбудителей	2009 (количество – 196)	2010 (количество – 105)	2017 (количество – 1)	2021 (количество – 227)	Всего (количество – 529)
<i>TBEV</i>	10	0	0	4	14
<i>B. burgdorferi</i> s.l.	21	16	0	19	56
<i>A. phagocytophilum</i>	0	0	0	0	0
<i>E. muris/ E. chaffeensis</i>	0	0	1	0	1
<i>Coxiella burnetii</i>	-	-	-	0	0
<i>Rickettsia</i> spp.	-	-	-	0	0
вирус Кемерово	-	-	-	0	0
вирус Алонгшан	-	-	-	0	0
вирус Хасеки	-	-	-	0	0

До 2021 г. сыворотки крови от пациентов исследовались методом ИФА на наличие IgM и IgG к вирусу КЭ и боррелиям комплекса *B. burgdorferi* s.l. В 2021 г. дополнительно было проведено исследование образцов сыворотки крови методом ИФА на IgM и IgG к анаплазмам, эрлихиям и риккетсиям группы пятнистой лихорадки. По результатам исследования дополнительно были верифицированы такие нозологии, как ГАЧ и МЭЧ.

В ходе исследования среди обследованных пациентов мы выявили 6 нозологий (как моно-, так и микст-), которые описаны в главе 7 диссертационного исследования. Дополнительные исследования, проведенные нами методом ПЦР-РРВ на наличие РНК вирусов Кемерово, Джингмен (включая Алонгшан), Хасеки, а также ДНК риккетсий и возбудителя Ку-лихорадки в

крови больных дали отрицательные результаты. Также в группе пациентов с ГАЧ и МЭЧ, диагноз которым был поставлен на основании серологических исследований сыворотки крови, нам не удалось обнаружить в крови специфический генетический материал их этиологических агентов – анаплазм (*A. phagocytophilum*) и эрлихий (*E. chaffeensis/E. muris*). Что касается риккетсиоза, то в нашей группе пациентов у ряда больных мы определяли только IgM, но не IgG, сероконверсии в данной группе пациентов мы не обнаружили, поэтому в отношении риккетсиоза данные результаты требуют подтверждения, а также необходимы дополнительные целенаправленные исследования в этом направлении с целью установления роли риккетсиоза в этиологической структуре инфекций, передающихся иксодовыми клещами на территории Свердловской области.

Следует отметить, что применение ПЦР-диагностики в ходе нашего исследования в первые сутки поступления пациента в стационар, либо при обращении за медицинской помощью на амбулаторном этапе, позволило своевременно поставить диагноз при отрицательных результатах серологического исследования (в период «серологического окна», либо у серонегативных больных) пациентам с КЭ в 50,0% случаев (7 больных), пациентам с эритемной формой БЛ в 42,3% случаев (52 пациента с положительным результатом ПЦР по результатам серологической диагностики были отрицательны). Положительные результаты, полученные методом ПЦР в крови при эритемной форме БЛ, прежде всего, свидетельствовали о диссеминации инфекции, а, следовательно, необходимости возможного пересмотра алгоритма лечения ранней локализованной и ранней диссеминированной форм заболевания. У пациентов с безэритемной формой БЛ боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. удалось выявить в период «серологического окна» только у 4 пациентов, что составило 3,5%. В последствии все положительные находки в ПЦР безэритемной формы БЛ были подтверждены серологически. Ни в одном из исследованных образцов крови от 528 пациентов мы не обнаружили 16S рРНК/ДНК возбудителей МЭЧ и ГАЧ, за исключением одного случая, когда пациент в 2017 г. самостоятельно сдал кровь на комплекс из четырех инфекций и в крови была выявлена 16S рРНК эрлихий. Тогда пациент попал в стационар и ему был поставлен диагноз «ВЛПЧ. Клещевой эрлихиоз», но, к сожалению, серологической диагностики на специфические антитела к эрлихиям методом ИФА проведено не было. Отрицательные находки ПЦР-диагностики при исследовании крови на 16S рРНК/ДНК возбудителей МЭЧ и ГАЧ в нашем исследовании требуют дальнейшего изучения.

Результаты серологического обследования больных с КЭ.

Всем 1076 пациентам проводилось серологическое исследование методом ИФА для определения специфических IgM и IgG в парных сыворотках крови (в начале заболевания и в конце заболевания, как правило, перед выпиской) или в СМЖ (при наличии). Наличие третьего образца сыворотки крови значительно повышало чувствительность серологической диагностики.

Критериями для серологического подтверждения диагноза КЭ явились следующие результаты исследования:

1. Выявление специфических IgM в сыворотке крови или СМЖ (при наличии)
2. Сероконверсия специфических IgM на IgG в сыворотке крови или СМЖ (при наличии)
3. Нарастание титров специфических IgG у не вакцинированных пациентов в сыворотке крови

В настоящее время алгоритмы диагностики КЭ у вакцинированных пациентов не разработаны. Ниже, в главе 8.3. диссертационного исследования, будут представлены результаты многолетней работы по специфической лабораторной диагностике КЭ у вакцинированных пациентов и вариантах динамики гуморального иммунитета в этой группе больных и разработанных критериях диагностики.

Группа обследованных с КЭ составила 203 человека, из них в 100% случаев были выявлены IgM в сыворотке крови, сероконверсия IgM на IgG составила 18,2% (37 человек). СМЖ была исследована у 70 пациентов, IgM либо сероконверсия была установлена у 59 пациентов.

Результаты серологического обследования больных с БЛ.

Диагноз у пациентов с эритемной формой БЛ основывался на наличии единственного патогномоничного клинического симптома – наличие эритемы в месте присасывания клеща. Критериями серологической диагностики были:

1. Выявление специфических IgM в сыворотке крови или СМЖ (при наличии)
2. Сероконверсия специфических IgM на IgG в сыворотке крови или СМЖ (при наличии)
3. Нарастание титров специфических IgM и IgG в сыворотке крови

Всего было исследовано 368 пациентов с эритемной формой БЛ. Диагностическая чувствительность ИФА метода исследования в этой группе пациентов составила 56,5%, т.е. только у 208 человек были выявлены IgM, IgG, либо их сероконверсия с нарастанием титра антител в динамике. Иммуноблот помог подтвердить диагноз БЛ с эритемной формой у 4 пациентов из 50, которым он был проставлен (8,0%).

При безэритемной форме БЛ основанием для постановки диагноза были результаты серологической диагностики, полученные методом ИФА. Всего было исследовано 255 пациентов с безэритемной формой БЛ. У всех обследованных пациентов в сыворотке крови были обнаружены IgM, IgG, либо их сероконверсия с нарастанием титра антител в динамике.

В 2021 г. в дополнение к методам ИФА и иммуноблота, сыворотки крови от пациентов с БЛ (эритемная и безэритемная формы) в динамике были проставлены с помощью разработанного планарного белкового биочипа для серологической диагностики БЛ. Данный биочип позволяет

одновременно выявлять IgM и IgG к 8 антигенам (p100, VlsE, p39, p41, p58, BBK32, OspC, p17) патогенных для человека боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. – *B. afzelii* и *B. garinii* в качественном формате.

Критериями положительного результата данного метода диагностики по IgM явились: обнаружение антител к антигенам группы OspC или обнаружение антител как минимум к антигенам двух групп p41, VlsE, p17.

Критериями положительного результата данного метода диагностики по IgG явились: обнаружение антител к антигенам группы VlsE или обнаружение антител как минимум к антигенам двух групп p100, p58, p41, p39, BBK32, OspC, p17.

В 2021 г. с БЛ было исследовано 165 человек, из них с эритемной формой – 104 человека, с безэритемной формой – 61 человек. Диагностическая чувствительность метода биочипа при эритемной форме БЛ по IgM составила 63,5%, по IgG – 89,5%; при безэритемной форме БЛ по IgM – 24,6%, по IgG – 31,1%.

Результаты серологического обследования больных с ГАЧ и МЭЧ.

В 2021 г. из 227 пациентов диагноз ГАЧ методом ИФА был подтвержден у 100 человек как при моно-, так и микст-инфицировании. Критериями серологического подтверждения диагноза ГАЧ являлись следующие результаты:

1. Выявление специфических IgM и IgG при коэффициенте серопозитивности (КС) образца более 1,1
2. Сероконверсия специфических IgM на IgG в сыворотке крови
3. Четырехкратное нарастание титра специфических IgG в динамике заболевания

У всех пациентов наблюдалась сероконверсия IgM и IgG, либо четырехкратное нарастание IgG.

В 2021 г. из 227 пациентов диагноз МЭЧ методом ИФА был подтвержден у 11 человек, все случаи были связаны с микст-инфекцией с каким-либо другим клещевым заболеванием. Критериями серологического подтверждения диагноза МЭЧ были:

1. Выявление специфических IgM и IgG при КС образца более 1,1
2. Сероконверсия специфических IgM на IgG в сыворотке крови
3. Четырехкратное нарастание титра специфических IgG в динамике заболевания

У всех пациентов наблюдалась сероконверсия IgM и IgG к возбудителям МЭЧ.

8.2. Специфическая лабораторная диагностика боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi*

Молекулярно-генетическое исследование на наличие ДНК B. miyamotoi.

Исследование крови проводилось в большинстве случаев в первые два дня поступления пациента в стационар или амбулаторно при обращении за медицинской помощью. По результатам исследования методом ПЦР ДНК *B. miyamotoi* была обнаружена в крови у 241 человека (96,0%) из 251 пациентов в течение первых суток заболевания, как правило, на пике лихорадки, у двух человек (0,8%) – на вторые сутки, у трех (1,2%) – на третьи сутки, у одного (0,4%) – на 7-е сутки, у одного (0,4%) – на 10-е сутки.

Методика ПЦР, использованная в работе не позволяла определять количественную концентрацию ДНК *B. miyamotoi* в крови больных. Этот показатель мог оцениваться только косвенно по СТ (цикл детекции). Для количественной оценки ДНК *B. miyamotoi* мы ретроспективно провели исследование с использованием калибраторов с заведомо известной концентрацией. Результаты исследования показали, что бактериальная нагрузка в крови в первые дни заболевания (на пике лихорадки) колеблется от 10^2 ГЭ/мл до 10^8 ГЭ/мл, в среднем составляя 10^5 ГЭ/мл.

В ходе исследования в 2015 г. с целью определения оптимальных сроков взятия крови у пациентов для выявления *B. miyamotoi* мы провели оценку динамики спирохетемии, начиная с первых суток госпитализации до получения отрицательного результата методом ПЦР-РРВ, а также оценили необходимость использования в ПЦР-РРВ методике 16S рРНК или ДНК возбудителя у 22 пациентов с положительным результатом на *B. miyamotoi* в качественном формате. По результатам исследования было выявлено, что *B. miyamotoi* выявлялась только в первые сутки поступления в стационар у 17 пациентов (77,3%), в первые два дня – у 4-х пациентов (18,2%), у одного пациента *B. miyamotoi* выявлялась в течение трех суток. В ходе исследования было выяснено, что использование в качестве мишени 16S рРНК незначительно повышает чувствительность тест-системы (разница между 16S рРНК и ДНК составила 4 раза), поэтому в дальнейшем мишенью была выбрана ДНК *B. miyamotoi*.

В нашем исследовании, все пациенты, у которых *B. miyamotoi* была выявлена в первые сутки поступления пациента в стационар в этот же день начинали получать антибиотикотерапию. Пациенты, у которых возбудитель выявлялся на вторые и третьи сутки получали антибиотикотерапию в последующие 48 часов после поступления в стационар соответственно.

После начала антибиотикотерапии ни 16S рРНК, ни ДНК возбудителя в крови не определялись [540].

Исследование СМЖ методом ПЦР у пациентов с БМ не проводилось, т.к. не было показаний для пунктирования.

Бактериологический метод. Микроскопия мазков крови.

В 2011 г. нами была произведена микроскопия окрашенных мазков крови (цельная кровь и лейкоцитарная фракция) от 146 больных, поступивших в стационар в первые два дня болезни. Окраска мазков проводилась по Романовскому-Гимзе, использовалось 1000-кратное увеличение с масляной иммерсией. Возбудитель визуализировался в виде окрашенного спиралевидного микроорганизма длиной около 20 мкм, диаметром 0,2 мкм (Рисунок 138). На Рисунке 139 для сравнения представлена *B. duttoni* – боррелия, которая также относится к группе возвратных лихорадок. Прямым доказательством того, что обнаруженный микроорганизм является *B. miyamotoi* является положительный результат ПЦР-исследования на данный патоген, отсутствие у пациента в крови антител к *Trepanema pallidum*, которая также относится к спирохетам и отсутствие клинико-эпидемиологических данных, свидетельствующих о заболевании лептоспирозом.

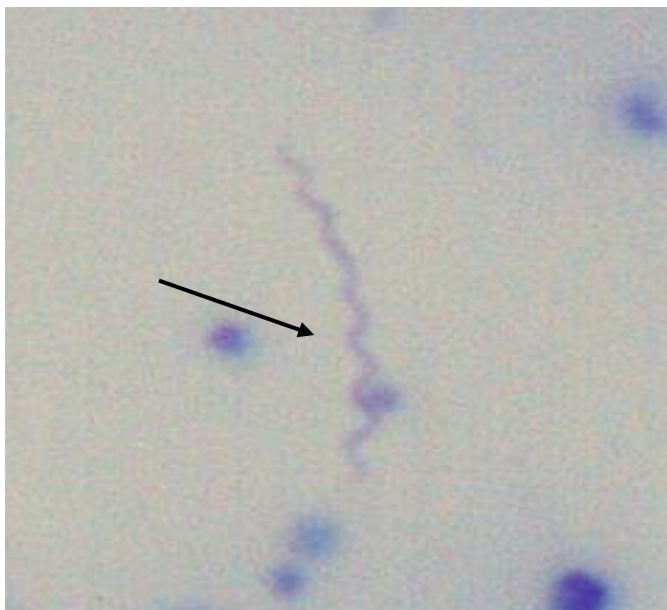


Рисунок 138 – Больной С. с боррелиозом, вызванным *B. miyamotoi* (2011 г.). Мазок окрашен по методу Романовского-Гимзе. Увелич. ок. 1000

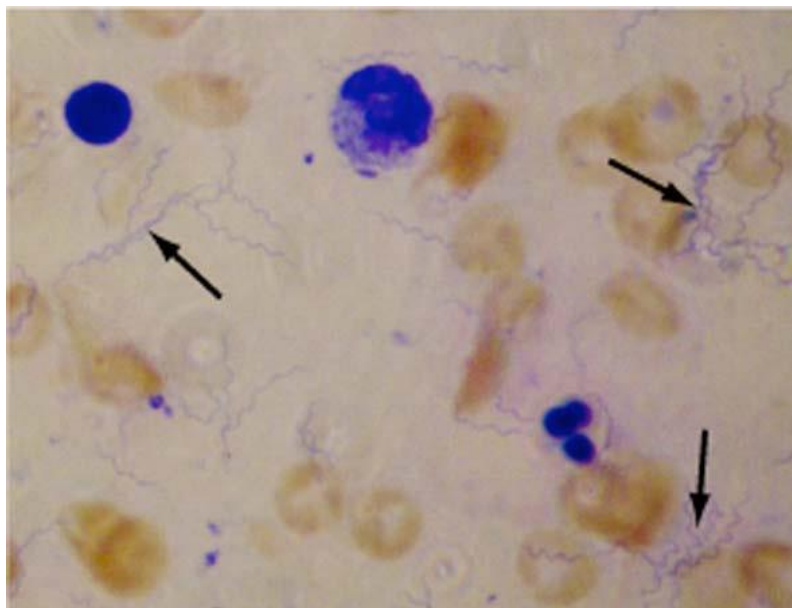


Рисунок 139 – *Borrelia duttoni* в крови пациента. Мазок окрашен по методу Гимза [713]

Бактериологический метод. Выделение чистой культуры.

В период 2015-2018 гг. была предпринята попытка выделения чистой культуры *B. miyamotoi* из крови больных в питательной среде (модифицированная среда Kelly-Pettenkofer, МКФ), любезно предоставленной коллегами из Голландии, которые успешно апробировали ее для выделения чистой культуры *B. miyamotoi* из клещей. Всего было проведено 67 посевов от 67 больных с подтвержденным диагнозом БМ методом ПЦР. Контроль роста возбудителя проводился методом ПЦР в количественном формате на 14, 30, 45 сутки культивирования. Получить чистую культуру удалось от 24 пациентов в период 2016-2018 гг. В 2015 г. в связи с неправильными условиями культивирования возбудителя – 37⁰С получить чистую культуру не удалось. ДНК возбудителя в меняющейся концентрации сохранялась в питательной среде около 3 мес. С 2016 г. культивирование проводилось при 33⁰С, таким образом, нам удалось выделить и закрепить 3 изолята (штамма) *B. miyamotoi* в 2016 г., 14 – в 2017 г. и 7 – в 2018 г. Впервые в мире выделенные клинические изоляты *B. miyamotoi* позволили провести полногеномное секвенирование возбудителя и начать первые исследования по изучению патогенеза заболевания [15; 38; 246].

Результаты серологического обследования больных с БМ.

В настоящее время не существует ИФА тест-систем для выявления антител к специфическому glpQ-антигену, который встречается только у боррелий группы возвратных лихорадок. Поэтому в нашем исследовании мы оценивали чувствительность стандартных ИФА тест-систем, которые используются в рутинной практике для серологической диагностики БЛ. Критериями серологической диагностики были те же, что и БЛ, описаны выше.

Были исследованы парные сыворотки крови от 251 пациента с положительным результатом ПЦР на ДНК *B. miyamotoi*. Диагностическая чувствительность ИФА тест-систем по IgM в исследуемой группе пациентов составила 34,3% (86 человек), по IgG – 11,2% (28 человек).

Результаты серологической диагностики больных с БМ методом планарного белкового биочипа.

В период 2015-2018 гг. и в 2021 г. для дифференциальной серологической диагностики БЛ и БМ нами была разработана методика серологического исследования с использованием планарного белкового биочипа, в основе которой лежит отдельное определение IgM и IgG к glpQ-антигену (специфичный маркер группы возвратных лихорадок) и Vmp (поверхностным белкам, которые вызывают продукцию антител и используются как диагностические маркеры боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*) и антител к антигенам OspC (IgM) и VlsE (IgG) – специфические маркеры боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., и другим антигенам, которые перечислены выше в разделе серологическая диагностика БЛ методом биочипа. Эта методика была апробирована в 2015-2018 гг. на клиническом материале, полученном в ходе настоящего диссертационного исследования.

Критерии серологической диагностики БМ методом биочипа включали выявление IgM и IgG к glpQ-антигену в комплексе с выявлением антител к одному из следующих антигенов: Vmp или p41 (антиген боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. – *B. afzelii*, *B. garinii*), p39, BBK32 (антигены как *B. miyamotoi*, так и боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. – *B. afzelii*, *B. garinii*).

Взятие сыворотки крови проводилось в первые дни болезни при поступлении больных в стационар и в динамике во время лечения. Предварительные результаты показали высокую чувствительность метода биочипа. Вероятность обнаружения IgM согласно разработанному алгоритму диагностики составила 60,6% и 56,8% для IgG у пациентов с подтвержденным положительным результатом методом ПЦР. Учитывая низкую диагностическую чувствительность стандартных ИФА тест-систем безусловна роль метода биочипа для диагностики БМ, когда нет возможности для проведения ПЦР или взятие крови возможно только в поздние сроки, когда метод ПЦР уже может быть неэффективен.

В ходе данной работы было исследовано 37 реконвалесцентов, с подтвержденным методом ПЦР диагнозом БМ. Сыворотки крови исследовались через 1, 3, 6, 9 мес после стационарного лечения. Антитела IgM и IgG к glpQ-антигену и другим антигенам *B. miyamotoi* выявлялись от 1 до 9 месяцев. В 2021 г. один из пациентов (больной М.), который находился на лечении в 2015 г. с БМ в ООО МО «Новая больница» попал в стационар после присасывания клеща в текущем сезоне с диагнозом эритемная форма БЛ. У данного пациента также было проведено исследование сывороток крови в динамике заболевания, и было обнаружено, что спустя 7 лет IgG

к *B. miyamotoi* в крови не определяются (Таблица 97), также IgM к антигенам *B. miyamotoi* выявлены не были.

Таблица 97 – Динамика IgM и IgG, выявленные методом биочипа, у реконвалесцентов с БМ

Пациент №	Антитела	Сроки исследования после стационарного лечения			
		1 мес	3 мес	6 мес	9 мес
1	IgM	+	-	-	-
	IgG	-	+	+	+
2	IgM	-	+	-	-
	IgG	-	+	+	+
3	IgM	-	-	-	ни
	IgG	+	+	+	ни
4	IgM	+	+	+	+
	IgG	-	+	+	+
5	IgM	+	+	+	+
	IgG	-	+	+	+
6	IgM	+	-	ни	ни
	IgG	-	+	ни	ни
7	IgM	+	-	-	-
	IgG	-	+	+	+
8	IgM	+	ни	ни	ни
	IgG	+	ни	ни	ни
9	IgM	+	+	+	+
	IgG	-	-	-	-
10	IgM	-	+	-	-
	IgG	-	+	+	+
11	IgM	+	+	+	-
	IgG	+	+	+	+
12	IgM	+	+	ни	ни
	IgG	-	+	ни	ни
13	IgM	+	+	ни	ни
	IgG	-	+	ни	ни
14	IgM	+	+	+	-
	IgG	-	+	+	+
15	IgM	+	+	+	+
	IgG	+	+	+	+
16	IgM	+	+	+	ни
	IgG	+	+	+	ни
17	IgM	+	-	-	-
	IgG	-	+	+	+
18	IgM	-	+	+	+
	IgG	-	-	-	+
19	IgM	+	+	ни	+
	IgG	-	+	ни	+
20	IgM	-	-	ни	+
	IgG	-	+	ни	+
21	IgM	+	-	ни	-
	IgG	-	-	ни	+
22	IgM	-	ни	ни	-
	IgG	-	ни	ни	+
23	IgM	+	ни	-	ни
	IgG	+	ни	+	ни
24	IgM	-	-	ни	ни
	IgG	+	+	ни	ни
25	IgM	+	ни	+	ни
	IgG	+	ни	+	ни

Продолжение Таблицы 97

26	IgM	-	-	-	-
	IgG	-	+	+	-
27	IgM	+	+	+	ни
	IgG	-	+	+	ни
28	IgM	+	-	ни	ни
	IgG	-	+	ни	ни
29	IgM	-	-	-	-
	IgG	+	+	+	+
30	IgM	-	-	ни	ни
	IgG	+	+	ни	ни
31	IgM	+	-	ни	-
	IgG	+	+	ни	+
32	IgM	+	+	-	ни
	IgG	+	+	+	ни
33	IgM	+	-	ни	ни
	IgG	+	-	ни	ни
34	IgM	+	+	ни	-
	IgG	+	+	ни	-
35	IgM	-	-	-	-
	IgG	+	+	+	+
36	IgM	+	+	+	ни
	IgG	-	-	-	ни
37	IgM	+	-	ни	-
	IgG	-	+	ни	+

Примечание: ни – не исследовались.

8.3. Изучение вариантов динамики гуморального иммунитета у вакцинированных пациентов против клещевого энцефалита и разработка критериев специфической лабораторной диагностики

Особое значение при учете заболеваемости вакцинированных больных для исключения гипердиагностики имеет достоверность лабораторного подтверждения диагноза КЭ у каждого пациента. В литературе отсутствуют публикации, посвященные анализу динамики иммунитета у вакцинированных больных и критериям специфической лабораторной диагностики заболевания. Существуют единичные сообщения о случаях заболевания, вакцинированных при остром [107; 196] и хроническом течении КЭ [267; 284] в сочетании с результатами иммунологического обследования.

В настоящее время отсутствует стандарт серологической диагностики КЭ у вакцинированных. Основным критерием клинического диагноза КЭ считается сероконверсия, выражающаяся в 4-кратном (и более) увеличении титров IgG, в основном по данным ИФА, а также по данным других серологических реакций [256; 257]. Отдельные авторы считают доказательным 2-кратное повышение титров IgG к вирусу КЭ [75]. Сроки получения парных

сывороток крови зависят от динамики иммуноглобулинов класса М и G при разных клинических формах заболевания в зависимости от сроков иммунного ответа, особенно при двухволновом течении заболевания и очаговых формах. На состояние гуморального иммунитета оказывает влияние введение иммуноглобулина человека против КЭ с профилактической и терапевтической целью.

Редко учитывается такой вариант динамики гуморального иммунитета, как стабильный титр антител. В этом случае необходимо исключить предшествующую вакцинацию против КЭ, а также участие других флавивирусов (возбудители лихорадок Западного Нила, Денге, вакцинацию против желтой лихорадки, японского энцефалита), поскольку возможны перекрестные реакции между указанными возбудителями и вирусом КЭ [75; 624]. Отдельные авторы рекомендуют для подтверждения диагноза КЭ определять IgM, антиген вируса КЭ методом ИФА, а также РНК вируса КЭ методом ПЦР [73]. Крайне редко при серологической диагностике КЭ учитывается возможность снижения титров IgG. При 4-кратном и более выраженном снижении титров IgG (негативная динамика), диагноз КЭ, как правило, считается подтвержденным [73; 182].

Предшествующим данному исследованию была проведена работа В. В. Погодиной с соавт. [234] и М. С. Шербининой с соавт. [313] по изучению различных вариантов динамики гуморального иммунитета у невакцинированных пациентов против КЭ. Были выявлены следующие типы динамики гуморального иммунитета: сероконверсия – у 143 (52±9,0%) пациентов, стабильные титры антител – у 104 (37,5±8,4%), негативная динамика титров антител – у 29 (10,5±1,4%). При сероконверсии у невакцинированных пациентов максимальный уровень антител по данным ИФА был: IgG 1:1600-1:3200, IgM – 1:200. Максимальный уровень нейтрализующей активности по показателю IgИН составлял 4,0-4,5. Эти показатели близки к максимальному уровню гуморального иммунитета у здорового многократно вакцинированного населения: предельный уровень IgG 1:3200, IgИН 4,5-5,0 [234; 313].

Для изучения особенности динамики гуморального иммунитета у вакцинированных больных КЭ нами было проведено обследование 59 пациентов. Диагноз КЭ подтвержден у 39 пациентов при остром течении заболевания. У 30 (77,0%) пациентов диагностирована лихорадочная форма КЭ, у 6 (15,3%) – менингеальная форма КЭ, у 3 (7,7%) – очаговая форма КЭ. В 20 случаях подтвердить диагноз КЭ не удалось, так как имелась только одна проба сыворотки крови или интервалы между взятием образцов сывороток были недостаточны [210].

У вакцинированных пациентов варьировали многие эпидемиологические и клинические показатели: тип вакцины, подтип вакцинного штамма, интервал между последней прививкой и временем заражения, число присосавшихся клещей, сроки инкубационного периода, длительность болезни, клинические особенности, тяжесть течения. Варьировали также исходы

заболевания: выздоровление с остаточными явлениями или без таковых, переход в хроническую форму КЭ, летальный исход. Независимо от вариабельности приведенных выше показателей у вакцинированных пациентов при остром течении болезни наблюдались три варианта динамики гуморального иммунитета: нарастание специфических антител (сероконверсия), стабильный титр антител, негативная динамика гуморального иммунитета (обратная сероконверсия).

Диагноз КЭ у вакцинированных пациентов ставился на основании анамнеза пациента (присасывание клеща, употребление сырого козьего или коровьего молока); клинической симптоматики; результатов серологических исследований (выявление в парных сыворотках крови и СМЖ IgM к вирусу КЭ, 2-4-кратная сероконверсия IgG к вирусу КЭ или 4-кратное и более снижение титров IgG, выявление антигена вируса КЭ). В случаях, когда диагноз КЭ подтвердить было невозможно из-за сомнительных результатов серологической диагностики или недостаточного количества образцов сывороток от пациентов, применялись методы РТГА с использованием антигенов различных подтипов вируса КЭ и РН, а также молекулярно-генетические методы исследования (обнаружение РНК вируса КЭ методом ПЦР в сыворотках крови и СМЖ). Дополнительно использовались инструментальные методы исследования: компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), электроэнцефалограмма (ЭЭГ), электромиографическое исследование (ЭМГ).

Сероконверсия специфических антител.

Данный тип иммунного ответа наблюдался у лиц, получивших неполный курс вакцинации (1-2 прививки), полный курс и ревакцинации (3-8 прививок). Отмечены различия в сроках и уровне сероконверсии. Выраженная 8-кратная сероконверсия IgG наблюдалась как при двукратной, так и при многократной вакцинации.

Пациент Р., 59 лет, привит дважды вакциной «ФСМЕ-Иммун Инжект», с интервалом между прививками 4 мес. Через 5 мес. после двукратной вакцинации находился на высокоэндемичной территории по КЭ, спустя 25 дней появились первые признаки болезни. Диагноз 2010 г.: острый клещевой энцефалит, энцефаломиелитическая форма с подкорково-мозжечковым и полиомиелитическим синдромами. Как видно из Рисунка 138, в сыворотках крови, полученных на 3-й день болезни, титр IgG – 1:1600, на 25-й, 33-й дни болезни титры IgG – 1:12800. В образцах сывороток крови дважды выявлены IgM в нарастающей концентрации от 1:1600 до 1:3200. В СМЖ выявлены специфические IgM, IgG. Диагноз КЭ у пациента Р. подтвержден суммой показателей: 8-кратной сероконверсией IgG, увеличением концентрации IgM, детекцией IgM, IgG в СМЖ (Рисунок 140). В 2013 г. на основании результатов ЭЭГ с выявлением таких признаков, как кратковременные аperiodические колебания в виде острых высокоамплитудных форм патологической активности с медленными деформированными тета- и дельта-волнами в лобной, височной и теменных областях правого полушария головного мозга, установлен диагноз

ХКЭ с формированием судорожно-гиперкинетического синдрома. С 2015 г. у пациента Р., отмечаются редкие генерализованные эпилептические пароксизмы.

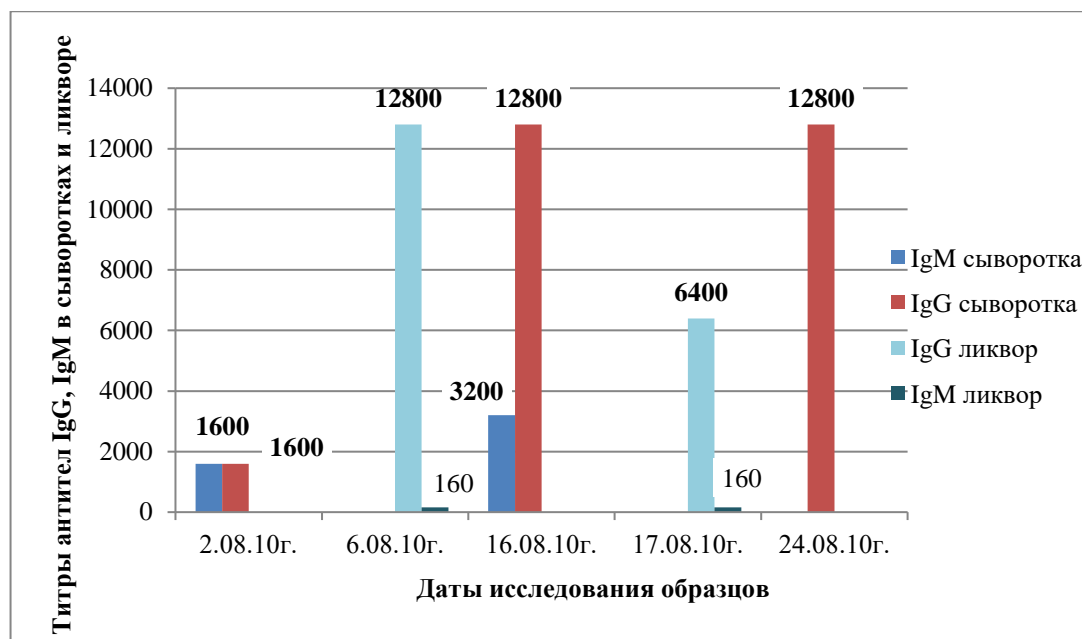


Рисунок 140 – Динамика титров IgM и IgG в сыворотке крови и СМЖ (ликвора) пациента Р., 59 лет в период ОКЭ

Такая же сумма доказательств диагноза КЭ, была получена у пациента М., привитого 8 раз, комбинированно всеми типами вакцин против КЭ в течение 10 лет: 3-кратно вакциной «ЭнцеВир», 2-кратно вакциной «ПИПВЭ им. М.П. Чумакова» РАМН, 2-кратно вакциной «Энцепур», 1-кратно вакциной «ФСМЕ-Иммун Инжект». Пациент получил полный законченный курс вакцинопрофилактики, однако с сокращенными до 1-2 лет интервалами между прививками. Через 2 года после завершения всех прививок снял двух присосавшихся клещей. После инкубационного периода длительностью 10 дней развился ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма с летальным исходом на 9-й день. Сопутствующие заболевания: ревматоидный полиартрит, суставно-висцеральная форма с поражением почек. Сероконверсия IgG с 3-го по 8-й день госпитализации от 1:1600 до 1:12800, 2-кратное выявление IgM, IgG в СМЖ. Дополнительное подтверждение диагноза было получено в результате гистологического исследования мозга погибшего [196]. Развитию КЭ у многократно привитого пациента М. могли способствовать избыточная антигенная стимуляция за счет вакцинации с сокращенными интервалами между прививками, двукратное введение специфического иммуноглобулина против КЭ с лечебной целью, а также отягощенный анамнез – старшая возрастная группа (59 лет), внутрибольничная пневмония и почечная недостаточность, которые были диагностированы у пациента.

Стабильные титры антител.

Данный тип гуморального иммунитета сложен для подтверждения диагноза КЭ у невакцинированных и, особенно, у вакцинированных пациентов. Мы относили к стабильному уровню иммунитета случаи выявления в парных сыворотках крови антител в одинаковых титрах (1:400-1:400) или при 2-кратной разнице (1:800-1:1600-1:800). Подобный тип иммунного ответа в большинстве случаев наблюдался у пациентов, получивших полный курс вакцинации и при развитии разных клинических форм болезни. Так, у привитых 3-4-кратно динамика IgG была на уровне 1:200-1:400, 1:800-1:1600.

У невакцинированных пациентов при стабильных титрах IgG диагноз считается подтвержденным в случае обнаружения в ИФА стабильного титра IgM даже в самой низкой концентрации или в некоторых случаях обнаружения в одной пробе крови IgM в высокой концентрации. Подтверждением диагноза КЭ может быть также обнаружение антигена вируса КЭ в крови и СМЖ [73]. При стабильных титрах IgG и отсутствии IgM важным является выявление РНК вируса КЭ методом ПЦР в сыворотках крови и СМЖ [532]. Следует учитывать различную частоту выявления антигена вируса КЭ, IgM методом ИФА в сыворотках крови пациентов с различными клиническими формами болезни: антиген вируса КЭ от 57,4% до 88,2%, IgM – от 66,6% до 100%. Эффективность метода ПЦР при исследовании сывороток крови при разных клинических формах болезни варьирует от 44,7% до 70% случаев, образцов СМЖ от 60% до 100% [188]. Эффективность диагностики методом ПЦР неодинакова по данным разных авторов. По данным Donoso-Mantke O. et al. [532] и нашим данным [239] диагностическая чувствительность ПЦР для выявления РНК вируса КЭ в ранние сроки инфекционного процесса составляет 29-30%.

Не все из предложенных тестов эффективны для диагностики КЭ у вакцинированных пациентов, в частности выявление IgM и антигена вируса КЭ. Специфические IgM могут выявляться в течение нескольких месяцев после вакцинации [624]. Однако, другие авторы этот факт не подтверждают [956]. Исследования, проведенные Щербининой М.С. и соавт. [275; 313] в Курганской области, показали, что у здорового вакцинированного населения после контакта с клещами выявляются IgM и антиген вируса КЭ. При изучении 220 сывороток лиц, привитых 3-9 раз, в 3,1% выявлены IgM, в 1,8% выявлен антиген вируса КЭ [275; 313]. Полученные данные показывают, что в вакцинированном организме может развиваться латентная инфекция, вызванная вирусом КЭ, не приводящая к заболеванию. Таким образом, подтверждением диагноза КЭ у вакцинированного пациента при стабильных титрах являются: обнаружение антигена вируса КЭ и IgM к вирусу КЭ в СМЖ методом ИФА, выявление РНК вируса КЭ методом ПЦР в СМЖ, четкая клиническая диагностика заболевания, подтвержденная инструментальными

методами исследования (ЭМГ, МРТ, КТ, ЭЭГ), а также изоляция вируса из крови или СМЖ вирусологическими методами исследования.

При стабильном титре антител в качестве дополнительного метода, подтверждающего диагноз КЭ, мы использовали реакции, дифференцирующие иммунный ответ к вакцинному штамму и к этиологическому агенту, который относился к другому подтипу вируса КЭ. Так, у пациента, привитого вакциной из штамма дальневосточного подтипа, в крови присутствовали антигемагглютинины в титре 1:40 к вакцинному штамму Софьин. К штамму вируса КЭ сибирского подтипа титр антител в сыворотке крови в РТГА был 1:320, а в СМЖ присутствовали вируснейтрализующие антитела только к штамму сибирского подтипа – IgИН 2,7.

Негативная динамика специфических антител.

Данный тип иммунного ответа является редким у невакцинированных пациентов и ранее не был описан для вакцинированных больных. Диагноз КЭ у невакцинированных пациентов считается подтвержденным при 4-кратном (и более) снижении титра любого вида антител в парных сыворотках [73; 182]. Мы наблюдали негативную динамику антител у привитых пациентов при неполном и полном курсе вакцинации. Негативная динамика антител наблюдалась при разных клинических формах КЭ, чаще при более тяжелом и медленно развивающемся инфекционном процессе.

Пациент Г., 18 лет, однократно привит вакциной ФГУП «ПИПВЭ им. М.П. Чумакова» РАМН. Отмечено снижение титра IgG в остром периоде болезни от максимального титра 1:6400 до 1:800 с последующим сохранением титров антител на уровне 1:800 в течение 3 мес. В исследованных образцах крови выявлялись IgM в стабильной концентрации (Рисунок 141).

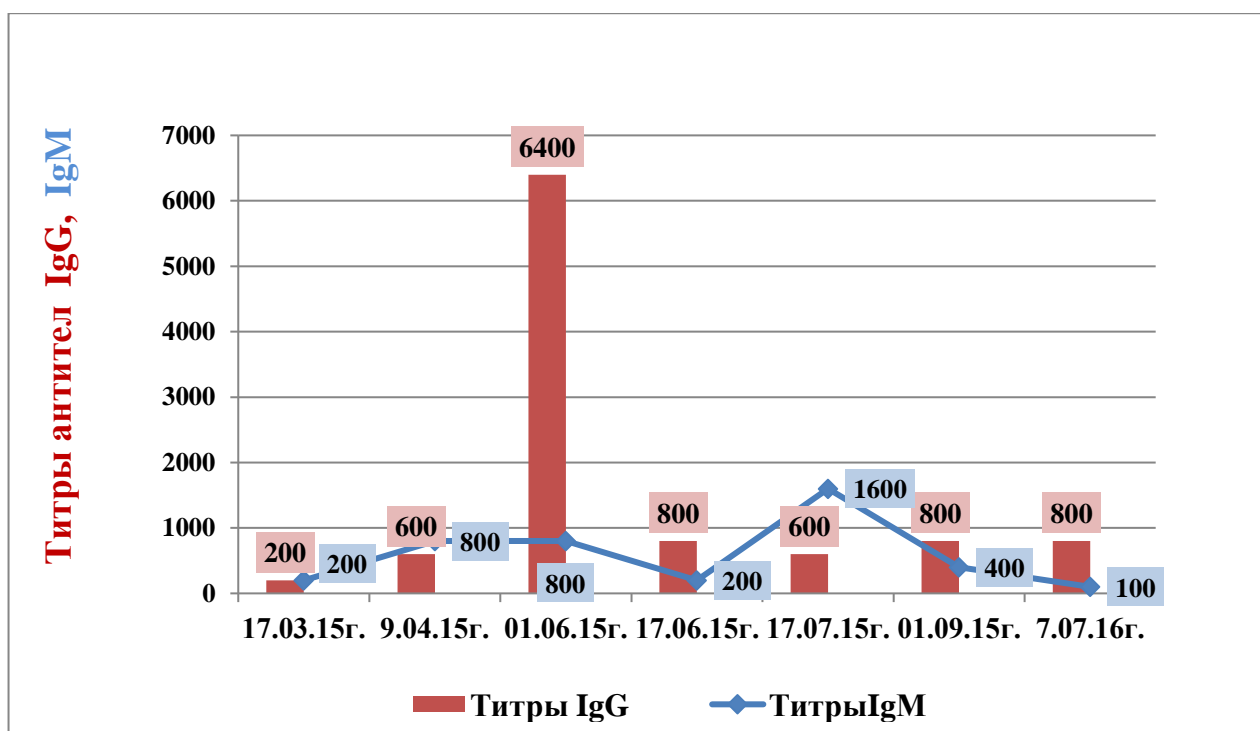


Рисунок 141 – Динамика уровня специфических IgG в сыворотке крови у пациента Г.

Пациент Мк., 17 лет, четырехкратно привит вакциной «ЭнцеВир» по схеме: первая прививка – через 1 месяц вторая прививка – через 1 год первая ревакцинация и через 3 года вторая ревакцинация. Через 4 года после вакцинации и ревакцинации снял нескольких ползающих клещей. После этого госпитализирован через 10 дней. Диагноз: ОКЭ, лихорадочная форма. Многократно вводился специфический иммуноглобулин против КЭ в титре 1:80, 1:160. Выписан в удовлетворительном состоянии, однако в дальнейшем развился астенический синдром, в связи с чем многократно обследовался амбулаторно. В первых сыворотках крови титры IgG были 1:800-1:1600 с дальнейшим 4-кратным снижением, а затем падением иммунитета до негативного уровня (менее 1:100). Таким образом, выявлено значительное 16-кратное снижение титра IgG в сыворотке крови. В этот период произошли повторные контакты с клещами, после чего титр IgG поднялся до 1:400 (Рисунок 142). По результатам ПЦР в одном из клещей была выявлена РНК вируса КЭ. Таким образом, критерием постановки диагноза КЭ в данном случае явилось более, чем 4-кратное снижение титра IgG в парных сыворотках крови.

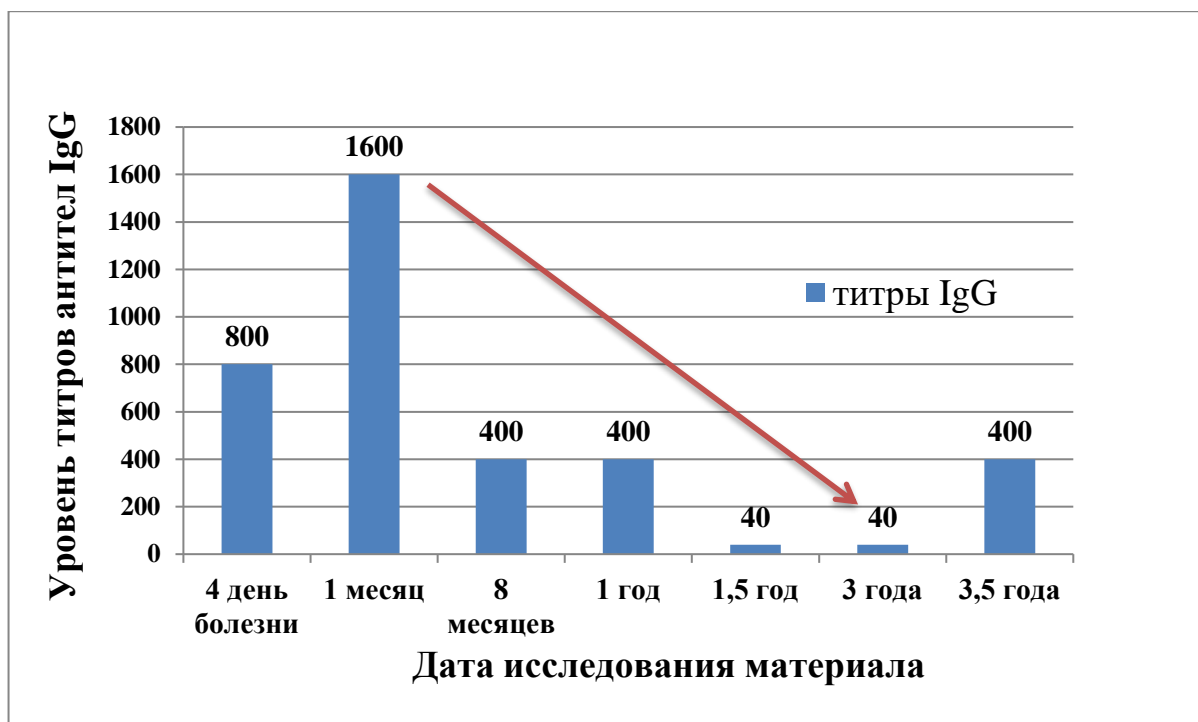


Рисунок 142 – Динамика титров IgG в сыворотке крови у пациента Мк.

Значительные сложности диагностики КЭ у вакцинированных и невакцинированных пациентов возникают при наличии одной пробы крови. Приведем случай диагностики КЭ при молниеносном, летальном течении заболевания у шестикратно привитого пациента.

Пациентка Б., 49 лет. Через 2 года после шестикратной вакцинации сняла присосавшегося клеща. После инкубационного периода (5 дней) развилось заболевание, закончившееся летальным исходом через 55 часов. В сыворотке крови выявлены IgG в титре 1:1600, что можно объяснить состоянием поствакцинального иммунитета. В клинической симптоматике и при морфологическом исследовании ЦНС преобладала картина отека мозга с дислокацией ствола мозга в большое затылочное отверстие. Подтвердить диагноз КЭ удалось только путем выявления РНК вируса КЭ методом ПЦР в структурах мозга и изоляцией вируса. Нами был выделен изолят (штамм Курган 118-2010, генотипированный как штамм сибирского подтипа вируса КЭ [107].

Подобную ситуацию, когда имелась лишь одна проба крови, мы наблюдали у невакцинированных пациентов. Пациенты поступали в стационар в тяжелом состоянии на 3-4-й дни болезни, иногда в коматозном состоянии, и умирали спустя 2-4 дня. В единственном образце сыворотки крови было отмечено присутствие IgM без определения концентрации. В 9 случаях из мозга таких пациентов были выделены изоляты (штаммы) или образцы РНК вируса КЭ, генотипированные как штаммы и изоляты сибирского подтипа. В этих случаях диагноз КЭ

подтверждался только результатами вирусологических или молекулярно-генетических исследований.

В ходе исследования при остром течении КЭ у вакцинированных пациентов сероконверсия отмечена в 18 случаях из 39 – 46,1%, стабильные титры у 16 больных – 41%, обратная (негативная) динамика у 4 больных – 10,2%. В одном случае, хотя, имелась одна проба крови, диагноз подтвержден изоляцией вируса КЭ из головного мозга.

Динамика гуморального иммунитета при ХКЭ.

Динамика гуморального иммунитета у невакцинированных и вакцинированных пациентов с диагнозом ХКЭ, изучена на протяжении 4-6 лет путем исследования до 10 образцов сывороток крови от одного больного.

Всего исследовано 9 случаев ХКЭ у невакцинированных пациентов в возрасте от 3 до 43 лет, из них пять мужчин и четыре женщины. У пациентов в возрасте 3, 6, 11, 21 и 26 лет диагностирована кожевниковская эпилепсия. В старшей возрастной группе диагнозы были следующими: ХКЭ, полиомиелитический синдром; ХКЭ, сирингомиелия; ХКЭ, гиперкинетический синдром. У невакцинированных пациентов первоначально выявлялись IgM, позднее IgG, которые сохранялись в стабильном титре (1:800-1:1600). Антитела IgM циркулировали длительно в течение 1 года и более с последующим исчезновением и повторным появлением в отдаленные сроки. Антиген вируса КЭ нерегулярно выявлялся в сыворотках крови этих пациентов.

У 5 вакцинированных пациентов (все мужчины) развитие ХКЭ наблюдалось после предшествующего острого периода или как первичная прогрессивная форма заболевания. Диагноз «кожевниковская эпилепсия» был поставлен пациенту 18-ти лет. У остальных пациентов в возрасте 26-59 лет диагнозы были: ХКЭ, гиперкинетическая форма; ХКЭ, полирадикулоневритическая форма; ХКЭ, спинальная амиотрофия; ХКЭ, полиэнцефаломиелитическая форма. Особенностью гуморального иммунитета у данной категории пациентов являлось выявление в первых сыворотках крови, как IgM, так и IgG. В остром периоде отмечена 8-кратная сероконверсия IgG до уровня 1:12800, и этот уровень иммунитета сохранялся на протяжении 6-летнего периода. При этом титр IgM был на уровне 1:200 (Рисунок 143). Сыворотка крови пациента обладала высокой нейтрализующей активностью в отношении штамма сибирского подтипа вируса КЭ – IgИН 6,25.

При длительном обследовании пациентов наблюдалась комбинированная динамика гуморального иммунитета: сероконверсия с последующей негативной динамикой антител и стабильными титрами антител в дальнейшем. Так, у однократно привитого пациента наблюдалась комбинированная динамика IgG. Первоначально отмечена замедленная сероконверсия IgG от титра 1:200 до 1:600 и 1:6400 с последующей обратной динамикой до 1:800-

1:600 и последующей стабилизацией титров антител. На всех сроках выявлялись IgM (Рисунок 143).

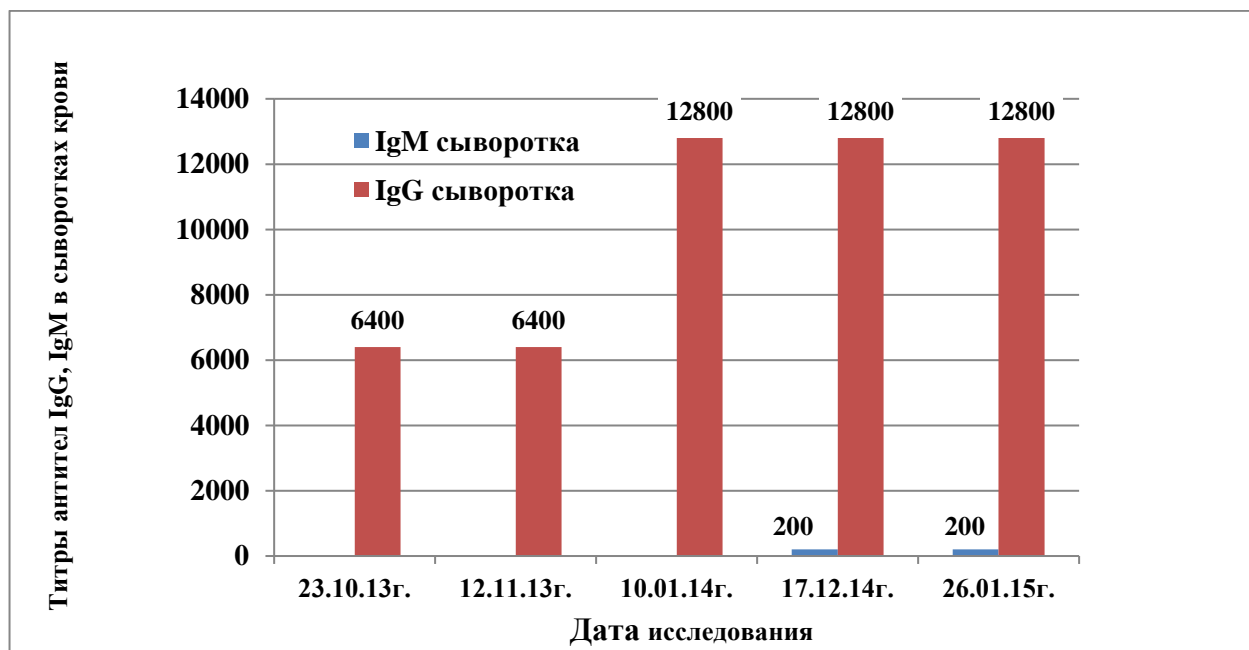


Рисунок 143 – Динамика титров антител пациента Р., 59 лет в период сформировавшегося ХКЭ

На комбинированную динамику гуморального иммунитета при КЭ указывают результаты обследования пациента Л., привитого однократно «ПИПВЭ им. М. П. Чумакова» РАМН. Заражение через присасывание клеща произошло через 2 мес. после вакцинации и выезда на высокоэндемичную территорию в Восточной Сибири. Диагноз: ОКЭ, полиомиелитическая форма с последующим развитием спинальной амиотрофии как проявления ХКЭ. Проведено многократное обследование данного пациента на протяжении 8,5 мес. с использованием в РТГА и РН вакцинного штамма Софьин дальневосточного подтипа и штамма Айна сибирского подтипа вируса КЭ (Таблица 98). Как видно из Таблицы 98, на всех сроках иммунный ответ к вакцинному штамму Софьин слабее выражен, чем к штамму сибирского подтипа Айна, вызвавшему заболевание у данного пациента. На ранних сроках наблюдалась 4-кратная сероконверсия IgG в РТГА к штамму Айна, затем 8-кратное снижение титров антигемагглютининов до 1:40 с дальнейшей стабилизацией титров антител на весь период заболевания. Различный уровень иммунного ответа к штаммам Софьин и Айна отмечен при исследовании СМЖ.

Таблица 98 – Динамика гуморального иммунитета пациента Л.

Дни болезни	Материал	Метод	Антитела к подтипам вируса КЭ, штамм	
			Сибирский (Айна)	Дальневосточный (Софьин)
19	Сыворотка крови	РТГА	1:80	0
		РН	-	-
73	Сыворотка крови	РТГА	1:320	1:40
		РН	1:3,8	1,9
115	Сыворотка крови	РТГА	1:40	0
		РН	-	-
120	Сыворотка крови	РТГА	1:20	0
		РН	2,7	1,8
120	СМЖ	РТГА	0	0
		РН	2,7	0,3
170	Сыворотка крови	РТГА	1:40	0
250	Сыворотка крови	РТГА	1:40	0

Сравнение результатов иммунологического обследования вакцинированных пациентов, проведенного нами, и результатов, опубликованных австрийскими и шведскими авторами [888; 956], выявило сходство и различия.

1. Исследования, проведенные нами и европейскими авторами, показывают сложность подтверждения диагноза КЭ у вакцинированных пациентов. Нами при обследовании 59 вакцинированных пациентов, диагноз КЭ был достоверно подтвержден в 39 случаях. В Швеции по результатам обследования из 27 вакцинированных пациентов у 19 диагноз КЭ подтвержден, а у 8 явился сомнительным.

2. При остром течении КЭ у вакцинированных пациентов нами выявлены три варианта динамики гуморального иммунитета: сероконверсия, стабильные титры антител, негативная динамика антител. В работах европейских авторов анализируется один вариант динамики гуморального иммунитета – сероконверсия.

3. Сходство в методике подтверждения диагноза КЭ при сероконверсии на основе учета динамики а IgG, IgM в ИФА (ELISA), по результатам РН, а также по интратекальному синтезу антител.

4. По нашим данным и данным европейских авторов нарастание титра IgG у привитых выше, чем у непривитых. Мы наблюдали более высокий прирост IgM у привитых пациентов сравнительно с непривитыми, тогда как европейские авторы отмечают значительное колебание данного показателя только у вакцинированных.

5. Мы наблюдали обратную динамику антител при ОКЭ и ХКЭ.

В Таблице 99, мы сравнили частоту различных вариантов динамики гуморального иммунитета при ОКЭ у невакцинированных (данные В. В. Погодиной и М. С. Щербининой) и вакцинированных пациентов (результаты, полученные в ходе данной работы). В обеих группах

пациентов наиболее редким вариантом являлась негативная динамика антител. По другим вариантам динамики антител имелись небольшие статистически недостоверные различия: несколько чаще сероконверсия у непривитых и более частые стабильные титры антител у привитых. Для уточнения этих данных необходимо расширить число наблюдений по привитым пациентам.

Таблица 99 – Динамика титров IgG у пациентов с ОКЭ

Тип динамики титров антител	Невакцинированные (количество – 276)		Вакцинированные (количество – 39)	
	абс.число	%	абс.число	%
Сероконверсия	143	52,0	18	46,1
Стабильные титры	104	37,5	16	41,0
Негативная динамика	29	10,5	4	10,2

Примечание: разница в частоте различных типов динамики антител между привитыми и непривитыми статистически не достоверна ($p > 0,05$).

Особое значение имеет выяснение механизма обратной динамики антител. Впервые такой тип динамики антител отмечен в методических указаниях по лабораторной диагностике КЭ в 1990 г. [180]. В дальнейшем негативная динамика антител как способ подтверждения диагноза КЭ была описана по наблюдениям неврологов в Свердловской и Томской областях [73; 182]. В указанных публикациях механизм данного феномена не обсуждался. Наиболее вероятным механизмом, по нашим наблюдениям, является избыточная антигенная стимуляция. Приведем случай больного З., описанный В. В. Погодиной с соавт. в 1986 и 2014 гг. [33; 232].

Пациент З., 26 лет, профессионально связанный с работой в лесу, был привит вакциной КЭ производства НПО Вирион (Томск). После присасывания клеща развилась первично-прогредиентная форма ХКЭ с полиэнцефаломиелитической формой. Больной обследован методом РТГА многократно на протяжении 7 лет с использованием антигенов, приготовленных из штаммов сибирского, дальневосточного и европейского подтипов вируса КЭ. В течение первых 4 лет у пациента в сыворотке крови определялись стабильные титры антигемагглютининов 1:20-1:40. В 1981 г. пациент З. поступил в клинику института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, где профессором К. Г. Уманским были проведены три курса вакцинотерапии. После первого курса из трех прививок вакциной против КЭ была отмечена высокая сероконверсия с повышением титра IgG до 1:160-1:320. Через 10 мес. отмечено 4-кратное снижение титров IgG (1:40-1:80). Второй курс вакцинотерапии привел к небольшому повышению титра IgG только к сибирскому подтипу вируса, вызвавшему данное заболевание. Через год проведен третий курс неспецифической вакцинотерапии с введением

живой вакцины против полиомиелита 2 типа. Выявлены антитела только к полиовирусам, но не к вирусу КЭ.

Приведенные данные показывают снижение иммунного ответа к вирусу КЭ. По данным Н. В. Медуница и А. Н. Миронова [176], гипериммунизация оказывает негативный эффект, проявляющийся в снижении титров антител вплоть до нулевых значений. Результаты обследования больного З. свидетельствуют об иммунологической толерантности, при которой угнетен иммунный ответ на специфический антиген вируса КЭ, но сохранена реакция на неспецифический антиген – полиовирус. У описанного ранее пациента Мк. (Рисунок 142), снижение иммунологической реактивности (16-кратное снижение уровня антител) имело временный характер, и после нового контакта со специфическим антигеном иммунитет повысился.

Сходный механизм негативной динамики антител, вероятно, существует и при ОКЭ у вакцинированных пациентов. Повторная антигенная стимуляция происходит при вакцинации, специфической иммунотерапии, при поступлении вируса КЭ при присасывании инфицированных клещей, а также вследствие персистенции вируса. В экспериментах на вакцинированных обезьянах и сирийских хомяках Л. С. Левина и В. В. Погодина показали длительную персистенцию вируса КЭ [149]. Репродукция вируса зависела от уровня иммунитета и инфицирующей дозы вируса. При неполной нейтрализации вируса у вакцинированных животных частично подавлялась вирусемия и висцеральная фаза инфекции (размножение в селезенке, лимфатических узлах, печени), при этом вирус проникал в ЦНС. Высокочувствительными методами в ЦНС и внутренних органах выявлялся вирус (РНК и антиген вируса КЭ). Персистенция отмечена на 70-й, 105-й, 150-й, 380-й дни инфекции, а также через 1 год. Отмечено изменение свойств персистирующего вируса, в частности, снижение авидности, вирулентности, нарушение заключительных этапов сборки вириона. Спонтанно или под влиянием внешних факторов происходила активация персистирующего вируса, что приводило к повторным антигенным стимулам [149]. Доказательством вирусной персистенции в организме больных ОКЭ, ХКЭ, а также при инapparантной инфекции являются многократные случаи изоляции вируса из крови, СМЖ спустя 1, 3 года от начала болезни [232].

Заключение по главе 8

В специфической диагностике КЭ на первое место выходит серологическая диагностика, однако ПЦР-диагностика может давать положительные результаты во время «серологического окна», когда специфические антитела к вирусу КЭ еще не выработались, либо у серонегативных

больных. В нашем исследовании до результатов серологической диагностики методом ПЦР удалось своевременно поставить диагноз в 50,0% случаев.

Представленные данные по специфической диагностике БЛ (эритемная и безэритемная формы) позволяют заключить, что диагноз при эритемной форме БЛ должен основываться, прежде всего, на клинико-эпидемиологических данных (наличие мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща и посещения лесной зоны в эпидемический сезон), т.к. диагностическая чувствительность метода ИФА составляет не более 60% (по результатам наших исследований она составила 56,5%). У пациентов с безэритемной формой БЛ диагноз может быть поставлен только на основании положительных результатов серологической диагностики. Молекулярно-генетические методы (ПЦР) в диагностике БЛ могут выступать только в качестве дополнительных методов исследования, т.к. обладают невысокой диагностической чувствительностью вследствие патогенеза инфекции. В случае выявления 16S рРНК *B. burgdorferi* s.l. в крови больного с эритемной формой заболевания можно предположить переход ранней локализованной формы БЛ в раннюю диссеминированную, которая требует пересмотра схемы специфического лечения.

В алгоритме специфической диагностики безэритемной формы нового боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* (БМ) на первое место выходит ПЦР-диагностика заболевания. Диагностическая чувствительность и специфичность метода ПЦР для диагностики БМ достигает 100%. Серологические методы исследования данного заболевания в настоящее время только разрабатываются, например, планарный белковый биочип, диагностическая чувствительность которого по результатам нашего исследования для IgM составила 60,6%, для IgG – 56,8%. Стандартные зарегистрированные ИФА тест-системы, которые выявляют специфические антитела к боррелиям комплекса *B. burgdorferi* s.l. могут быть не эффективны, поскольку не содержат антигены (в частности, glpQ и Vmp антигены), которые есть только у боррелий возвратных лихорадок, к которым относится *B. miyamotoi*.

Для специфической диагностики МЭЧ и ГАЧ мы использовали как наборы реагентов ИФА для выявления специфических IgM и IgG, так и ПЦР метод исследования. К сожалению методом ПЦР только в одном случае в крови удалось выявить 16S рРНК *E. muris*. Во всех остальных случаях диагноз был поставлен на основании сероконверсии IgM и IgG. Положительные находки ДНК *A. phagocytophilum* выявлены не были. Возможно, отрицательные результаты на выявление генетического материала анаплазм и эрлихий методом ПЦР обусловлены ранними сроками взятия биоматериала (первые двое суток поступления пациента в стационар), что для нас было принципиальным моментом в исследовании.

Проведенные нами иммунологические исследования показали, что у вакцинированных против КЭ наблюдается три варианта динамики специфического гуморального иммунитета: сероконверсия, стабильные титры антител, обратная (негативная) динамика титров антител.

При сероконверсии уровень специфического иммунитета по показателям IgG, IgM и нейтрализующих антител у вакцинированных пациентов выше, чем у невакцинированных и у здорового населения, привитого против КЭ.

При стабильных титрах IgG у вакцинированных лиц доказательством инфекции, вызванной вирусом КЭ, является выявление IgM, антигена вируса КЭ методом ИФА и вирусной РНК методом ПЦР в СМЖ пациентов с диагнозом КЭ. Особое значение имеет изоляция вируса с последующим его генотипированием. В случае выявления у вакцинированных больных IgM в сыворотке крови необходимо уточнить сроки последней вакцинации или ревакцинации. В качестве дополнительного метода, подтверждающего диагноз КЭ рекомендуется применять реакции, дифференцирующие иммунный ответ к вакцинному штамму и к этиологическому агенту, если он относится к другому подтипу вируса КЭ.

Наличие высокого уровня гуморального иммунитета по показателям IgG и нейтрализующих антител у вакцинированных пациентов не препятствует формированию и прогрессированию ХКЭ, что может быть связано с недостаточной нейтрализацией вируса, а также с длительной персистенцией вируса КЭ, утратившего способность взаимодействовать с антителами. Механизм негативной динамики антител может быть связан с избыточной антигенной стимуляцией. Более подробно о механизмах развития инфекционного процесса будет сказано в главе 9.2 диссертационного исследования.

ГЛАВА 9. ИЗУЧЕНИЕ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ И ПАТОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА, ДОМИНИРУЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ СИБИРСКОГО ПОДТИПА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Сибирский подтип вируса КЭ доминирует на большей части эндемичной территории РФ за пределами Дальнего Востока [120]. После первых сообщений о существовании сибирского подтипа вируса КЭ сложилось малообоснованное представление о его невысокой патогенности для человека и о более легком течении заболевания по сравнению с дальневосточным подтипом вируса. Проведенные нами на современном этапе и более ранние комплексные клинико-вирусологические и молекулярно-биологические исследования показали, что сибирский подтип вируса способен вызывать весь спектр клинических проявлений заболевания от легких лихорадочных форм до тяжелых очаговых форм с летальным исходом [107; 196] и хронические формы с инвалидизацией [453], а также инapparантное течение инфекции (из крови здоровых людей д.м.н., профессором В. В. Погодиной были выделены штаммы Васенкова и Чеботаева на территории Свердловской области) [231].

В настоящем исследовании представлены результаты изучения этиологической роли сибирского подтипа вируса КЭ в развитии летальных форм КЭ, в том числе описываются два случая летального исхода среди вакцинированных пациентов из Курганской и Челябинской областей, а также роль сибирского подтипа вируса при развитии острых (лихорадочная, менингеальная, очаговые формы с различной клинической симптоматикой) и хронических форм болезни, а также инapparантная инфекция. Нами впервые обобщена информация по данному вопросу, достоверность которой основана на клиническом обследовании пациентов ведущими специалистами, а также на обязательном выделении изолятов (штаммов) вируса или образцов РНК, их генотипировании или иммунотипировании в каждом случае заболевания или при инapparантной инфекции.

9.1. Летальные исходы и морфологическая характеристика изменений в центральной нервной системе при клещевом энцефалите, вызванном сибирским подтипом возбудителя

Летальные очаговые формы КЭ могут быть связаны как с дальневосточным, европейским, так и с сибирским подтипами возбудителя. Ранее были описаны случаи острого летального КЭ, вызванного сибирским подтипом вируса в Красноярском крае, Иркутской [279; 315], Читинской областях [106]. Роль сибирского подтипа вируса КЭ в развитии летальных исходов достоверно подтверждена нами в 17 случаях в период 2008-2014 гг. (Таблица 100) [107; 150; 196; 315]. Данная

работа проводилась в рамках действующего референс-центра по КЭ на базе Института полиомиелита до 2016 г.

Таблица 100 – Случаи летального КЭ, вызванного сибирским подтипом возбудителя в разных регионах России

Регион	Годы	Число случаев
Ярославская область	2008, 2009, 2012	5
Вологодская область	2008, 2010	3
Свердловская область	2008, 2009	3
Челябинская область	2012-2014	4
Курганская область	2010, 2013	2
Кемеровская область	2013	1
Всего		18

Материалы для исследования были направлены территориальными Управлениями Роспотребнадзора, Центрами гигиены и эпидемиологии, специалистами клинических учреждений следующих регионов: Ярославской, Вологодской, Свердловской, Челябинской, Курганской, Кемеровской областей. Материал от умерших больных поступал с клиническими диагнозами «Клещевой энцефалит», «Подозрение на клещевой энцефалит», «Нейроинфекция неуточненного генеза», «Энцефалит неуточненной этиологии», «Острое нарушение мозгового кровообращения».

Для исследования направлялись участки головного и спинного мозга (от 2 до 10 проб от каждого умершего пациента) в замороженном состоянии или в 10% растворе формалина. Алгоритм исследований включал вирусологические, молекулярно-биологические и иммуногистохимические методы исследования. Изоляцию вируса КЭ проводили, используя серийные пассажи суспензий из тканей головного и спинного мозга в однослойных перевиваемых культурах клеток СПЭВ с целью выявления ЦПД, а также заражение в мозг белых мышей массой 6-8 гр. Изучение нейроинвазивных и нейровирулентных свойств изолированных штаммов проводили в опытах на нелинейных белых мышах, сирийских хомяках. Молекулярно-биологическое исследование биоматериала проводили методом ПЦР с целью обнаружения вирусной РНК в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, генотипирование изолятов РНК вируса КЭ осуществлялось методом секвенирования полного или части гена Е вируса КЭ. Выявление антигена вируса в исследуемых биоматериалах проводилось с помощью реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и метода ИФА, выявление антигена в гистологических

препаратах головного и спинного мозга проводили методом флуоресцирующих антител, также выполнялось морфологическое исследование ЦНС (д.м.н. Кармышева В. Я.)

В ходе работы исследован секционный материал от 18 умерших больных с предварительным или установленным диагнозом КЭ. Во всех случаях диагноз был подтвержден комплексом методов либо одним из вышеперечисленных методов исследования. Возможность применения и результаты того или иного метода исследования зависели от качества материала. В зависимости от метода диагностики положительные случаи можно разделить на группы.

В первую группу вошли образцы ЦНС, в которых удалось выявить РНК вируса КЭ методом ПЦР, изолировать вирус и провести его генотипирование. Число таких случаев составило 8, включая пациентов, которым была проведена иммуногистохимическая диагностика. От одного умершего пациента могло быть получено от 2 до 5 изолятов РНК из различных участков ЦНС.

Во вторую группу включены образцы ЦНС от 8 пациентов, имеющих лабораторное подтверждение диагноза только по результатам обнаружения РНК вируса, его генотипирования и в трех случаях сероконверсии специфических IgM и IgG в парных сыворотках крови. Изолировать штаммы вируса КЭ не удалось.

Последняя третья группа представлена образцами ЦНС от двух пациентов, прошедших стадию консервации в формалине, изоляты (штаммы) вируса или его РНК изолировать не удалось, диагноз установлен на основании сероконверсии IgM и IgG, детекции антигена вируса КЭ в структурах мозга, а также выявлении характерных морфологических изменений в гистологических препаратах.

Во всех случаях при генотипировании установлена этиологическая роль сибирского подтипа вируса КЭ, что подтверждает ранее полученные данные о патогенном потенциале данного подтипа вируса [279]. В числе случаев с подтвержденным диагнозом КЭ были 2 случая летального КЭ у вакцинированных больных (Курганская область, 2010; Челябинская область, 2011), которые будут подробно представлены в работе ниже [107; 196].

Среди умерших пациентов преобладали невакцинированные лица старших возрастных групп (61-77 лет – 52,9%). Варьировали длительность инкубационного периода (от 3 до 30 дней) и сроки летального исхода (от 2,5 суток до 59 дней). В 9 случаях болезнь протекала молниеносно с гибелью на 3-6 сутки (Таблица 101).

Таблица 101 – Сведения об обследованных невакцинированных и вакцинированных пациентах с летальным исходом

№	Территория	Год	Пациент	Возраст	Анамнез	Инкубационный период	Длительность заболевания	ПЦР	Выделенные штаммы вируса	Иммуногистохимическая диагностика (МФА, антиген)	ИФА	Клинический диагноз	Терапия в стационаре	Номер в штамме в GenBank
1	Ярославская область (Ярославский район – п. Бекренево)	2008	Ав-н	71 год	Присасывание инфицированного вирусом КЭ клеща (по данным ИФА), не привит, серопротекция 8 дозами специфического иммуноглобулина против КЭ	14 дней	5 суток	Обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа, европейский топвариант	Штамм ЯР-Ав-08	Не проводилось	Не проводилось	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, верхний парапарез, бульбарный синдром, молниеносное течение. Осложнения: Отек мозга, синдром дыхательных расстройств. Сопутствующие заболевания: ИБС, гипертоническая болезнь, 2 ст., риск 4, подагрический артрит	Информация о проводимом лечении отсутствует	GQ845440 (Yaroslavl-Aver-08)
2	Ярославская область (Некрасовский район)	2008	Бел-в	74 года	Множественные присасывания клещей, не привит, специфический иммуноглобулин против КЭ не получал	27 дней	6 суток	Обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа, европейский топвариант	Штамм ЯР-Бел-2008	Не проводилось	IgM положит, IgG отр. К вирусу КЭ в сыворотке крови	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, молниеносное течение. Осложнения: Гипостатическая правосторонняя пневмония, левосторонний адгезивный отит	Специфический иммуноглобулин против КЭ, ИВЛ, антибактериальная терапия	GQ845439 (Yaroslavl-Bel-08)
3	Ярославская область (Любимский район – с. Филиппово)	2009	З.	27 лет	Присасывание клеща, а также употребление сырого козьего или коровьего молока отрицает, не привит, иммуноглобулин против КЭ не получал	Неизвестен	3 суток	Обнаружена РНК вируса сибирского подтипа вируса КЭ	Штамм вируса КЭ изолирован не удалось	Не проводилось	IgM положит, IgG к вирусу КЭ отр. в сыворотке крови	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение	Дезинтоксикационная терапия, антибактериальная терапия (цефтриаксон)	Отсутствует

Продолжение Таблицы 101

4	Ярославская область (Рыбинский район – с. Большой Дор)	2009	К.	75 лет	Присасывание клеща отрицает, употребление сырого козьего молока, не привит, специфический иммуноглобулин против КЭ не получал	Неизвестен	3 суток	Обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа вируса КЭ	Штамм вируса КЭ изолировать не удалось	Не проводилось	Не проводилось	ОКЭ, очаговая форма, полиневропатия. Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь, 3 ст., энцефалопатия 2 ст.	Специфический иммуноглобулин против КЭ, дезинтоксикационная терапия	Отсутствует
5	Ярославская область (Рыбинский МР – д. Подорожная)	2012	Ж.	77 лет	Присасывание клеща, не привит, специфический иммуноглобулин против КЭ не получал	19 дней	1 сутки	Обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа	Штамм вируса КЭ изолировать не удалось	Не проводилось	IgM положит, IgG отр. в сыворотке крови к вирусу КЭ и боррелиям	Микст-инфекция: ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение, Лайм-боррелиоз	Специфический иммуноглобулин против КЭ, дезинтоксикационная терапия, антибактериальная терапия	Отсутствует
6	Вологодская область (Сокольский район)	2008	Кр-на	77 лет	Присасывание 8 клещей, не привита, специфический иммуноглобулин против КЭ не получала	15 дней	14 суток	Обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа, европейский топовариант	Штамм Вологда-7-2008	Не проводилось	Не проводилось	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение	Специфический иммуноглобулин против КЭ, симптоматическая ноотропная терапия, гипотензивные, жаропонижающие препараты, противовоспалительные, противовирусные, противогрибковые средства, инфузионная терапия	GQ845438 (Vologda-Krash-08)

Продолжение Таблицы 101

7	Вологодская область (Терновский район – д. Свердловская)	2010	П.	2 г 7 мес	Присасывание клеща, не привита, иммуноглобулин против КЭ не получала	14 дней	5 суток	РНК в трупной крови и тканях мозга не выявлена, принадлеж ность вируса к сибирскому подтипу обусловлена ранее проведенны ми исследовани ями по мониторинг у иксодовых клещей, где был выявлен только сибирский подтип вируса	Штамм вируса КЭ изолирова ть не удалось	Деструктивн ые изменения нейронов, глиоцитов и других клеток мозга, периваскуля рные и диффузные лимфомоно цитарные инфильтрат ы, единичные, мелкие гранулемы, кариоцитол из, тромбообраз ование, периваскуля рные и тканевые отеки, гомогенезац ия ядер и цитоплазмы нейронов	IgM положит, IgG к вирусу КЭ отр. в сыворотке крови	ОКЭ, менингоэнцефалити ческая форма, тяжелое течение, судорожный синдром, тетрапарез, кома III степени. Осложнения: Правосторонняя пневмония, отек мозга, кровотечения из мочевыводящих путей	Специфически й иммуноглобул ин против КЭ, гормональная терапия, переливание донорской плазмы, трахеостомия, ИВЛ, антибактериал ьная терапия	Отсутствует
---	--	------	----	-----------	--	---------	---------	--	---	---	---	---	---	-------------

Продолжение Таблицы 101

8	Вологодская область (Вытегорский район)	2010	Л.	16 лет	Присасывание клеща, не привита, специфический иммуноглобулин против КЭ получала	14 дней	59 дней	Обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа	Штамм вируса КЭ изолировать не удалось	Выявлены массивная гибель нейронов, глиоцитов и других клеток головного и спинного мозга, многочисленные перисосудистые и диффузные лимфоидно-моноцитарные инфильтраты, деструктивный отек мозгового вещества, периваскулярные и перичеллюлярные отеки, очаги деструкции ткани мозга, стенок кровеносных сосудов, барьеров	IgM и IgG положит. к вирусу КЭ в сыворотке крови, IgM отр. и IgG положит в СМЖ	ОКЭ, энцефаломиелитическая форма, тяжелое течение, кома II-III степени. Осложнения: Верхнедолевая правосторонняя гнойная очаговая пневмония	Проводимая терапия: трахеостомия, ИВЛ, антибактериальная терапия	Отсутствует
9	Свердловская область (Режевской район – г. Реж)	2009	Ег-н	71 год	Присасывание клеща, не привит, иммуноглобулин против КЭ не получал	8 дней	4 суток	Обнаружена РНК вируса сибирского подтипа вируса КЭ, азиатский топовариант, группа «Заусаев»	Штамм Ек-Ег-09	Не проводилось	Не проводилось	ОКЭ, многоуровневая очаговая форма, энцефаломиелитический синдром. Осложнения: Отек мозга. Сопутствующие заболевания: артериальная гипертензия	Информация о проводимом лечении отсутствует	KJ936629 (Ekaterinburg-EGSH-09)

Продолжение Таблицы 101

10	Свердловская область (Тавдинский район – г. Тавда)	2009	Ж-на	71 год	Присасывание клеща, не привита, иммуноглобулин против КЭ получала	15 дней	4 суток	Обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа, азиатский топовариант, группа «Заусаев»	Штамм Эк-Жиг-09	Не проводилось	Не проводилось	ОКЭ, многоуровневая очаговая форма, энцефаломиелитический синдром Осложнения: Отек мозга. Сопутствующие заболевания: артериальная гипертензия	Информация о проводимом лечении отсутствует	KJ936630 (Ekaterinburg-ZHG-09)
11	Свердловская область	2008	Ис-ва	58 лет	Присасывание клеща, не привита, иммуноглобулин против КЭ получала	14 дней	26 дней	Обнаружена РНК вируса сибирского подтипа вируса КЭ, азиатский топовариант, группа «Заусаев»	Штамм вируса КЭ изолировать не удалось	Не проводилось	IgM положит, IgG к вирусу КЭ отр. в сыворотке крови	ОКЭ, многоуровневая очаговая форма, энцефалополлиомиелитический синдром с поражением ствола мозга, шейного и поясничного утолщений спинного мозга, кома 2-3 ст., синдром «свислой головы»	РНК-аза, специфический иммуноглобулин против КЭ, трахеостомия, ИВЛ	Отсутствует
12	Челябинская область	2014	Ч.	47 лет	Снятие ползающего клеща в мае 2014 г., не привита, специфический иммуноглобулин против КЭ не получала	30 дней	15 суток	Обнаружена РНК вируса сибирского подтипа вируса КЭ, геновариант «Заусаев»	Штамм вируса КЭ изолировать не удалось	Не проводилось	IgM отр., IgG к вирусу КЭ отр. в сыворотке крови и СМЖ	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма	Информация о проводимом лечении отсутствует	Отсутствует

Продолжение Таблицы 101

13	Челябинская область(г. Пласт, лесостепаня зона)	2012	А.	66 лет	Присасывание клеща, не привит, специфический иммуноглобулин против КЭ не получал	3 дня	29 суток	Обнаружена РНК вируса сибирского подтипа вируса КЭ, геновариант «Васильченко»	Штамм Чел-АБД-12	Выявлены выраженные изменения во всех долях головного мозга. Характер и тяжесть этих изменений были сходными: резкая гиперемия, тромбоз, очаговая деструкция стенок сосудов, отек и деструкция ячеек, диффузная лимфоидноклеточная инфильтрация. Выявлены деструкция лептоменинкса, коры и подкорковых структур. На плазмолемме пролиферирующих клеток МФА выявлено накопление антигена вируса КЭ	Сероконверсия специфических IgM и IgG к вирусу КЭ	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение, кома 3 ст.. Осложнения: Отек головного мозга, синдром вклинивания	Специфический иммуноглобулин против КЭ, ИВЛ	KJ936631 (Chelyabinsk-ABD-12)
----	---	------	----	--------	--	-------	----------	---	------------------	---	---	--	---	-------------------------------

Продолжение Таблицы 101

14	Челябинская область(г. Верхний Уфалей, горнолесная зона)	2011	М.	59 лет	Присасывание двух клещей, законченный курс вакцинопрофилактика (8 прививок), специфический иммуноглобулин против КЭ не получал	10 дней	9 суток	РНК в аутопсийном материале, хранившемся в формалине (участки мозга, почки, селезенки, легких, стенки кишечника) не выявлена	Штамм вируса КЭ изолировать не удалось	Обнаружен антиген вируса КЭ в нейронах, морфологические изменения в ЦНС, гибель нейронов, периваскулярный отек	IgM положит., 8-кратная сероконверсия IgG к вирусу КЭ в сыворотке крови	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение, левосторонний гемипарез. Симптом афатических нарушений. Сопутствующие заболевания: ревматоидный полиартрит, суставно-висцеральная форма с поражением почек. Осложнения: Отек-набухание головного мозга, почечная недостаточность, внутрибольничная очаговая пневмония, отек легких	Специфический иммуноглобулин против КЭ, ИВЛ, антибактериальная терапия	Отсутствует
----	--	------	----	--------	--	---------	---------	--	--	--	---	---	--	-------------

Продолжение Таблицы 101

15	Челябинская область (г. Копейск, лесостепная зона)	2013	Я.	61 год	Присасывание клеща, не привита, специфический иммуноглобулин против КЭ не получала	20 дней	23 суток	Обнаружена РНК вируса сибирского подтипа вируса КЭ, геновариант «Заусаев»	Штамм вируса КЭ изолирова ть не удалось	В лобной, теменной, затылочной областях мозга выявлена деструкция кровеносны х сосудов, ячей, стромы, отек, разволокнен ие опорных структур, гемодинами ческие нарушения с гиперемией, кровоизлиян иями, тромбозом и диффузная инfiltrат ивно- продуктивна я реакция	IgM положит., IgG к вирусу КЭ положит. в сыворотке крови	ОКЭ, менингоэнцефалопо лиомиелитическая форма, тяжелое течение, кома 3 ст. Осложнения: Острый инфаркт миокарда. Госпитальная правосторонняя нижнедолевая пневмония	ИВЛ, антибактериал ьная терапия	Отсутствует
----	--	------	----	--------	---	---------	----------	---	---	--	--	---	---------------------------------------	-------------

Продолжение Таблицы 101

16	Курганская и Челябинская области	2013	Т.	32 года	Снял с собаки клеща, присасывание клеща отрицает, привит, специфический иммуноглобулин против КЭ не получал	Неизвестен	20 суток	Обнаружить РНК при исследовании парафиновых блоков не удалось	Штамм вируса КЭ изолировать не удалось	выявлены выраженные изменения во всех долях головного мозга. Характер и тяжесть этих изменений были сходными: резкая гиперемия, тромбоз, очаговая деструкция стенок сосудов, отек и деструкция ячеек, диффузная лимфоидноклеточная инфильтрация. Выявлены деструкция лептоменинкса, коры и подкорковых структур	IgG к вирусу КЭ положит. в СМЖ	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение, кома 3 ст. Осложнения: Госпитальная правосторонняя нижнедолевая пневмония, тяжелое течение. Отек головного мозга	Специфический иммуноглобулин против КЭ, рибавирин, симптоматическая терапия, ИВЛ, антибактериальная терапия	Отсутствует
----	----------------------------------	------	----	---------	---	------------	----------	---	--	---	--------------------------------	---	---	-------------

Продолжение Таблицы 101

17	Курганская область	2010	Б.	49 лет	Присасывание клеща, вакцинирована по схеме с дальнейшей ревакцинацией, специфический иммуноглобулин против КЭ не получала	5 дней	55 часов	Обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа, европейский топовариант	Штамм Курган-118-2010	Нетипичная картина морфологических изменений мозга: отсутствие воспалительных и пролиферативных и дегенеративных изменений, преобладание отека головного мозга. В гистологических препаратах мозга мышей, зараженных штаммом Курган-118-2010, выявлены дистрофические и дегенеративные изменения части нейронов и нейроглиоцитов в области коры большого мозга, в мозжечке, нижней olive, ядрах черепных нервов	IgM отр., IgG к вирусу КЭ положит. в сыворотке крови	ОКЭ, молниеносное течение. Осложнения: Отек головного мозга	Специфический иммуноглобулин против КЭ	KY319395 (Kurgan-Bakh-2010)
----	--------------------	------	----	--------	---	--------	----------	--	-----------------------	---	--	---	--	-----------------------------

Продолжение Таблицы 101

18	Кемеровская область (Тисульский район)	2013	К.	48 лет	Множественные присасывания клещей, не вакцинирован, иммуноглобулин против КЭ не получал	Неизвестен	8 суток	Обнаружена РНК вируса сибирского подтипа вируса КЭ, азиатский топовариант, группа «Заусаев»	Штамм Кемерово-Кич-2013	Выраженное поражение всех основных структур головного мозга с преобладанием альтернативного компонента воспаления, выявлены деструкция лептоменинкса, коры и подкорковых структур	IgM положит., IgG к вирусу КЭ положит. в сыворотке крови и СМЖ	ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение, кома 3 ст.	Специфический иммуноглобулин против КЭ, ИВЛ, барбитуратная кома, антибактериальная терапия	KJ936632 (Kemerovo-KCH-13)
----	---	------	----	--------	---	------------	---------	---	-------------------------	---	--	---	--	-------------------------------

Полученные данные показали роль сибирского подтипа вируса КЭ в этиологии летальных случаев КЭ в Ярославской, Вологодской, Свердловской, Кемеровской, Челябинской и Курганской областях.

Ниже приведем описание нескольких случаев КЭ, вызванных сибирским подтипом возбудителя и закончившихся летальным исходом у невакцинированных больных [123], а также двух случаев развития КЭ с летальным исходом у многократно вакцинированных пациентов на территории Курганской [107] и Челябинской областей [196] с подробным описанием морфологической картины заболевания. Иммуногистохимические исследования проведены д.м.н. Кармышевой В. Я.

Характер поражения ЦНС, вызванный сибирским подтипом вируса у человека, изучен мало. Особенно это касается процесса иммунного цитолиза в головном мозге и внутренних органах людей, погибших от КЭ. Необходимы дополнительные исследования для дифференцировки проявлений иммунного цитолиза с изменениями, вызванными непосредственно вирусом КЭ, и вторичными изменениями другой или неизвестной этиологии, часто наблюдаемой у погибших от этой инфекции людей [59].

Невакцинированные пациенты.

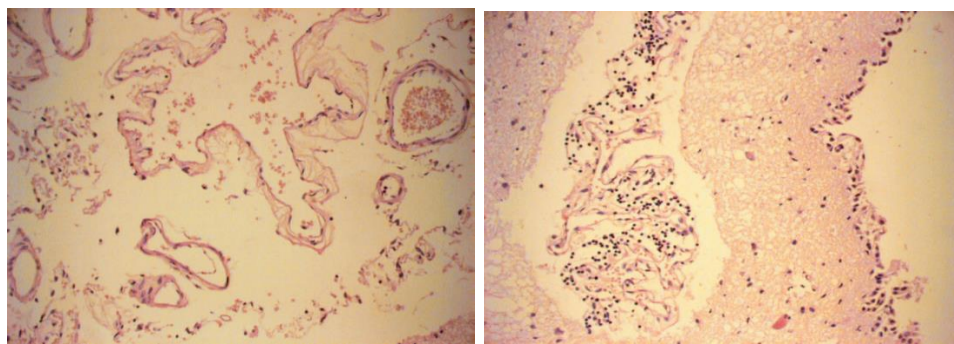
В ходе работы проведено иммуногистохимическое исследование разных отделов головного мозга от 6 человек, умерших от КЭ, невакцинированных и не получавших экстренную специфическую серопротекцию, но пролеченных специфическим иммуноглобулином против КЭ. Выявлено вирус-индуцированное поражение всех элементов гематоэнцефалического барьера, оболочек мозга, коры, подкорковых ганглиев, ствола, мозжечка с деструкцией нейронов, глии, нервных волокон. Получены морфологические доказательства высокой патогенности сибирского подтипа вируса КЭ для человека.

Основные сведения об изученных пациентах приведены в Таблице 101 (№№ 7, 8, 13, 14, 15, 16, 17, 18). У всех больных заболевание началось остро с повышения температуры до 39⁰С, сильной головной боли, изменения сознания, раннего развития картины энцефалита с тяжелой интоксикацией, судорогами, параличами, комой и полиорганной недостаточностью. Вводился специфический иммуноглобулин против КЭ и в качестве профилактики внутрибольничных инфекций проводилась антибактериальная терапия.

Случай 1. Пациент К., 48 лет, житель таежного Тисульского района Кемеровской области. В анамнезе множественные присасывания клещей в июне-июле 2013 г., не вакцинирован, экстренную серопротекцию против КЭ не получал. 21.08.2013 были отмечены – повышение температуры тела до 39⁰С, рвота, судороги. 22.08.2013 пациент был госпитализирован в отделение анестезиологии и реанимации Кемеровской областной клинической больницы. Диагноз: ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение. Диагноз подтвержден

27.08.2013 выявлением в СМЖ и сыворотке крови IgG к вирусу КЭ (1:100), IgM (КП = 1,03). Антитела IgM и IgG к боррелиям в сыворотке крови не выявлены. В ОАК – повышение СОЭ (до 27 мм/ч), умеренный лейкоцитоз, лимфопения. Состояние пациента крайне тяжелое, отмечалось утяжеление неврологической симптоматики с нарушением сознания (кома 3 ст.), интоксикационный и общевоспалительный синдромы. Несмотря на проводимую лекарственную терапию: введение специфического иммуноглобулина против КЭ в титре IgG 1:320, применение ИВЛ, барбитуратной комы, реанимационные мероприятия, 29.08.2013 наступила смерть. Патологоанатомическое заключение не представлено.

Иммуногистохимическое изучение препаратов головного мозга от пациента К. позволило нам выявить выраженное поражение всех основных структур головного мозга с преобладанием альтернативного компонента воспаления. Отмечалась деструкция практически всех элементов лептоменинкса (сосудов, клеточных элементов, ячей) с выраженными дисциркуляторными нарушениями (стазами, тромбозом, кровоизлияниями). Степень выраженности деструктивных и гемодинамических изменений варьировала в разных участках мозга (Рисунки 145 а, б). В различных участках коры головного мозга отмечали тяжелые некробиотические изменения с полным выпадением нейронов, деструкцией глиии, нервных волокон и образованием зернистых шаров в очагах размягчения. Обращала на себя внимание слабая выраженность клеточных реакций (Рисунки 146, 147 а). Не менее тяжелые изменения отмечали в стволовой части мозга: очаги деструкции ткани мозга, выраженный отек (Рисунок 147 б). Сохранившиеся нейроны с выраженными дистрофическими изменениями (отек, резкое набухание и гомогенизация цитоплазмы, исчезновение отростков, хроматолиз, эктопия ядра, цитолиз) (Рисунок 148). Следует отметить, что в изученных препаратах были выявлены морфологические признаки иммунного цитолиза практически во всех клеточных элементах: нейронах, глиоцитах, эпителиальных и адвентициальных клетках сосудов мягких мозговых оболочек (м.м.о.), что свидетельствует о пантропности вируса КЭ и подтверждает ранее полученные данные [97-99; 263; 343]. В мозжечке у умершего К. выявлено почти полное отсутствие ганглионарных нейронов (клеток Пуркинье), большей части нейронов в молекулярном и зернистом слоях, с резким истончением последнего (Рисунок 149).

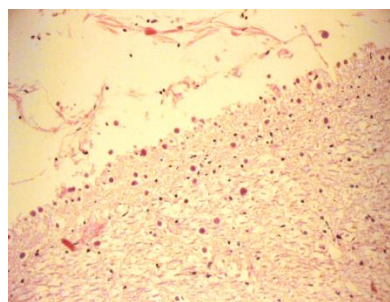


а

б

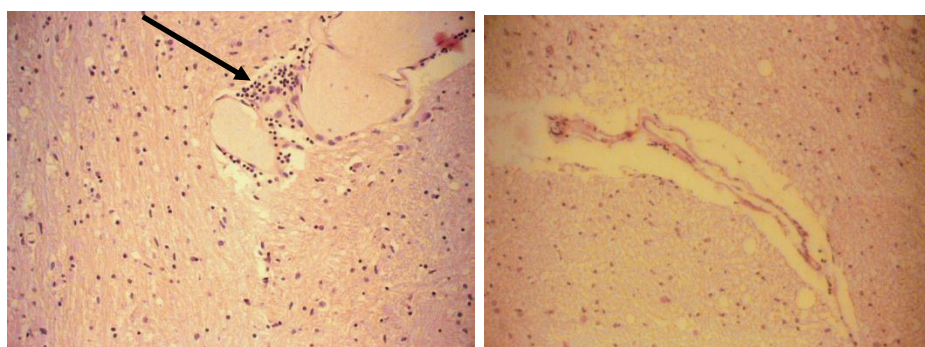
Участки м.м.о. теменной (а) и затылочной (б) областей, деструкция ячеек, стенок кровеносных сосудов, отек (б) разрушение эндотелия мелких кровеносных сосудов, слабая лимфоидноклеточная инфильтрация м.м.о. Отек нервной ткани. Дистрофические изменения и очаговая деструкция эпендимоцитов. ГЭ. х 400.

Рисунок 145 а, б – Больной К.



Участок коры большого мозга. Полное разрушение нейронов, глиоцитов, волокон, отек. Многочисленные зернистые шары, остатки м.м.о. ГЭ. х 400.

Рисунок 146 – Больной К.

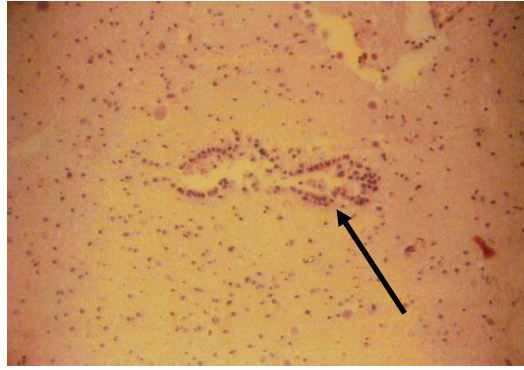


а

б

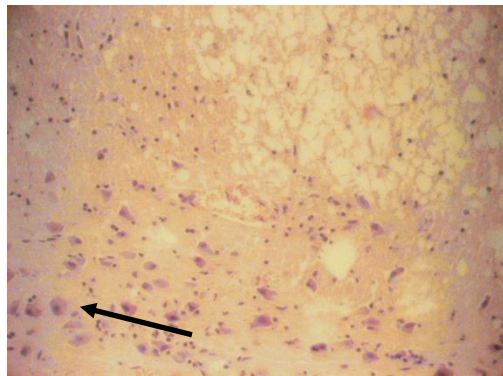
Подкорковые участки мозга: а – деструкция ткани, отсутствие нейронов, мелкие пикнотичные ядра глиоцитов, паретически расширенные сосуды с периваскулярной лимфоидной инфильтрацией и отеком (стрелка), внутрисосудистый гемолиз., б – тяжелые дистрофические изменения (отек, набухание, перинуклеарное просветление цитоплазмы, базофилия периферических отделов, исчезновение контуров ядра) и деструкция большей части нервных клеток, выраженный отек ткани мозга, деструкция стенок сосудов, периваскулярный отек. ГЭ. х 400.

Рисунок 147 а, б. – Больной К.



Стволовая часть с участком водопровода мозга, выстланного сохранными эпендимоцитами (стрелка). Кровоизлияние, диффузная лимфоцитарная инфильтрация, гибель нейронов. ГЭ. х 400.

Рисунок 148 – Больной К.



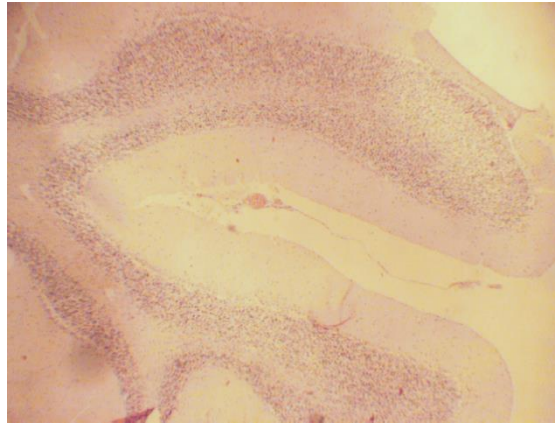
Булбарная часть мозга, вверху – полная деструкция мозговой ткани, отек, внизу – округлившиеся отечные нейроны без отростков, с гомогенизированной цитоплазмой и ядрами, расположенными по периферии, и клетки-тени (стрелка), кровоизлияние. ГЭ. х 400.

Рисунок 149 – Больной К.

Случай 2. Пациент Т., 32 года, проживал на территории Курганской и Челябинской областей. 26.07.2013 снял с собаки клеща, присасывание клеща отрицал, против КЭ не привит, экстренную серопротективную профилактику против КЭ не получал. Заболел остро 02.08.2013: температура – 38-39⁰С, общая слабость, нарастающая головная боль, тошнота, рвота, 4 дня находился дома. 05.08.2013 перестал вступать в контакт с окружающими. Госпитализирован с диагнозом: менингит. В СМЖ выявлены цитоз – 400 кл/мл³, лимфоцитоз – 90%, белок – 740 мг/мл, глюкоза – 3,8 ммоль/л. В СМЖ обнаружены IgG к вирусу КЭ в титре 1:100. В сыворотке крови IgM и IgG к возбудителям КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ, ЛЗН, а также к энтеровирусам не выявлены. Попытки выделить вирус КЭ и вирусную РНК из препаратов парафиновых блоков участков мозга пациента дали отрицательный результат.

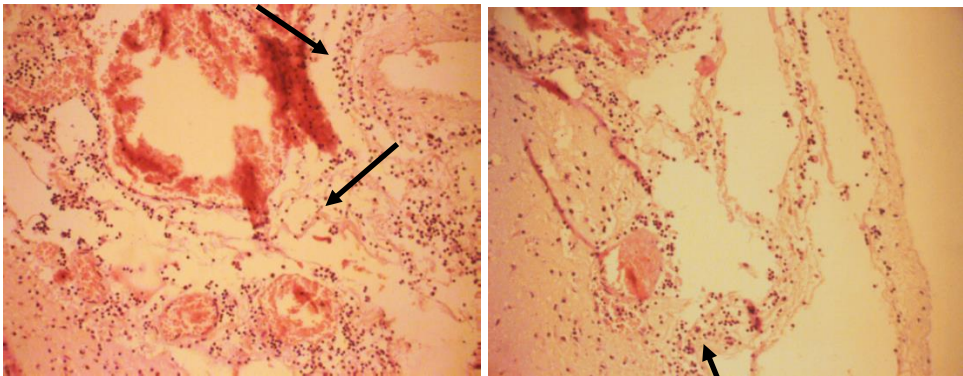
В лечении использовали: специфический иммуноглобулин против КЭ с титром 1:160 (5 инъекций) и в титре 1:320 (16 инъекций) внутримышечно (всего 126 мл), рибавирин 400 мг (65 доз), проводилась симптоматическая терапия. Состояние больного оставалось тяжелым, нарастали интоксикация, неврологические проявления (афазия, правосторонний гемипарез), развилась правосторонняя нижнедолевая пневмония (при поступлении пациента в стационар рентгенограмма органов грудной клетки была без патологии). 11.08.2013 больной был переведен на ИВЛ. 14.08.2013 на фоне нарастающего расстройства сознания с развитием комы 3 ст. была констатирована смерть. Заключительный диагноз: ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение. Госпитальная правосторонняя нижнедолевая пневмония, тяжелое течение. Отек головного мозга. Кома 3 ст.

При изучении препаратов м.м.о. умершего больного Т. были выявлены выраженные изменения во всех долях головного мозга. Характер и тяжесть этих изменений были сходными: резкая гиперемия, тромбоз, очаговая деструкция стенок сосудов, отек и деструкция ячеек, диффузная лимфоидноклеточная инфильтрация. В лобной и теменной долях отмечали также выраженные кровоизлияния (Рисунки 150, 152 а, б, 152 а, б). В коре и стволе головного мозга были выявлены тяжелые некробиотические изменения с гибелью большей части нейронов. Сохранившиеся нейроны имели морфологию, характерную для клеток после иммунного цитолиза – острое набухание, потеря отростков, тигролиз, гомогенизация цитоплазмы, эктопия и смазанность контуров ядер. В ткани мозга отмечались значительные расстройства кровообращения с явлениями гиперемии, внутрисосудистым гемолизом и одновременным образованием в части сосудов тромбов, очаговой деструкции стенок сосудов с развитием кровоизлияний. Вокруг отдельных сосудов выявлена слабая инфильтративно-продуктивная реакция. Во внутренних органах данного больного (легких, лимфатических узлах, селезенке, печени, почках, поджелудочной железе) были выявлены тяжелые дистрофические и некробиотические изменения, часть которых имела признаки, характерные для иммунного цитолиза.



Деструкция клеток Пуркинью, значительной части нейронов молекулярного и зернистого слоев коры и клеток глии. ГЭ. х 200.

Рисунок 150 – Больной К. Мозжечок.

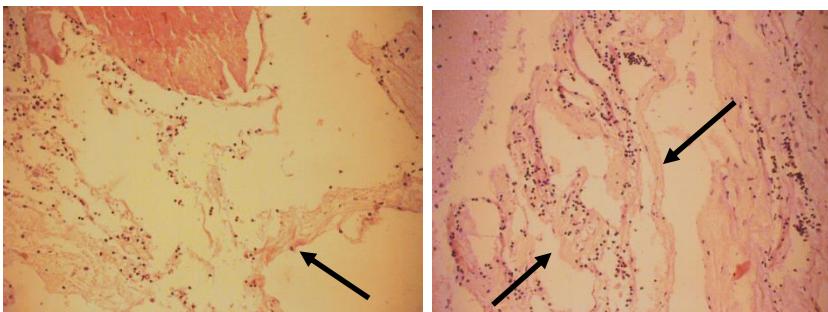


а

б

М.м.о. лобной доли мозга: а – деструкция ячеек, кровеносных сосудов, кровоизлияния, внутрисосудистый гемолиз и тромбоз, диффузные и периваскулярные лимфоидные инфильтраты, тромбы. ГЭ. х 400.

Рисунок 151 а, б – Больной Т.



а

б

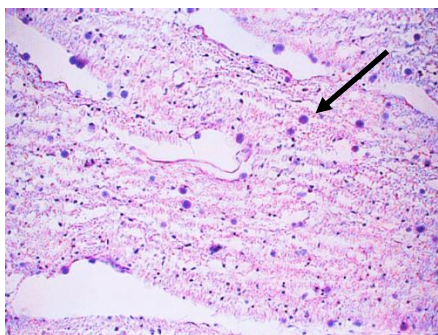
М.м.о. теменной доли мозга: деструкция ячеек, лимфоидноклеточная инфильтрация, гомогенизация и отек волокнистых структур. ГЭ. х 400.

Рисунок 152 а, б – Больной Т.

Случай 3. Пациент А., 66 лет, житель г. Пласт (лесостепная зона Челябинской области). 22.06.2012 произошло присасывание клеща. Экстренную серопрофилактику не получал, против КЭ не привит. Госпитализирован 25.06.2012 с клиническим диагнозом: ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение. Диагноз подтвержден сероконверсией специфических IgM и IgG. В сыворотке крови, взятой на 4-й день болезни, IgM и IgG отсутствовали, на 10-й день выявлены IgM (КП = 9,3), на 25-й день болезни определены специфические IgM (КП = 8,9) и IgG (титр 1:100). Антитела к возбудителям БЛ и ЛЗН не выявлены.

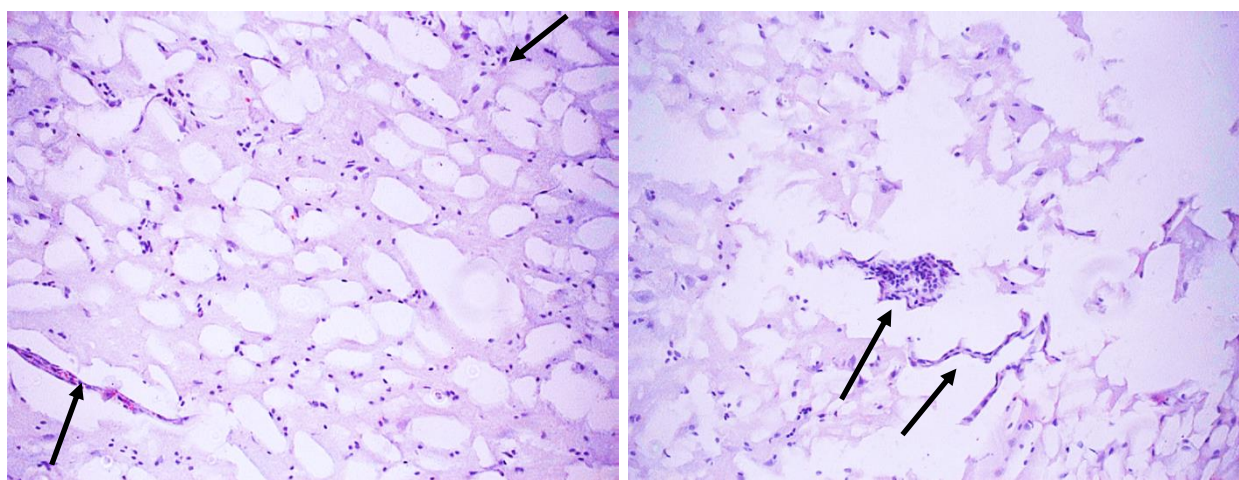
В связи с тяжелым состоянием больного, развитием комы 3 ст. пациент в течение 23 дней находился на ИВЛ. Специфический иммуноглобулин против КЭ вводился в течение 29 дней (титры 1:320, 3 раза по 6 мл в сутки). До развития комы пациент неоднократно препятствовал выполнению назначенных лечебных процедур, отказывался от введения антибиотиков, что способствовало активации условно-патогенной флоры с развитием воспаления в воздухоподводящем и респираторном отделах легких, и другим осложнениям (Таблица 101). 24.07.2013 на 29-е сутки от начала заболевания наступил летальный исход. Заключительный диагноз: ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение, кома 3 ст.

При изучении гистологических препаратов мозга умершего А. нами были выявлены деструкция лептоменинкса, коры (Рисунок 153) и подкорковых структур, аналогичные вышеописанным у больных К., Т. Однако выраженность этих изменений была значительно выше. Во многих полях зрения сохранялась только сеть – остатки набухших волокон, между которыми находилась отечная жидкость, однако даже в таких участках можно было найти пролиферирующие клетки, образующие новые капилляры, и даже очаговые скопления таких клеток (Рисунки 154 а, б). На плазмолемме пролиферирующих клеток методом флуоресцирующих антител (МФА) выявлено накопление антигена вируса КЭ. В более сохраненных небольших участках коры, подкорковой области, ствола головного мозга морфологическая картина была сходной с изменениями, представленными на Рисунке 149. У данного больного было выявлено также тяжелейшее поражение спинного мозга с дистрофическими и некробиотическими изменениями в нервных клетках, их значительным выпадением, отеком ткани мозга, лимфомоноцитарной инфильтрацией и формированием в очагах деструкции зернистых шаров.



Участок теменной коры большого мозга. Полное разрушение нейронов, глиоцитов, волокон, отек. Многочисленные зернистые шары в области размягчения ткани мозга. ГЭ. х 400.

Рисунок 153 – Больной А.



а

б

а – нейроны и строма мозга разрушены, отек. Окрашены ядра глиальных и соединительнотканых клеток и более крупные – перицитов. Новообразованный капилляр. Видны формирующиеся капилляры; б – образования островков пролиферирующих клеток, накапливающих антиген вируса КЭ на своей плазмолемме (на врезке, МФА. х600). ГЭ. х400.

Рисунок 154 а, б – Больной А.

Случай 4. Больная Я., 61 год, житель г. Копейска Челябинской области. 16.09.2013 отмечено присасывание клеща при посещении леса. Экстренную профилактику не проводили, против КЭ не привита. Заболела 26.09.2013, госпитализирована 01.10.2013 с диагнозом «Подозрение на клещевой энцефалит». В сыворотке крови от 01.10.2013 были выявлены IgG в титре 1:400 и IgM (КП = 3,0) к вирусу КЭ. Клинический диагноз: ОКЭ, менингоэнцефалополиомиелитическая форма, тяжелое течение. Сопутствующие заболевания: Ишемическая болезнь сердца, острый инфаркт миокарда от 02.10.2013 в передне-перегородочной и верхушечной зонах. Гипертоническая болезнь 3 ст., риск 4 по Killip. Хроническая сердечная недостаточность, I функциональный класс. Сахарный диабет 2 типа, декомпенсация. Отек

головного мозга. Синдром полиорганной недостаточности. Кома 3 ст. Больная провела на ИВЛ 17 дней. Дата смерти 18.10.2013. Заключительный диагноз: ОКЭ, менингоэнцефалополиомиелитическая форма, тяжелое течение. Острый инфаркт миокарда. Госпитальная правосторонняя нижнедолевая пневмония, кома 3 ст. При гистологическом исследовании м.м.о. лобной, теменной, затылочной областей мозга, была выявлена деструкция кровеносных сосудов, ячей, стромы, отек, разволокнение опорных структур, гемодинамические нарушения с гиперемией, кровоизлияниями, тромбозом и диффузная инфильтративно-продуктивная реакция. В ткани мозга отмечались выраженные дистрофические изменения нейронов (отек, набухание, потеря отростков, эктопия ядра, гомогенизация цитоплазмы, кариолизис), глии, клеточных элементов, инфильтратов (лимфоцитов и плазматических клеток). Значительная часть нервных клеток подвергались деструкции с образованием клеток-тканей. При этом периневральные клеточные реакции практически отсутствовали, встречались единичные лимфоцитарные инфильтраты. Из внутренних органов наиболее выраженные изменения развивались в лимфатических узлах и селезенке: деструкция лимфоидных фолликулов, Т-зависимых зон и стенок сосудов, отек и набухание структур стромы.

Случай 5. Пациент Л., 16 лет, житель Вытегорского района, Вологодской области. 25.05.2010 произошло присасывание клеща на берегу реки, против КЭ не привита, экстренную специфическую профилактику КЭ не проводили. Начало заболевания 07.06.2010, на 14-й день с момента присасывания клеща: высокая температура (до 39⁰С), сильная головная боль. 09.06.2010 развились слабость мышц шеи, дисфагия, судороги в конечностях. Пациент была госпитализирована в ЦРБ, а 10.06.2010 санитарной авиацией доставлена в ОКБ. Диагноз: ОКЭ, энцефаломиелитическая форма, тяжелое течение. Поскольку самостоятельного дыхания не было, 11.06.2010 была проведена трахеостомия, больная переведена на ИВЛ.

Данные МРТ от 15.06.2010 свидетельствовали о наличии энцефалитических очагов в проекции продолговатого мозга и зрительных бугров. Несмотря на проводимое по принятой схеме лечение, состояние больной ухудшалось: нарастала дыхательная и церебральная недостаточность, развилась кома 3 ст. Диагноз подтвержден выявлением IgM к вирусу КЭ методом ИФА в сыворотке крови и СМЖ. Необходимо указать, что первые пробы от 10.06.2010 и 11.06.2010 были отрицательные, и только в 3 пробе от 25.06.2010 в сыворотке крови были выявлены IgM (КП = 3,485) и IgG (ОП = 4,173), а также в СМЖ: IgG (ОП = 4,173), IgM (КП = 0,845) – отр.

Методом ПЦР из участков продолговатого мозга и верхней части спинного мозга умершей выделена РНК вируса КЭ. 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., эрлихий обнаружены не были. Патологоанатомом областной больницы описаны деструктивные изменения не только в ЦНС, но и в других органах, и сделан вывод: причина смерти – деструкция спинного и

головного мозга. При гистологическом исследовании, проведенном нами, выявлены массивная гибель нейронов, глиоцитов и других клеток головного и спинного мозга, многочисленные перисосудистые и диффузные лимфоидномоноцитарные инфильтраты, деструктивный отек мозгового вещества, периваскулярные и перицеллюлярные отеки, очаги деструкции ткани мозга, стенок кровеносных сосудов, барьеров. Наиболее сохранены были эпендимоциты, выстилающие полости желудочков мозга.

Случай 6. Пациент П. – ребенок 2 года 7 месяцев. Житель деревни Свердловская, Терновского района Вологодской области, против КЭ не привита. 13.05.2010 произошло присасывание клеща в область левой лопатки около дома, клеща удалили самостоятельно. 14.05.2010 ребенку ввели с профилактической целью специфический иммуноглобулин против КЭ (1 мл). Заболевание началось 26.05.2010 с подъема температуры до 39⁰С однократной рвоты. 27.05.2010 появились парез руки и ноги слева, невнятная речь. В тот же день пациент была госпитализирована в местную ЦРБ. С лечебной целью вводили специфический иммуноглобулин против КЭ (1,5 мл 2 раза в день – всего 7,5 мл.), наблюдалась тяжелая клиническая картина с парезами. 30.05.2010 больная переведена в ОКБ. Состояние крайне тяжелое: левосторонний парез, рвота, поперхивание, угнетенное сознание, кашель. Проведенное лечение: иммуноглобулин человека против КЭ по 2,0 мл 2 раза, гормоны, переливание плазмы. На фоне проводимого лечения расстройства продолжали прогрессировать, наблюдались отек мозга, судороги, кома 3 ст., тетрапарез, правосторонняя нижнедолевая пневмония, кровотечение из мочевыводящих путей. 31.05.2010 была проведена трахеостомия, больная переведена на ИВЛ. Смерть наступила 01.06.2010, на 5-й день заболевания. Диагноз: ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение. Судорожный синдром, тетрапарез, кома 3 ст. Диагноз подтвержден методом ИФА: обнаружены IgM (КП = 6,2) в сыворотке крови, IgM (КП = 1,7) в СМЖ, IgG – не обнаружены. В крови ребенка П. от 27.05.2010 и тканях мозга методом ПЦР выявлена РНК вируса КЭ. При гистологическом исследовании обнаружены деструктивные изменения нейронов, глиоцитов и других клеток мозга, периваскулярные и диффузные лимфоидномоноцитарные инфильтраты, единичные мелкие гранулемы, кариоцитоз, тромбообразование, периваскулярные и тканевые отеки, гомогенизация ядер и цитоплазмы нейронов. Менее были поражены эпендимоциты.

Таким образом, с помощью морфологических методов показана чрезвычайно высокая патогенность для человека сибирского подтипа вируса КЭ. Проведено иммуногистохимическое исследование головного мозга шести пациентов, умерших от КЭ, не получавших вакцинопрофилактику и экстренную серопротекцию, но получавших с целью лечения иммуноглобулин человека против КЭ. Во всех изученных случаях у пациентов отмечалось тяжелейшее течение КЭ, выявлено вирус-индуцированное поражение барьеров мозга, оболочек,

сосудов, коры, ганглиев, ствола, мозжечка с деструкцией нейронов, глии, нервных волокон. Быстро развивающееся поражение м.м.о. практически во всех отделах коры головного мозга, вероятно, связано с особенностями строения, иннервации и кровоснабжения м.м.о. и может быть обусловлено как, непосредственным воздействием вируса КЭ, так и быстро развивающимся иммунным цитолизом и интоксикацией [12; 244].

Массивная деструкция нейронов, глии, эндотелия, адвентициальных клеток сосудов и м.м.о., а также клеточных элементов лимфо-моноцитарных инфильтратов подтверждает не только высокую пантропность сибирского подтипа вируса КЭ, но и необходимость учитывать неблагоприятное влияние длительного пребывания на ИВЛ, резко выраженную иммунную гиперчувствительность и поражение лимфоидных органов иммунной системы.

Вакцинированные пациенты.

Случай 1.

История вакцинации и заболевания больной Б.

Обследована больная Б., 49 лет, домохозяйка, постоянно проживала в поселке Иткуль Каргапольского района Курганской области, держала коров. В течение 1998-2008 гг. получила 6 прививок против КЭ (Таблица 102). Четыре прививки сделаны томской вакциной НПО «Вирион», одна – вакциной «Энцефир», одна – вакциной производства ИПВЭ им. М.П. Чумакова. Первичный курс был проведен без нарушений схемы. Последующие 3 ревакцинации выполнялись с интервалами 1, 5 и 3 года.

Таблица 102 – График вакцинации пациента Б.

Вакцинация (V), ревакцинация (RV)	Дата	Вакцина	Серия	Доза, мл	Срок годности	Подтип вакцинного штамма
V1	30.03.1998	НПО «Вирион», Томск	167-2	1	?	д/в*
V2	30.04.1998	НПО «Вирион», Томск	167-2	1	?	д/в
RV1	16.03.1999	НПО «Вирион», Томск	225-10	1	?	д/в
RV2	23.03.2000	НПО «Вирион», Томск	21-2	1	?	д/в
RV3	12.02.2005	«Энцефир», Томск	030604	0,5	Июнь 2006 г.	д/в
RV4	06.03.2008	ИПВЭ им. М.П. Чумакова	107	0,5	Январь 2010 г.	д/в

Примечание: V1, V2 – первичная вакцинация, RV1-4 – ревакцинация, *д/в – дальневосточный подтип вируса КЭ

Заболела через 2 года после заключительной ревакцинации. Присасывание клеща в области темени произошло 18.05.2010 на пастбище. Клеща удалила самостоятельно, за медицинской помощью не обращалась. На 5-й день (23.05.2021) появились головная боль, головокружение, повышение температуры до 39⁰С. Госпитализирована в Каргапольскую центральную районную больницу с диагнозом "Болезнь Лайма? Клещевой энцефалит?" 24.05.2010 при поступлении в 21.50 пациент жаловалась на сильную головную боль, слабость, онемение спины, рвоту, неспособность к мочеиспусканию. Через 2 ч появились судороги без потери сознания. АД 110/80 мм рт. ст. С лечебной целью был введен специфический иммуноглобулин против КЭ (2 мл, титр 1:160). Из-за ухудшения состояния больная переведена в реанимационное отделение. 25.05.2010 в 2.30 отмечены генерализованные судороги, потеря сознания, нарушение дыхания. ИВЛ не проводилась. 25.05.2010 в 7.30 констатирована смерть больной. Клинический диагноз: ОКЭ, молниеносное течение, отек головного мозга. Результаты патологоанатомического исследования от 25.05.2010: м.м.о с расширенными сосудами, отечные, тускловатые. Борозды извилин больших полушарий мозга сглажены. Головной мозг со странгуляционной бороздой, в стволовых отделах вдавлен в большое затылочное отверстие. На срезах структура мозга сохранена. Вещество мозга набухшее с точечными периваскулярными кровоизлияниями. Макроскопически в шейном отделе спинного мозга, продолговатом мозге и варолиевом мосту патологии не наблюдалось. Патологоанатомический диагноз: основной – весенне-летний КЭ. Осложнения: отек и набухание головного мозга с вклиниванием стволовых отделов мозга в большое затылочное отверстие; острый респираторный дистресс-синдром. Особенность случая – практически отсутствует воспалительная клеточная инфильтрация в препаратах спинного и головного мозга при окрашивании срезов гематоксилином и эозином.

В посмертно исследованной крови больной методом ИФА выявлены IgG в титре 1:1600 при отсутствии IgM. Методом ПЦР в ткани спинного мозга и варолиева моста обнаружена РНК вируса КЭ.

Изоляция и изучение штамма Курган 118-2010 вируса КЭ.

Секционный материал поступил в ИПВЭ им. М.П. Чумакова через 5 нед после смерти больной. Из трех участков мозга – продолговатого мозга, варолиева моста, спинного мозга были приготовлены 10% вирусосодержащие суспензии, которыми были заражены однослойные культуры клеток СПЭВ. На уровне 3-го пассажа в культурах, зараженных суспензией спинного мозга на 6-е сутки, зафиксировано ЦПД. Культуральной жидкостью были заражены в мозг белые мыши, у которых на 4-е сутки развилось заболевание с пара- и тетрапарезами. Выделенный штамм был обозначен шифром Курган 118-2010. В культуре клеток СПЭВ штамм имел титр 10^{9.1} ТЦД₅₀/мл, титр гемагглютининов до 1:16-1:32, был высоковирулентным для белых мышей (титр

$10^{9,75}$ ЛД₅₀/мл) и высокоинвазионным (ИИ = 1,09). При заражении сирийских хомяков погибли 40% животных, СПЖ 20 дней.

Молекулярно-биологическими методами обнаружена РНК вируса КЭ и проведено генотипирование штамма Курган 118-2010. Всего генотипировано 6 биопроб: из мозга двух больных белых мышей, двух больных сирийских хомяков и культуральной жидкости от 3-го и 4-го пассажей в клетках СПЭВ. Во всех материалах выявлен сибирский подтип вируса КЭ. Концентрация РНК вируса КЭ в биопробе штамма Курган 118-2010 из мозга мышей была $1,09 \times 10^7$ копий/мл. Секвенирование полного Е-гена показало принадлежность штамма Курган-118-2010 к европейскому топоварианту сибирского подтипа вируса КЭ.

Гистологическая характеристика изменений в мозге мышей.

На гистологических препаратах мозга мышей, зараженных штаммом Курган-118-2010, выявлены дистрофические и дегенеративные изменения части нейронов и нейроглиоцитов в области коры большого мозга, в мозжечке, нижней оливе, ядрах черепных нервов. Развивались кариолизис и цитолиз, выпадение нейронов, а в некоторых участках – пикнотические изменения. Значительно повреждались кровеносные сосуды микроциркуляторного русла, эндотелий, а также стенки более крупных сосудов. Эндотелиоциты часто отслаивались. Видны многочисленные периваскулярные и менее выраженные периневральные отеки. Воспалительные изменения вокруг сосудов мозга и его оболочек выражены незначительно. Преобладали небольшие перисосудистые инфильтраты, состоящие преимущественно из лимфоцитов, макрофагов, перицитов. Встречаются единичные полиморфно-ядерные лейкоциты (Рисунок 155 а-г).

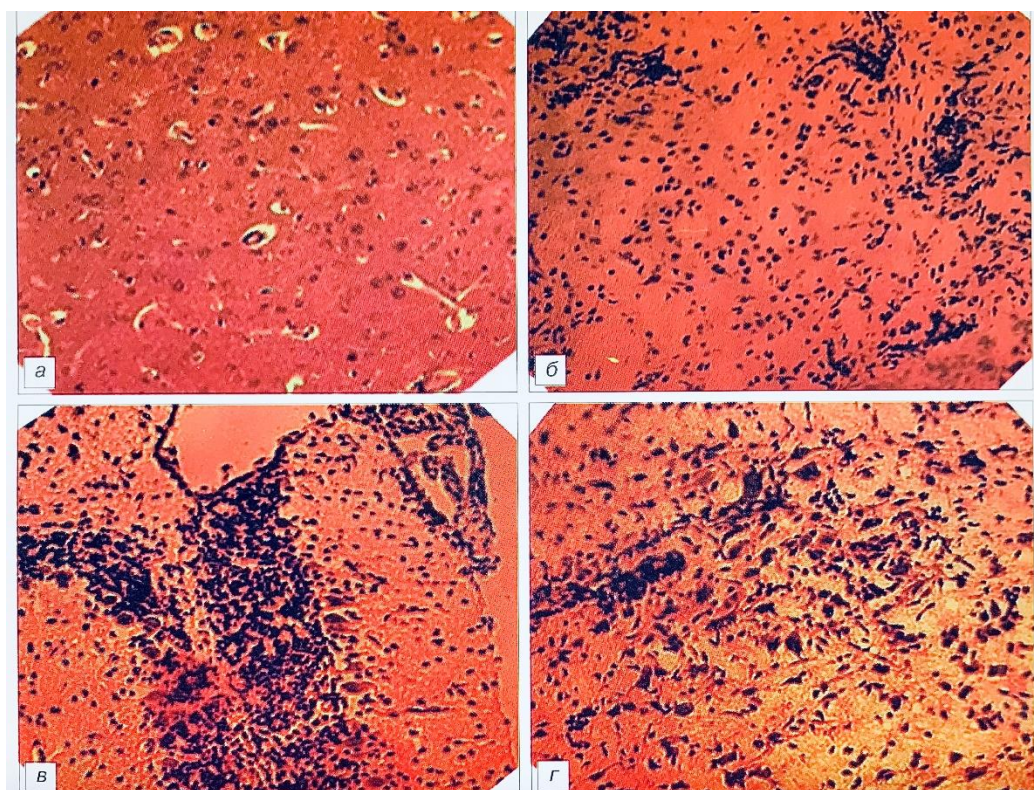


Рисунок 155 а-г – Гистологическая характеристика изменений в мозге мышей, зараженных штаммом Курган-118-2010

Локализация антигена в структурах мозга белых мышей.

Специфический антиген выявлен с помощью МФА в нейронах, глиоцитах, эндотелиоцитах, в части клеток инфильтратов. Наиболее интенсивное свечение отмечено в крупных нейронах коры мозга, ганглионарных клетках Пуркинье мозжечка, нейроэпителиальных сосудистых сплетениях мозга и эпендимоцитах. В контрольных препаратах свечение отсутствовало (Рисунок 155 д-и).

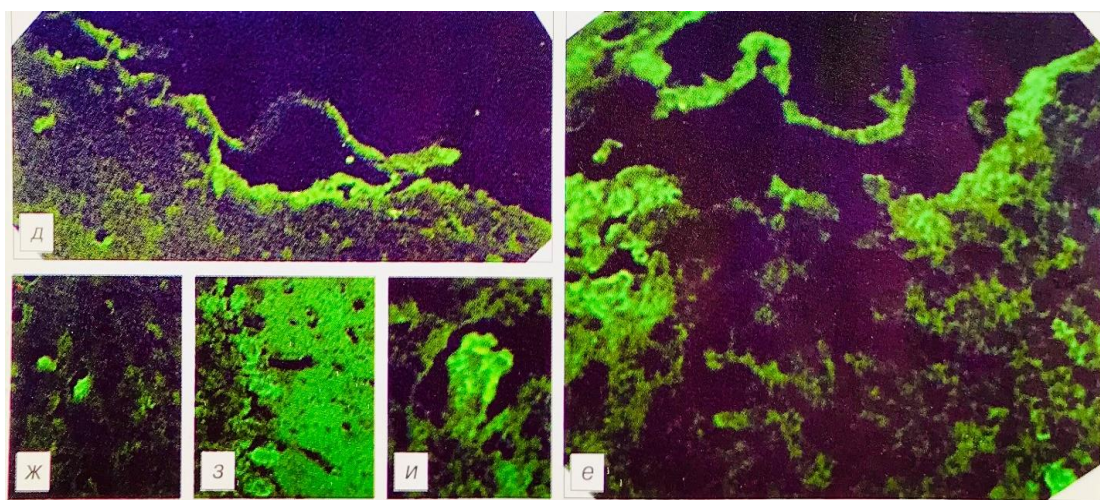


Рисунок 155 д-и – Локализация антигена вируса КЭ в структурах мозга белых мышей

Необычность описанного случая КЭ состоит в развитии на фоне вакцинального иммунитета тяжелого заболевания с молниеносным течением и летальным исходом. Инкубационный период длился 5 дней, прошло 55 ч от появления первых симптомов болезни до наступления смерти. Особенности патологоанатомической картины были почти полное отсутствие воспалительной клеточной инфильтрации, отек и набухание головного мозга с вклиниванием ствольных отделов в большое затылочное отверстие. Резкий отек мозговой ткани при маловыраженных воспалительных изменениях наблюдается у больных КЭ, умерших в первую неделю болезни [194]. Изолированный от больной Б. штамм Курган-118-2010 вызвал типичные морфологические изменения в мозге белых мышей при развитии характерных клинических симптомов.

Патогенез заболевания у больной Б. может быть связан с комплексом иммунопатологических реакций и генетическим несоответствием вакцинных и инфицирующего штаммов.

Описанный нами случай не является единственным. Ниже представлены материалы о тяжелом течении КЭ у 7-кратно привитого пациента из Челябинской области.

Случай 2.

История вакцинации и заболевания больного М.

Пациент М., 59 лет, житель г. Челябинска, инженер в системе Газтранс, ежегодно проходил диспансеризацию. Последний осмотр с заключением о допуске к работе был получен 11.04.2011. Привит и ревакцинирован против КЭ (Таблица 103). Первичный курс – 3 прививки и 2 ревакцинации проведены вакцинами из штаммов дальневосточного подтипа вируса КЭ, следующие ревакцинации зарубежными вакцинами на основе штаммов европейского подтипа. Между 1-й и 2-й, 3-й и 4-й ревакцинациями интервалы были сокращенные на 1-2 года. Таким образом, пациент получил полный законченный курс вакцинопрофилактики КЭ, 8 прививок с использованием всех современных вакцин из штаммов дальневосточного и европейского подтипов вируса КЭ (Таблица 103).

Таблица 103 – Прививочный анамнез больного М.

Вакцинация, ревакцинация	Год	Вакцина	Серия	Подтип вакцинного штамма*
Первичный курс, 3 прививки	1999	НПО Вирион, Томск	?	дв
RV1	2000	НПО Вирион, Томск	?	дв
RV2	2001	ФГБУ ИПВЭ им. М.П. Чумакова РАМН	588	дв
RV3	2004	Енсериг	031011F	евр
RV4	2005	Енсериг	054021F	евр
RV5	2009	FSME-immun	VNR1H09B	евр

Примечание: *дв – дальневосточный подтип вируса КЭ, *евр – европейский подтип вируса КЭ.

История болезни, клиника.

Через 2 года после 5-й ревакцинации, 20.05.2011, в районе верхнего Уфалея (высокоэндемичная горнолесная зона), заметил присасывание двух клещей в области живота и левого бедра. Клещей удалил самостоятельно, экстренную серопрфилактику не получал. Спустя 10 дней, 30.05.2011, почувствовал головную боль, слабость в левых конечностях. 31.05.2011 появились судороги в конечностях, нарушение речи. Госпитализирован в инфекционное отделение ГКБ № 8 с диагнозом: ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, средней степени тяжести. С лечебной целью введен специфический иммуноглобулин против КЭ внутримышечно 6 мл в титре 1:160. 01.06.2011 состояние пациента ухудшилось, в связи с дыхательной недостаточностью переведен на ИВЛ в реанимационное отделение. 01.06.2011 в 10.00 состояние больного было ближе к тяжелому, отмечались ригидность затылочных мышц – 1 балл, парез в левой руке до 3 баллов, в левой ноге – 4 балла. АД – 180/110 мм рт. ст.

01.06.2011 14.40. у больного был отмечен генерализованный судорожный припадок с прикусыванием языка. Из дневника дежурного реаниматолога: 02.06.2011 16.00 – 03.06.2011 9.00: состояние больного тяжелое, обусловленное поражением ЦНС, нарушением сознания, очаговой неврологической симптоматикой, дыхательной недостаточностью, эндогенной интоксикацией, эписиндром.

04.06.2011 Состояние тяжелое, нарушение сознания до комы 3 ст., очаговая неврологическая симптоматика. Питание через зонд.

05.06.2011 10.00. Состояние больного тяжелое. Мышечный тонус – диффузная гипотония. Сухожильные рефлексы не вызываются. Менингеальных знаков нет. ИВЛ. Питание через зонд.

06.06.2011 Диагностирована левосторонняя нижнедолевая пневмония, проведена трахеостомия. Продолжается ИВЛ. Проведена противовирусная терапия (10 инъекций специфического иммуноглобулина против КЭ в титре 1:160), сосудистая, противоотечная, метаболическая, антибактериальная терапия.

07.06.2011 16.00. Состояние крайне тяжелое. Сознание медикаментозно загружено. Выраженная гипертермия, резистентная к введению жаропонижающих средств. Гемодинамика стабильная: артериальная гипотензия на фоне возрастающих доз вазопрессоров, АД 70/40–60/30 мм рт.ст., ЧСС до 100 в минуту, пульс слабого наполнения. В 16.30 07.06.2011 внезапно произошла остановка сердца. Реанимационные мероприятия, непрямой массаж сердца. В 17.05 07.06.2011 констатирована смерть пациента М.

Иммунологические исследования.

Методом ИФА в сыворотках крови больного М., взятых на 3-й и 5-й дни болезни, выявлены IgM к вирусу КЭ (КП = 6,2) и IgG (в титре 1:1600). На 8-й день болезни титр IgG составил 1:12800 (Таблица 104). Не найдено специфических антител к возбудителям БЛ, ГАЧ и МЭЧ. По

результатам серологических исследований необходимо дифференцировать вакцинальный и инфекционный иммунитет. Известно, что после 2-3-кратной вакцинации IgM могут сохраняться в крови реципиентов несколько месяцев [624]. У пациента М. заболевание развилось через 2 года после 5-й ревакцинации. Наличие в первых сыворотках крови IgM трудно объяснить предшествующей вакцинацией, тогда как IgG в титре 1:1600 могут быть проявлением вакцинального иммунитета.

Таблица 104 – Результаты прижизненного и посмертного обследования пациента М.

День болезни	Метод	Материал	Результат
3-й	ИФА	Сыворотка	IgM: КП = 6,2; IgG 1:1600
5-й	ИФА	Сыворотка	IgM: КП = 6,2; IgG 1:1600
8-й	ИФА	Сыворотка	IgG 1:12800
9-й	Вирусология: 10 пассажей в культуре СПЭВ	Суспензия головного мозга (из 10% формалина)	ЦПД отсутствует, вирус не выявлен
	Вирусология: пассажи на мышах	Суспензия головного мозга (из 10% формалина)	Животные не болели, вирус не выделен
	ПЦР	10% суспензии мозга, почек, печени, селезенки, легких, стенки кишечника	РНК вируса КЭ не выявлена
	Иммунофлуоресценция	Препараты головного мозга	Выявлен антиген вируса КЭ в нейронах
	Гистология	Гистологические препараты головного мозга	Морфологические изменения в ЦНС, гибель нейронов, периваскулярный, перичеллюлярный отек и др.

Однако 8-кратная сероконверсия IgG подтверждает диагноз «Клещевой энцефалит». Безусловным доказательством клинического диагноза служит выявление в структурах головного мозга пациента М. антигена вируса КЭ МФА (результаты приведены ниже). В ОАК от 01.06.2011 и 06.06.2011: нарастающий лейкоцитоз, выраженный дефицит лимфоцитов в течение всего срока заболевания 3,2%-4,3% (референс показатели 42,0%-78,0%), повышенное содержание нейтрофилов (90,6%-94,0%) и незрелых гранулоцитов (0,6%-1,7%).

Морфологическое исследование мозга пациента М.

Результаты патологоанатомического исследования, проведенные в МУЗ ГKB №8 г. Челябинска от 08.06.2011: выраженный перичеллюлярный отек, умеренное полнокровие сосудов, эритроцитарные стазы, местами присутствуют перичеллюлярные инфильтраты из лимфоцитов, мононуклеаров. Нейроны с очаговыми дистрофическими, некробиотическими изменениями, мелкие очаги деструкции в сером и белом веществе со скоплениями мононуклеаров, деструктивный отек. Хроматолиз в нейронах, отдельные клетки-«тени», апоптозные тельца. Мозжечок – дистрофические изменения нейронов, одиночные миелиновые шары, отек.

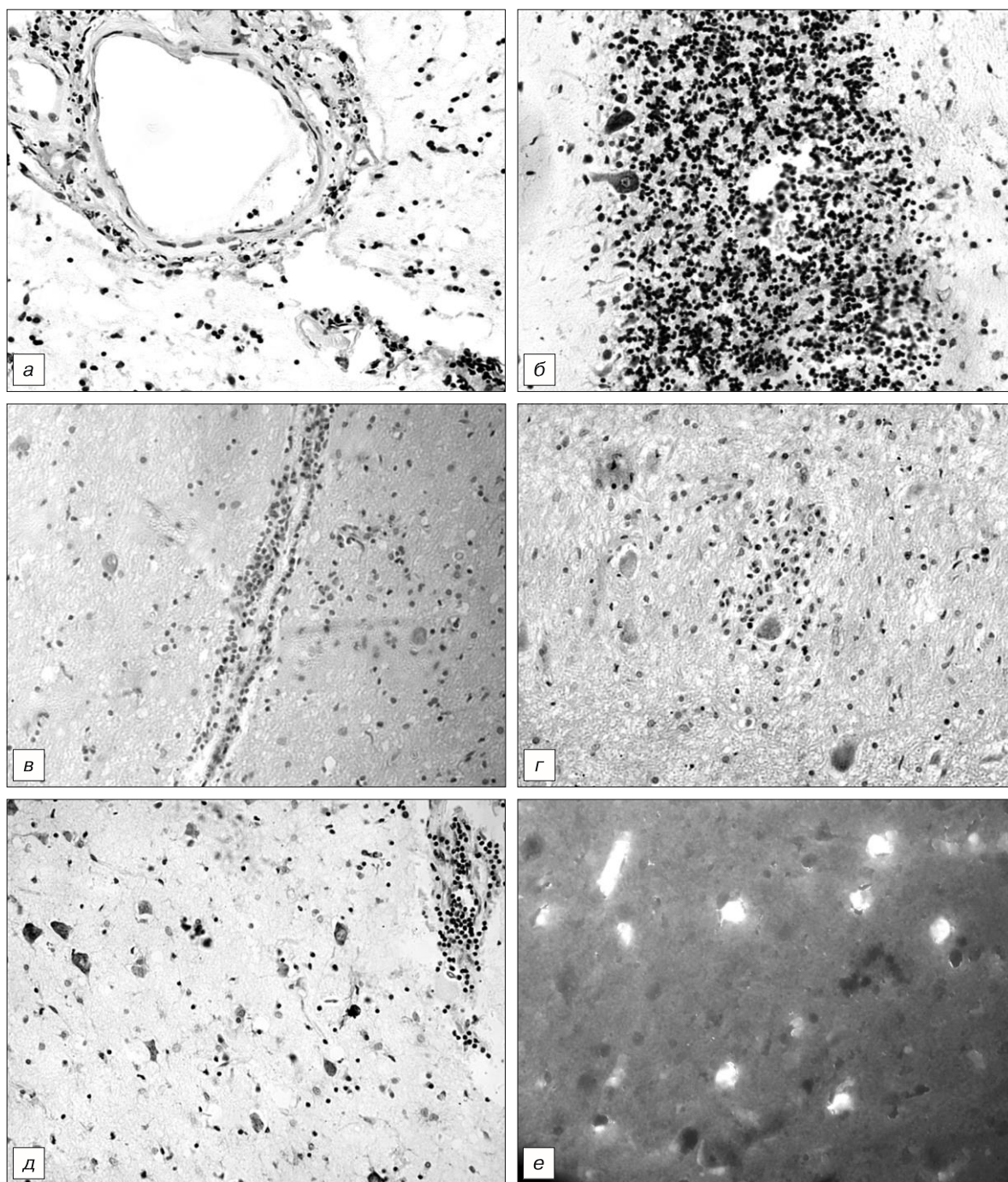
Заключение комиссионного разбора летального исхода КЭ (01.07.2011). Основной диагноз: ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, тяжелое течение, левосторонний гемипарез. Симптом афатических нарушений. Фоновый диагноз: ревматоидный полиартрит, суставно-висцеральная форма с поражением почек. Осложнения: отек-набухание головного мозга, почечная недостаточность, внутрибольничная очаговая пневмония, отек легких. Непосредственная причина смерти: отек-набухание головного мозга.

Дополнительные гистологические и иммуноморфологические исследования. В ФГАНУ ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита) исследованы гистологические препараты мозга пациента М., выявлена сложная картина морфологических изменений, обусловленных возрастом больного, сопутствующими заболеваниями и КЭ. Специфичность поражений, вызванных вирусом КЭ, подтверждена локализацией и характером изменений, а также выявлением антигена вируса КЭ методом иммунофлюоресценции.

При детальном изучении гистологических препаратов головного мозга выявлена разная степень тяжести изменений в левом и правом полушариях. В последнем произошли почти полное разрушение и потеря нейронов, глиоцитов, отслоение и гибель эндотелио-, миоцитов микроциркуляторного русла, перицитов кровеносных сосудов правого полушария (Рисунок 156 а).

Преобладали пикнотические изменения с гиперхроматозом погибших клеток, встречались лизированные клетки-«тени». Развились стазы, периваскулярный и перицеллюлярный отек, образование (особенно в коре) деструктивных базофильных телец. В мозжечке отмечены почти полная гибель клеток Пуркинье и значительное разрежение зернистого слоя (Рисунок 156 б), незначительная лимфомоноцитарная инфильтрация. В левом полушарии выявлены такие же, но гораздо менее выраженные изменения. Повреждение нейронов отмечено в характерных индикаторных зонах: нейронах предцентральной извилины, черной субстанции, нижней оливы, ядрах черепных нервов, в мозжечке. Кровообращение в основном сохранено. Образовывались значительные периваскулярные инфильтраты (Рисунок 156 в), периневральные отеки, глиальные нейронофагические узелки (Рисунок 156 г), отек.

Антиген вируса КЭ методом иммунофлюоресценции четко выявлялся преимущественно в более сохранившихся нейронах левого полушария (Рисунок 156 е). В погибших клетках обоих полушарий видны только незначительные остатки антигена. Результаты прижизненных и посмертных исследований пациента М. отражены в Таблице 104.



а – разрушение нервной ткани, стенок кровеносных сосудов, периваскулярных инфильтратов, отек в правом полушарии большого мозга; б – потеря грушевидных нейронов Пуркинье, корзинчатых и звездчатых нейронов молекулярного слоя, зерновидных нейронов в правом полушарии мозжечка; в – разрушение эндотелия периваскулярная и диффузная инфильтрация, гибель нейронов; г – периневральные отеки, глиальный узелок, дистрофия нейронов; д – сохранение части нейронов, периваскулярные и диффузные инфильтраты; а–д – окраска: кризидный прочный; е – непрямым методом флюоресценции антител. ГЭ. х200.

Рисунок 156 а-е – Морфологические изменения в мозге пациента М.

Вирусологические и молекулярно-биологические исследования.

После отмытки от формалина ткань мозга была суспендирована, 10% суспензией заражены культуры клеток СПЭВ и 20 белых мышей. В культурах клеток проведено 10 пассажей,

деструкции клеток не наблюдали. Мыши, зараженные исходной 10% суспензией мозга и культуральной жидкостью от разных пассажей, не заболели. 10% суспензии мозга, селезенки, печени, почек, легких и стенки кишечника были исследованы методом ПЦР на наличие РНК вируса КЭ. Кроме суспензии мозга пациента, исследованы культуральная жидкость разных уровней пассажей и мозг зараженных мышей. Ни в одном из образцов выявить вирусную РНК не удалось. Негативные результаты могли быть связаны с масляной деградацией вирусной РНК формалином и инактивацией вируса КЭ.

Представление о том, с каким подтипом вируса КЭ связано заболевание пациента М., дают результаты изучения генетической структуры популяции вируса КЭ, переносимой клещами на территории Челябинской области. Публикация О. В. Морозовой и соавт. [193] относится к локальному антропургическому очагу (пос. Каштак), где авторы в 2009 г. изолировали из клещей *I. persulcatus* РНК вируса КЭ сибирского подтипа, геновариант «Заусаев».

В 2014 г. при обследовании клещей *I. persulcatus*, собранных в районе г. Златоуст (горнолесная зона), в образце № 100 обнаружена РНК вируса КЭ сибирского подтипа, геновариант «Заусаев» [32; 270].

Таким образом, представленные результаты исследования показали, что в различных районах Челябинской области циркулирует сибирский подтип вируса КЭ, с которым связана этиология летальных случаев заболевания. Диагностика КЭ у вакцинированных пациентов, особенно в случаях с летальным исходом, трудна из-за необходимости дифференциации вакцинального и инфекционного иммунитета и получения комплекса доказательств специфичности инфекционного процесса. В случае, зарегистрированном в Челябинской области у пациента М., многократно привитого вакцинами из штаммов дальневосточного и европейского подтипов вируса КЭ, диагноз КЭ подтвержден эпидемиологическими, клиническими, гистологическими данными, детекцией в сыворотках крови специфических IgM и сероконверсией IgG, а также выявлением антигена вируса клещевого энцефалита в нейронах головного мозга пациента с использованием метода иммунофлюоресценции.

9.2. Характеристика заболеваемости клещевым энцефалитом, вызванным сибирским подтипом возбудителя среди вакцинированного населения, некоторые механизмы развития патологического процесса

До последнего времени лишь в единичных статьях описывались случаи заболевания вакцинированных с характеристикой условий вакцинации, клинической картины, динамики иммунитета и способов лабораторного подтверждения диагноза [267; 284]. В данной главе

диссертационного исследования приведена характеристика случаев заболеваемости КЭ в основном у вакцинированных пациентов, а также механизмы развития патологического процесса при различных клинических формах заболевания, в т.ч. летальных исходах, изученные нами.

Эпидемиологическая эффективность вакцинопрофилактики КЭ при массовой иммунизации достигает 98%, что отражает степень защиты от заболевания привитого населения в отличие от непривитых [324]. Среди вакцинированных наблюдаются заболевания, доля которых от общего числа больных КЭ колеблется от 3,7% в Челябинской области [32] до 29,45% в Курганской области [319]. Клиническая эффективность вакцинации проявляется в увеличении доли легких лихорадочных форм КЭ и снижении доли менингеальных и очаговых форм болезни.

Показано, что увеличение на 22% доли лихорадочной формы у привитых близко к показателю снижения менингеальной и очаговых форм болезни [72]. На основании этого можно предположить, что у вакцинированных лиц имеется механизм, способный предотвращать проникновение вируса в ЦНС. С позиций патогенеза КЭ различие между лихорадочной формой болезни, с одной стороны, и менингеальной и очаговыми формами КЭ, с другой стороны, заключается в степени вовлечения в патологический процесс ЦНС.

Патогенез КЭ в невакцинированном организме при трансмиссивном механизме заражения включает несколько этапов: размножение вируса в области «входных ворот» (кожа, подкожная клетчатка), развитие кратковременной репродуктивной вирусемии, проникновение вируса в ближайшие региональные лимфатические узлы с последующим развитием висцеральной фазы инфекции при размножении вируса в селезенке, печени, почках и других органах. В результате массивной репродукции вируса, обладающего пантропными свойствами, развивается вторая волна вирусемии, вирус проникает в различные органы и ЦНС гематогенным и лимфогенным путями. При этом нарушается проницаемость ГЭБ. В распространении вируса участвуют клеточные элементы крови – макрофаги и другие. Закономерности патогенеза КЭ в вакцинированном организме крайне мало изучены.

Заболеваемость привитых зависит от множества факторов, которые можно разделить на три группы: факторы, характеризующие особенности организма; факторы, связанные с состоянием иммунитета; группа факторов, касающаяся вируса, его дозы и свойств. Количественная оценка указанных факторов трудна и может касаться в определенной степени только уровня иммунитета и дозы вируса. Нами описаны два феномена, учитывающие взаимодействие вируса и специфических антител: неполная нейтрализация вируса и гипериммунизация. В Таблице 105 показано разнообразие условий, при которых может преодолеваться защитное действие вакцинального иммунитета, т.е. приведены различные варианты взаимодействия вируса и антител.

Таблица 105 – Условия взаимодействия вируса со специфическими антителами в вакцинированном организме

Феномен	Условия взаимодействия
Неполная нейтрализация вируса, отсутствие нейтрализации	Избыточная доза вируса при титре вакцинального иммунитета IgG 1:100 – 1:6400
	Снижение уровня вакцинального иммунитета из-за отсутствия ревакцинаций
	Нейрогенный путь распространения вируса в организме без взаимодействия с антителами
	Отсутствие взаимодействия с антителами антиген-дефектных штаммов вируса, лишенных гемагглютинирующей активности, рецепторной активности, с низкой авидностью
Гипериммунизация (иммунологическая толерантность) со снижением уровня иммунитета	Врожденные или приобретенные дефекты иммунной системы организма
	Повторное введение антигена
	Сверхвысокие титры специфических антител

Полная и неполная нейтрализация вируса.

Как у исходно серонегативных лиц после трех прививок, так и у населения эндемичной территории, получившего 3-10 прививок, уровень гуморального иммунитета колеблется в титрах IgG от 1:100 до 1:6400. В Таблице 106 показана нейтрализующая активность сывороток с указанными титрами IgG в отношении доминирующего на территории РФ сибирского подтипа вируса. В этих экспериментах реакцию нейтрализации (РН) мы проводили методом, позволяющим определять степень защиты от различных доз вируса КЭ. Вирус, взятый в разведениях от 10^{-3} ЛД₅₀ до 10^{-9} ЛД₅₀ соединяли с контрольной отрицательной и испытуемыми иммунными сыворотками и по разнице титров определяли индекс нейтрализации вируса (IgИН). При титре 1:6400 достигалась максимальная нейтрализация 10^5 ЛД₅₀/мл или ТЦД₅₀/мл. В индивидуальных клещах *I. persulcatus* преобладает концентрация вируса $10^2 - 10^{4,9}$, до 20-30% клещей содержат вирус в концентрации 10^5-10^7 , в отдельных клещах доза вируса может достигать 10^9 БОЕ/мл [275]. При высокой заражающей дозе часть вируса не может быть нейтрализована. В Таблице 106 показана в качестве примера величина оставшегося свободным вируса, если концентрация вируса в клещах достигала бы 10^7 ЛД₅₀/мл.

Таблица 106. Нейтрализующая активность сывороток привитых в отношении различных доз вируса КЭ сибирского подтипа

Титр IgG	Защита от доз вируса ЛД ₅₀ *	Оставшаяся ненейтрализованная фракция**
1:100	1,0-1,5	10 ^{5,5}
1:200	1,6-1,9	10 ^{5,0}
1:400	2,0-2,7	10 ^{4,3}
1:800	2,8-3,0	10 ^{4,0}
1:1600	3,1-3,5	10 ^{3,5}
1:3200	3,2-3,6	10 ^{3,4}
1:6400	4,0-5,0	10 ^{2,0}

Примечание: * - указана нейтрализующая (IgИН) активность в отношении различных штаммов сибирского подтипа, выделенных нами: Челябинск-Абд-2012, Курган 269-2007, Курган 118-2010; ** - величина инфекционного вируса, оставшегося свободным после нейтрализации (ненейтрализованная фракция), рассчитана условно для дозы вируса в клещах 10⁷ БОЕ/мл.

Приведенные в Таблице 106 результаты РИ получены при взаимодействии вируса и сыворотки *in vitro* в течение одного часа при 37⁰С. В организме нейтрализация может происходить постепенно, и оставшийся инфекционный вирус будет размножаться, достигая более высоких титров, чем указано в Таблице 105. В работе Г. Н. Леоновой [157] показан исход инфекции, вызванной вирусом КЭ, оставшимся после нейтрализации. Испытывали нейтрализацию высоковирулентного штамма вируса КЭ дальневосточного подтипа специфическим иммуноглобулином против КЭ с титром IgG 1:100, 1:400 и 1:3200. Вирусом, взятым в эпидемиологически значимой дозе 10³ТЦД₅₀, заражали под кожу белых мышей. При взаимодействии вируса с иммуноглобулином IgG в титре 1:100 наблюдалась быстрая гибель всех мышей. При титре иммуноглобулина 1:400 подавлялись только ранние этапы размножения вируса, мыши погибали в более поздние сроки. Иммуноглобулин IgG в титре 1:3200 полностью подавлял репродукцию вируса и продукцию вирусного антигена.

Приведенные данные показывают один вариант формирования ненейтрализованной фракции - когда заражающая доза была избыточно высока. Другие варианты формирования ненейтрализованной фракции вируса КЭ могут быть связаны со слабой авидностью как вируса, так и специфических антител. В природе существуют так называемые антиген-дефектные штаммы вируса КЭ, лишенные гемагглютинирующей активности. Такие штаммы изолированы из клещей, а также от больных КЭ [325]. Детальные исследования антиген-дефектных штаммов выявили мутации в генах белков E и NS1, снижение рецепторной активности и нарушение заключительных этапов сборки вириона [777]. Взаимодействие вируса с сывороточными антителами может быть затруднено при некоторых путях заражения. Например, при аэрозольном заражении, когда вирус проникает в мозг через обонятельный нерв.

Таким образом, существует несколько механизмов формирования ненейтрализованной фракции вируса КЭ, величина которой может влиять на исход заражения и заболевания.

Феномен гипериммунизации.

К гипериммунизации относят такие случаи иммунного ответа, когда происходит многократная иммунизация одним или несколькими близкими антигенами или формируются сверхвысокие титры антител. Повторное введение антигена может привести к иммунологической толерантности, т.е. специфическому подавлению иммунного ответа, которое может быть полным, когда образование антител не выявляется, или частичным [176]. Одним из видов приобретенной толерантности может быть ареактивность при белковой перегрузке. Доза антигена, превышающая обычный уровень гуморального иммунитета, приводит к толерантности. Чем больше доза антигена, тем выше степень толерантности и тем она длительнее [235]. При вакцинопрофилактике разными вакцинами всегда существует группа людей (10-15%) с высоким и очень высоким уровнем специфических антител [118]. При высоких титрах антител подавляется образование новых антител, активизируется образование иммунных комплексов, усиливается побочное действие вакцин [176]. *In vivo* сроки необходимого для индукции толерантности времени сильно варьируют и во многих случаях требуется длительный период. Длительная толерантность может быть связана с персистенцией антигена или повторным его введением. При этом толерантность не исчезает мгновенно при устранении толерогена.

Значение феномена толерантности в иммунном ответе при КЭ недостаточно изучено, хотя имеются предпосылки для его проявления. При КЭ предусмотрена повторная ревакцинация, оптимальное число прививок неизвестно.

Исследования, проведенные в Свердловской области, показали, что при иммунизации реципиентов современными вакцинами более высокий уровень иммунного ответа наблюдался у исходно серонегативных лиц сравнительно с лицами, имевшими предшествующий иммунитет [31]. Показано также, что многократная вакцинация больных ХКЭ (вакцинотерапия) могла приводить к существенному снижению специфического иммунитета [232]. Как указывалось выше, проявлением негативного эффекта гипериммунизации является образование сверхвысоких титров антител. При КЭ отсутствует представление о сверхвысоких титрах антител. У вакцинированного населения крайне редко выявляются IgG в титре 1:6400 (7%). Возможно, этот показатель является сверхвысоким титром сравнительно с нижним порогом защитного титра антител IgG 1:100, определяемым санитарно-эпидемиологическими правилами [256]. При сверхвысоких титрах антител подавляется продукция новых антител и снижается их уровень.

По данным РТГА, защитным считается титр 1:20, высоким – титр 1:60 [176]. У изученного В. В. Погодиной с соавт. [33] больного с ХКЭ выявлены антигемагглютинины в титре 1:320, что, безусловно, можно считать сверхвысоким уровнем иммунитета, тем более, что в дальнейшем уровень антител существенно снизился.

В настоящем исследовании на примере конкретных вакцинированных больных с острыми и хроническими формами КЭ анализируются некоторые механизмы развития патологического процесса с особым вниманием к таким феноменам, как степень нейтрализации вируса (полная или неполная) и гипериммунизация [272; 273; 300].

На примере восьми пациентов рассматривается динамика клинической симптоматики, иммунитета, свойства изолированных штаммов вируса и другие показатели. Анализируемые случаи демонстрируют различные варианты течения инфекции и динамики иммунитета.

Варианты развития острого и хронического КЭ у вакцинированных пациентов

Случай 1. Летальный КЭ у многократно привитого пациента М. (Челябинская область)

Данный случай был подробно описан выше в главе 9.1 и статье, опубликованной нами [196].

Имеющиеся клинические, иммунологические и морфологические данные позволяют, насколько это возможно, проанализировать дозу и свойства вируса, вызвавшего данное заболевание, пути инвазии в ЦНС и механизмы развития исключительно тяжелого заболевания у вакцинированного пациента. При специфическом гуморальном иммунитете на уровне 1:1600, который выявлен у пациента М., нейтрализуется вирусом КЭ в дозе $10^{3,5-3,7}$. В клещах в Челябинской области концентрация вируса КЭ высока - $10^7 - 10^9$ копий РНК/мл [193]. При такой заражающей дозе после нейтрализации специфическими IgG могла остаться активная «ненейтрализованная» фракция вируса в дозе от 10^3 до 10^5 ЛД₅₀/мл.

Обширность поражений и массовая гибель нейронов указывают на высокую вирулентность вируса, его высокие инвазивные свойства и, что особенно важно, нейротропность.

Наличие тяжелой неврологической симптоматики в первые дни госпитализации показывает, что вирус проник в ЦНС задолго до госпитализации. Почти тотальное поражение головного мозга возможно при инвазии ЦНС гематогенным и лимфогенным путями.

Особая тяжесть поражения мозга у пациента М. может зависеть не только от вирулентности, высокой инвазивности и нейротропности вируса, но также от иммунопатологических механизмов, которые участвуют в патогенезе КЭ. Несмотря на гипериммунизацию, у пациента М. функции гуморального звена иммунитета не нарушены, т.к. в короткие сроки произошла 8-кратная сероконверсия IgG от 1:1600 до 1:12800. Конкретные иммунопатологические механизмы требуют специального изучения.

Таким образом, развитие КЭ у многократно привитого пациента может зависеть от комплекса факторов: неполная нейтрализация вируса, исключительно высокая вирулентность вируса и его нейротропность, быстрая инвазия ЦНС, поздняя госпитализация, избыточная антигенная стимуляция за счет вакцинации с сокращенными интервалами между прививками, повторное введение специфического иммуноглобулина против КЭ. Отягощающими факторами

также явились принадлежность к старшей возрастной группе, внутрибольничная пневмония, почечная недостаточность.

Случай 2. Молниеносное течение заболевания у пациента Б. (Курганская область).

Данный случай также был подробно описан выше в главе 9.1 и опубликован нами в статье [107].

В данном случае, как и в случае №1, имелась многократная вакцинация – 6 прививок. Динамику сывороточных антител проследить не удалось из-за быстрой гибели пациента. Может ли гипериммунизация влиять на характер локального иммунитета в мозге и на особенности поражения мозга, остается неясным.

В обоих случаях отягощение заболевания с развитием генерализованных судорожных припадков произошло после введения специфического иммуноглобулина против КЭ. Подобный эффект наблюдался при введении специфического иммуноглобулина невакцинированным больным очаговой формой КЭ, закончившейся летальным исходом, в Ярославской области [58; 164].

Описанные явления – неэффективность вакцинального иммунитета, отягощающее действие специфического иммуноглобулина против КЭ – могут быть связаны с феноменами антигенного импринтинга и антителозависимого усиления инфекции [285]. Феномен антигенного импринтинга (phenomenon of original antigenic sin) состоит в том, что при повторном контакте иммунной системы с вирусом или вакциной иммунная система не воспринимает различия между вариантом эпигона, с которым уже познакомилась, и его новым вариантом [285]. Данный феномен обнаружен не только при инфекциях, вызванных антигеннодрейфующими вирусами (ВИЧ-инфекция, грипп), но и более стабильными вирусами, имеющими серотипы (например, при лихорадке Денге).

Феномен антителозависимого отягощения инфекции (antibody-dependent enhancement – ADE) описан для возбудителей лихорадок Эбола, Марбург, Западного Нила, Денге, желтой лихорадки. Вирус КЭ имеет 3 основные подтипа, генетические отличия существуют между вакцинными и инфицирующими (природными) штаммами. В экспериментах *in vitro* воспроизведен феномен ADE, хотя не со всеми изученными сыворотками [317].

Описанные феномены могут проявляться лишь у отдельных людей. Вероятность их реализации в условиях вакцинации и применения специфического иммуноглобулина против КЭ зависит от индивидуальных особенностей иммунной системы человека, полиморфизма генов, ответственных за иммунный ответ на вирус и антигены вакцин [285; 845; 846].

Случай 3. ОКЭ при антиген-дефектном штамме вируса.

Данный случай относится к невакцинированному пациенту, имеющему естественно приобретенный иммунитет в условиях проживания на эндемичной территории Ярославской

области. Больная М., 74 года, жительница сельской местности. Сняла клеща через четыре дня после присасывания в заушной области. В стационар поступила через две недели от начала заболевания, проявившемся головной болью, субфебрильной температурой, нарастающей слабостью левой руки и левой ноги. При госпитализации установлена левосторонняя гемиплегия, спутанность сознания. На следующий день появился парез лицевого нерва и птоз. На третий день после госпитализации при нарастающих бульбарных явлениях наступил летальный исход. От больной получен один образец крови, взятой на 15-й день от начала заболевания, в котором выявлены специфические IgG в титре 1:400 при отсутствии IgM. Из мозга изолирован штамм вируса КЭ «Ярославль 46-2-2001» (В. В. Погодина и Л. С. Левина).

Тяжелый исход заболевания мог быть связан с такими отягощающими факторами, как старший возраст, позднее поступление пациента в стационар и отсутствие в течение двух недель специфического и поддерживающего лечения. При имеющемся уровне иммунитета 1/400 нейтрализуется невысокая доза вируса – 10^2 - $10^{2.5}$ ЛД₅₀. Тяжелая клиническая симптоматика свидетельствует об обширности поражений мозга и достаточно высокой дозе вируса. Концентрация вируса в клеще могла увеличиваться в течение четырех дней, прежде чем он был удален. Нейтрализация вируса при имеющемся уровне иммунитета была незначительной или отсутствовала по двум причинам: при локализации укуса в области головы возможно проникновение возбудителя в мозг нейрогенным путем без взаимодействия с сывороточными антителами. Кроме того, имели значения свойства изолированного вируса. Штамм Яр-46-2-2001 относится к антиген-дефектным вариантам вируса КЭ, лишенным гемагглютинирующей активности, обладающим крайне низкой степенью авидности и слабой рецепторной активностью, вследствие чего затруднено взаимодействие с клеточными рецепторами и антителами [777]. Подобные штаммы при попадании в мозг мышей в течение нескольких пассажей резко увеличивают свою вирулентность. Не исключено, что вирус, выделенный от больной М., в течение почти трехнедельного размножения в мозге человека также проявил свою патогенность.

Случай 4. Лихорадочная форма КЭ.

Пациент М., 34 года, четырехкратно привит вакциной «Энцефир». Через четыре года снял присосавшегося клеща, госпитализирован через 10 дней с жалобами на головную боль, двоение в глазах, резко-выраженное покраснение и ощущение жара во всем теле при субфебрильной температуре. Клинический диагноз: ОКЭ, лихорадочная форма. В стационаре находился 8 дней, многократно с лечебной целью вводился специфический иммуноглобулин против КЭ в титре 1:80-1:160. Выписан в удовлетворительном состоянии для дальнейшего амбулаторного наблюдения. У больного развился астенический синдром, проявляющийся общей слабостью, быстрой утомляемостью, апатией, потерей аппетита, нарушением сна. В течение трех лет

периодически обследовался на состояние специфического иммунитета к вирусу КЭ. В первой сыворотке крови были обнаружены специфические IgG и IgM (результат положительный, без указания концентрации). В течение месяца IgG выявлены в стабильном титре от 1:800 до 1:1600. Повторное обследование через 8 месяцев и 1 год показало 4-кратное снижение титра IgG до 1:400. Еще через полгода уровень IgG снизился до 1:40 и оставался таковым в течение дальнейших полутора лет. Через 3,5 года от начала заболевания пациент вновь снял с себя клеща, исследование сыворотки крови показало повышение титра IgG до 1:400. Таким образом, всего на протяжении 3,5 лет было исследовано семь образцов сыворотки крови данного пациента. Результаты обследования показали выраженную негативную динамику специфического иммунитета со снижением титра антител в сорок раз. Подобный тип динамики антител описан у невакцинированных пациентов [73]. Обратная динамика гуморального иммунитета является проявлением негативного эффекта гипериммунизации, когда уровень антител снижается до негативных значений. Гипериммунизация у пациента М. могла быть вызвана предшествующими контактами с вирусом в условиях проживания на эндемичной территории, 4-кратной вакцинацией, повторным введением специфического иммуноглобулина против КЭ с лечебной целью, а также антигенными стимулами, обусловленными вирусом при заражении и при персистенции. Как правило, астенический синдром связывают с вирусной персистенцией. Имунная толерантность носила временный характер, поскольку новый контакт с вирусом КЭ привел к повышению уровня иммунитета на что указывает сохранение В-клеточной иммунологической памяти.

Случай 5. Хронический КЭ после острого периода.

Пациент Р. 59 лет, житель Кемеровской области, был 2-кратно привит вакциной «ФСМЕ-Иммун-Инжект» с интервалом 5 месяцев, что по классификации Ф. Хайнца и др. [7] считается неполным нарушенным курсом вакцинации. Через четыре месяца снял с себя клеща, находясь на высокоэндемичной территории. Через 25 дней поступил в стационар с диагнозом «ОКЭ, менингоэнцефалитическая форма, подкорково-мозжечковый синдром», который был поставлен на основании инфекционно-токсического синдрома, симптоматики неврологического дефицита в виде экстрапирамидных проявлений (тремор), лимфоцитарного плеоцитоза в СМЖ и наличии в сыворотке крови, взятой на 3-й день болезни, специфических IgG в титре 1:1600.

В течение 1-3 лет от начала заболевания появились признаки хронизации инфекционного процесса в виде тремора верхних конечностей. Установлен диагноз ХКЭ, формирование судорожно-гиперкинетического синдрома. Больной находился под наблюдением в течение 6 лет по поводу сформировавшегося синдрома эпилепсии Кожевникова. Серологические исследования показали увеличение титра IgG от 1:1600 на 3-9-й дни болезни до 1:12800 на 25-33-й дни заболевания. Сероконверсия проявилась также в 2-кратном увеличении титра IgM от

1:1600 на 9-й день до 1:3200 на 25-й день болезни. В СМЖ IgG были выявлены в стабильном титре 1:160 с 15-го по 26-й дни заболевания. На 4-6 году от начала заболевания в сыворотке крови присутствовали IgG в титре 1:12800 и IgM 1:200.

По-видимому, в данном случае, как и в случае №1, имелась неполная нейтрализация вируса с его персистенцией. Свидетельством того, что вирус сохранился в ЦНС, является обнаружение IgM в СМЖ, а также нарастание клинической симптоматики. В течение трех недель наблюдалась 8-кратная сероконверсия IgG от 1:1600 до 1:12800. Сыворотки с таким высоким уровнем антител нейтрализуют высокие дозы вируса КЭ – $10^{6,25-6,35}$ ЛД₅₀/мл, однако возросший уровень иммунитета не мог оказать влияние на вирус, проникший в ЦНС.

Случай 6. Хронический КЭ при алиментарном заражении вирусом КЭ.

В Кемеровской области зарегистрировано семейно-групповое заболевание с алиментарным путем заражения в результате употребления сырого козьего молока (наблюдение д.м.н. В. В. Погодиной). Заболела не привитая против КЭ девочка с низким уровнем иммунитета (IgG 1:200) с клинической картиной ОКЭ с дальнейшим формированием синдрома кожевниковской эпилепсии. Мать, не привитая против КЭ, но имевшая титр IgG 1:1600, здорова. Брат Г. 17 лет, был здоров в течение 8 месяцев. В связи с ухудшением состояния его сестры было принято решение о вакцинации Г. Пациенту Г., была введена одна доза вакцины против КЭ производства ПИПВЭ им. М.П. Чумакова на фоне ОРВИ и герпетической инфекции, что явилось нарушением условий вакцинации. Пациент был госпитализирован через 4 дня с диагнозом «ОРВИ, средней тяжести, герпетическая инфекция, гиперкинетический синдром, проявляющийся подергиванием мышц плеча». В течение 6 месяцев появилась и усилилась неврологическая симптоматика от подергивания мышц плечевого пояса до тремора кистей. Электромиографическое исследование выявило эпилептическую активность, в связи с чем пациенту Г. был поставлен диагноз «ХКЭ, эпилепсия Кожевникова».

Серологическое обследование пациента Г. проводилось на протяжении 2 лет. В течение 2 месяцев отмечена значительная сероконверсия IgG от 1:200-1:600 до 1:6400, затем произошло 8-кратное снижение IgG до 1:800 и их дальнейшая стабилизация на уровне 1:600-1:800. На протяжении всего периода лабораторных наблюдений у пациента Г. постоянно выявлялись IgM, титр которых колебался от 1:800 до 1:100.

У пациента Г. наблюдалась комбинированная динамика гуморального иммунитета: сероконверсия, негативная динамика антител и стабилизация иммунитета на определенном уровне. Пациент Г. перенес инаппарантную инфекцию, которая перешла в манифестную форму КЭ на фоне ОРВИ и герпетической инфекции. Необычность рассматриваемого случая заключается в том, что вакцинация проведена на фоне текущей персистентной инфекции, вызванной вирусом КЭ при отягощении сопутствующими герпетической и респираторной

инфекциями. Роль вируса КЭ в этиологии данного заболевания подтверждается результатами серологических исследований.

Случай 7. ХКЭ без острого периода.

Пациент В. 50 лет, работник лесничества в Кемеровской области, привит 2-кратно вакциной «Энцеви́р» с интервалом в 16 дней. Через 3 года после вакцинации отметил присасывание клеща в области плеча. После инкубационного периода длительностью 8 дней появились жалобы на слабость конечностей, быструю утомляемость, приливы жара.

В неврологическом статусе определялись признаки моторной полинейропатии. Через 8 месяцев отмечено снижение мышечной силы с двух сторон до 3 баллов в дистальных отделах конечностей. Легкая гипотрофия мышц первых межпальцевых промежутков кистей, гипотрофия мышц плечевого пояса. Выявлена болевая гиперестезия по полиневральному типу: правая кисть, правое плечо, предплечье; на нижних конечностях по типу носков. Диагноз: ХКЭ, полирадикулоневритическая форма.

Серологическое исследование пациента В. методом ИФА выявило комбинированную динамику антител: стабильные титры IgG в ранние сроки (1:1150-1:1700) с последующим снижением титров до 1/800 и стабилизацией данного показателя на том же уровне (1:800). На 3-ем году от момента заболевания наблюдалась 4-кратная сероконверсия до титра IgG 1:3200. На всех сроках обследования выявлялись IgM с выраженной сероконверсией от 1:600 до 1:1600 на 3-ем году заболевания. В раннем и отдаленном периоде наблюдения пациента В. связь заболевания с возбудителями БЛ была исключена.

Данное заболевание развилось на фоне иммунитета невысокого уровня, обусловленного незавершенным курсом вакцинации без последующей ревакцинации. Выраженная сероконверсия специфических IgG и IgM указывает на сохранение в организме привитого инфекционного вируса КЭ.

Случай 8. ХКЭ у однократно привитого пациента.

Пациент Л. 26-лет, однократно привит вакциной против КЭ ПИПВЭ им. М.П. Чумакова. Через два месяца после вакцинации заболел после присасывания клеща в Иркутской области (наблюдение д.м.н. В. В. Погодиной). После острого периода диагностирован хронический КЭ, спинальная амиотрофия. Находился на лечении в клинике ИПВЭ АМН СССР, обследовался многократно в течение 9 месяцев. В РТГА использовали экспериментально приготовленные антигены к штаммам вируса КЭ сибирского, дальневосточного и европейского подтипов – Айна, Софьин и №256 (Таблица 107). При слабо выраженном иммунном ответе к вакцинному штамму Софьин и штамму 256 наблюдались высокие титры антител к штамму Айна, что указывает на его роль в этиологии данного заболевания. Пик иммунного ответа был отмечен на 73-й день от начала заболевания, титр антигемагглютининов к штамму Айна был 1:320. После этого

произошло резкое снижение иммунитета ко всем штаммам. Подобная динамика антител наблюдается при гипериммунизации, вызванной повторным введением антигена или продукцией антител в нежелательных сверхвысоких титрах. У пациента Л. не было повторного введения антигена, но есть основания считать титр антигемагглютининов 1:320 сверхвысоким. Важно отметить, что сверхвысокий титр 1:320 развился против этиологического агента, относящегося к сибирскому подтипу вируса, с дальнейшим существенным снижением уровня иммунитета, что могло повлиять на течение заболевания.

Таблица 107 – Динамика гуморального иммунитета по данным РТГА у пациента Л.

День взятия материала	Антиген (штамм вируса КЭ)		
	Айна*	Софьин*	256*
19	1:80	0	ни**
73	1:320	1:40	1:40
115	1:40	0	0
120	1:20	0	0
170	1:40	0	0
250	1:40	0	0

Примечание: *Айна – штамм вируса КЭ сибирского подтипа, Софьин – штамм вируса КЭ дальневосточного подтипа, 256 – штамм вируса КЭ европейского подтипа; ** ни - не исследовался.

Таким образом, проведен анализ восьми случаев острого и хронического КЭ вакцинированных пациентов (семь случаев) и одного пациента, имеющего естественно приобретенный иммунитет. Исследованные случаи КЭ различались по особенностям клинической симптоматики, числу прививок (от 1 до 8), динамике гуморального иммунитета. Все случаи зарегистрированы в районах доминирования сибирского подтипа вируса КЭ, его роль в этиологии изученных заболеваний подтверждена генотипированием изолированных штаммов и образцов РНК, а также избирательным иммунным ответом к данному подтипу.

Во всех исследованных случаях основным механизмом заболевания являлась неполная нейтрализация вируса. Начальный уровень специфического иммунитета IgG по данным ИФА был в пределах 1:200 – 1:1600. При данном уровне иммунитета нейтрализуются штаммы вируса КЭ сибирского подтипа в дозе $10^{1.6} - 10^{3.5}$ ЛД₅₀/мл.

Формирование фракции ненейтрализованного инфекционного вируса подтверждено изоляцией вируса из мозга пациентов (2 штамма, случаи №2, 3), обнаружением антигена вируса КЭ в мозге и характерными для КЭ морфологическими изменениями (случай №1), выявлением методом ПЦР вирусной РНК в сыворотках крови и СМЖ выраженной сероконверсии IgG, а также высокими титрами IgM при хроническом течении заболевания, что наблюдается при вирусной персистенции. Формирование фракции свободного инфекционного вируса связано не

только с высокой заражающей дозой возбудителя, но и со свойствами вируса, не обладающего антигенной активностью [777].

Следует учесть, что во всех исследованных случаях могла быть гипериммунизация за счет контакта с вирусом КЭ в условиях проживания на эндемичной территории, при повторной вакцинации (до 6-8 раз), в связи с многократным введением специфического иммуноглобулина против КЭ, а также в связи с антигенными стимулами вирусом, размножающимся в организме пациента, и при персистенции. Негативный эффект гипериммунизации, проявившийся в снижении титра антител до отрицательных значений, отмечен в случае №4, когда титр IgG снизился от 1:1600 до 1:40. Кроме того, гипериммунизация может проявляться в продукции сверхвысоких титров антител [319], с дальнейшим снижением уровня иммунитета. У пациента Г. (случай №6) максимальный уровень иммунитета составил 1:6400, вслед за тем произошло восьмикратное снижение уровня иммунитета до 1:800. Такой же эффект наблюдался у пациента Л. (случай №8), когда сверхвысокий уровень антигемагглютининов к этиологическому агенту составил 1:320, после чего резко снизился иммунитет как к штамму, вызвавшему заболевание, так и к вакцинному штамму.

Два летальных случая КЭ (случаи №1, 2) у многократно вакцинированных пациентов различались по клинической картине заболевания, патоморфологии мозга и по исследованным нами механизмам развития патологического процесса.

В случае №1 нельзя исключить антителозависимое усиление инфекции, которое наблюдается при инфекции, вызванной вирусом Денге. Данный феномен был воспроизведен *in vitro* с вирусом КЭ [317]. Вся история иммунизации пациента М. связана с различными подтипами вируса КЭ. Естественная иммунизация и этиологический агент относились к сибирскому подтипу, т.к. в Челябинской области распространен только данный подтип [32; 196]. Восьмикратная иммунизация пациента М. проведена вакцинами, приготовленными из четырех штаммов вируса КЭ, относящимися к дальневосточному и европейскому подтипам вируса КЭ.

Для понимания причин таких тяжелых поражений у вакцинированных больных должно быть проведено исследование системы интерфероногенеза, клеточного иммунитета, цитокинов и других факторов, которые могут усиливать инфекцию.

9.3. Изучение нейровирулентных и нейроинвазивных свойств современных штаммов вируса клещевого энцефалита сибирского подтипа

Наиболее важными в биологической характеристике вирусов являются их патогенные свойства. Несмотря на широкое распространение вируса КЭ сибирского подтипа на территории

России его нейровирулентные и нейроинвазивные свойства изучены мало, особенно это касается современных штаммов, выделенных от больных КЭ с различными клиническими формами заболевания и летальными исходами. Характеристика вирулентности штаммов вируса КЭ оценивается по общепринятым показателям вирулентности (титр вируса при внутримозговом и подкожном заражении белых мышей, индексу инвазивности – ИИ), а главным критерием в оценке вирулентности штаммов в эксперименте на белых мышах является периферическая активность, т.е. их способность преодолевать ГЭБ и вызывать поражение ЦНС. Изучение штаммов вируса КЭ на сирийских хомяках позволяет также оценить их нейровирулентные свойства.

Нами в работе проведено изучение картины экспериментального КЭ, вызванного сибирским подтипом вируса. Изоляты (штаммы) были изолированы в разных частях ареала на современном этапе. Способность штаммов вируса КЭ преодолевать ГЭБ и инвазировать ЦНС оценена на белых мышах по ИИ - разнице титров вируса (lgЛД₅₀/мл) при инокуляции в мозг и под кожу. Сирийских хомяков заражали в мозг, наблюдали 30 дней и определяли процент погибших особей и среднюю продолжительность жизни (СПЖ) в днях. Опыты *in vivo* выполнены с разрешения этического комитета ФГАНУ ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита) (протокол №25 от 07.09.2016; протокол №150422-2 от 15.04.2022).

На белых мышах и сирийских хомяках нами изучены 11 штаммов вируса КЭ, выделенных в 2008-2021 гг. в разных частях ареала от больных КЭ с различными клиническими формами и летальным исходом (Таблица 108).

Таблица 108 – Особенности вирулентности современных штаммов вируса КЭ сибирского подтипа в опытах на белых мышах и сирийских хомяках

Регион РФ	Год изоляции и	Клиническая форма КЭ/летальный исход	Штамм	Номер в GenBank	Белые мыши			Сирийские хомяки	
					lg ЛД ₅₀ /мл, заражение		ИИ	% гибел и	СПЖ в днях
					в мозг	под кожу			
Ярославская область	2008	Летальный исход	ЯР-Ав-08	GQ845440 (Yaroslavl-Aver-08)	7,8	6,9	0,9	90	13
	2008	Летальный исход	ЯР-Бел-2008	GQ845439 (Yaroslavl-Bel-08)	7,7	6,8	0,9	12,5	30

Продолжение Таблицы 108

Вологодская область	2008	Летальный исход	Вологда-7-2008	GQ845438 (Vologda-Krash-08)	7,5	6,6	0,9	50	18
Свердловская область	2009	Летальный исход	Ек-Ег-09	KJ936629 (Ekaterinburg-EGSH-09)	7,7	6,2	1,5	63,5	13
	2009	Летальный исход	Ек-Жиг-09	KJ936630 (Ekaterinburg-ZHG-09)	7,9	6,2	1,7	20	13
	2021	Энцефалитическая форма	Ек-Гав-21	OM363218 (EKB-1887-N1)	7,8	6,3	1,5	ни	ни
	2021	Не установлена, вероятно стертая либо лихорадочная	Ек-Ар-21	OM363219 (EKB-1887-N3)	6,2	4,6	1,6	ни	ни
	2021	Не установлена, вероятно стертая либо лихорадочная	Ек-Мос-21	OM363220 (EKB-1887-N4)	6,0	5,6	0,4	ни	ни
Челябинская область	2012	Летальный исход	Чел-АБД-12	KJ936631 (Chelyabinsk-ABD-12)	7,9	6,3	1,6	ни	ни
Курганская область	2010	Летальный исход	Курган-118-2010	KY319395 (Kurgan-Bakh-2010)	6,3	5,2	1,1	40	20
Кемеровская область	2013	Летальный исход	Кем-Кич-13	KJ936632 (Kemerovo-KCH-13)	6,3	4,4	1,9	ни	ни

Примечание: ни – не исследовались.

Все современные штаммы вируса КЭ были высоконейроинвазивными. Показатель ИИ у штаммов сибирского подтипа колебался от 0,4 до 1,9, при среднем ИИ $1,3 \pm 0,4$. При этом наиболее высокоинвазивным (ИИ = 0,4) оказался штамм Ек-Мос-21, выделенный в 2021 г. в Свердловской области от пациента с неустановленной формой инфекции (вероятно, стертая либо лихорадочная). Между изученными штаммами имелась некоторая разница между титрами вируса при заражении белых мышей в мозг (Таблица 108): штаммы имели титр ($\text{lgLD}_{50}/\text{мл}$) от 6,0 до 7,8. Средний титр составил $7,2 \pm 0,8 \text{ lgLD}_{50}/\text{мл}$. При заражении белых мышей под кожу: штаммы сибирского подтипа имели титр ($\text{lgLD}_{50}/\text{мл}$) от 4,4 до 6,9. Средний титр составил $5,9 \pm 0,8 \text{ lgLD}_{50}/\text{мл}$.

Среди исследованных современных штаммов вируса КЭ особенно высокую вирулентность для сирийских хомяков проявил штамм Яр-Ав-08 (гибель 90% животных, СПЖ – 13 дней). Эти показатели выходят за обычный уровень вирулентности сибирского подтипа вируса КЭ. Наименее вирулентным для сирийских хомяков оказался штамм Яр-Бел-2008 (гибель 12,5%

животных, СПЖ – 30 дней). В целом СПЖ сирийских хомяков была в пределах от 13 до 30 дней, при среднем значении $17,8 \pm 4,7$ дней.

Полученные данные свидетельствуют о высоких нейтроинвазивных и нейровирулентных свойствах современных штаммов вируса КЭ сибирского подтипа, но не во всех случаях данные штаммы вызывают очаговые формы с летальным исходом. У двух пациентов из Свердловской области в 2021 г., из крови которых удалось выделить штаммы вируса КЭ, при скрининговом исследовании только методом ПЦР была выявлена вирусная РНК, результаты ИФА-исследования оказались отрицательными в первой сыворотке крови, повторных серологических исследований у данных пациентов не проводилось, в дальнейшем в стационар они не поступали. Однако эти пациенты обратились за медицинской помощью после присасывания клеща и появления субфебрильной температуры. В случае повторного исследования сывороток крови на специфические антитела к вирусу КЭ через 7-10 дней, вероятно, результаты серологического исследования дали бы уже положительный результат и пациентам был бы поставлен диагноз «ОКЭ, лихорадочная форма» или «ОКЭ, стертая форма». Высокая нейтроинвазивность штаммов, выделенных от данных пациентов и стертая клиническая картина заболевания указывает на необходимость интенсификации исследований в области изучения генетических маркеров предрасположенности человека к развитию, течению КЭ и исходам. Работы в этом направлении ведутся в нашей лаборатории.

Заключение по главе 9

Таким образом, на группе примеров показано, что сибирский подтип вируса КЭ способен вызывать самое тяжелое течение КЭ с многоуровневыми поражениями ЦНС. Этиологическая роль сибирского подтипа в тяжелейших очаговых формах подтверждена генотипированием вирусной РНК, изолированной непосредственно из мозга погибших больных, а также типированием выделенных штаммов. Летальные исходы КЭ, связанные с сибирским подтипом возбудителя, регистрируются в различных регионах, где он циркулирует, в частности, на изученных нами территориях – Ярославской, Вологодской, Свердловской, Челябинской, Кемеровской областей. Отягощающими факторами являются: старший возраст невакцинированных больных, множественные присасывания клещей, высокая вирулентность штаммов, сопутствующие заболевания (у некоторых погибших была диагностирована БЛ), антибактериальная терапия, приводящая к иммуносупрессии. При бульбарном синдроме больные получали иммуноглобулин человека против КЭ. Схемы введения этого препарата, дозы, титр антител являются предметом дискуссии.

Отсутствие в литературе описания случаев заболевания среди вакцинированных пациентов свидетельствует об их исключительной редкости или трудности диагностики. Оба случая, исследованные нами, имеют сходство: а) зона циркуляции сибирского подтипа вируса КЭ, вакцинация гетеротипичными вакцинами; б) многократные прививки с сокращенными интервалами между отдельными ревакцинациями; в) быстрота развития заболевания и летального исхода (55 ч и 9 сут) в отличие от времени смерти невакцинированных больных (в Челябинской области у пациентов на 15, 29 и 23-й дни болезни). В инструкциях по применению вакцин против КЭ число ревакцинаций не ограничено. Между тем известно, что гипервакцинация, излишняя антигенная нагрузка нежелательны из-за риска осложнений, образования иммунных комплексов и возможного развития феномена антителозависимого усиления инфекции. Важен принцип индивидуального подхода к вакцинации с учетом иммунного статуса реципиента [176], который еще не вошел в практику специфической профилактики КЭ. Обращает на себя внимание высокий уровень гуморального иммунитета в двух описанных случаях летального КЭ у вакцинированных пациентов – титр IgG 1:1600. При сравнительном изучении российских и зарубежных вакцин против КЭ показатель в ИФА IgG 1:1600 свидетельствовал о высокой иммуногенности препаратов [324]. Причины неэффективности вакцинации у умерших больных с высоким уровнем иммунитета требуют целенаправленного изучения.

Результаты изучения нейровирулентных и нейроинвазивных свойств современных изолятов (штаммов) вируса КЭ сибирского подтипа свидетельствуют об их высокой нейроинвазивности и нейровирулентности для белых мышей и сирийских хомяков.

ГЛАВА 10. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ, ПЕРЕДАЮЩИМИСЯ ИКСОДОВЫМИ КЛЕЩАМИ, НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА И ВНЕДРЕНИЯ АЛГОРИТМА ИХ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

В последнее десятилетие наблюдается стремительное развитие средств и методов лабораторной диагностики, что приводит к расширению спектра инфекционной патологии за счет ранее неизвестных нозологий [29; 310], а также выявлению сочетанных форм инфекций. Расширение перечня нозологий инфекционной природы наглядно демонстрируют инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. Ранее эпидемиологический надзор проводился только за КЭ, в настоящее время он проводится за БЛ, МЭЧ и ГАЧ – нозологиями, объединенными общими основными переносчиками (клещами *I. persulcatus* и *I. ricinus*). За новым возбудителем безэритемных форм боррелиоза – *B. miyamotoi* эпидемиологический надзор на сегодняшний день не проводится, в то время как, по нашим оценкам, на долю данного заболевания приходится порядка 25% иксодовых клещевых боррелиозов в РФ.

Ранее было сказано, что система эпидемиологического надзора включает в себя три взаимосвязанные подсистемы: информационную, диагностическую и управленческую. Первые две подсистемы в совокупности выполняют диагностические функции в системе эпидемиологического надзора.

Диагностика трансмиссивных клещевых инфекций основывается на совокупности данных:

1) эпидемиологического анамнеза – факт присасывания клеща, «наползания» клеща, снятие клеща с одежды, другого человека или животного (риск раздавливания клеща), посещение лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей (так называемый, «лесной фактор»), употребление сырого козьего или коровьего молока, или продуктов из них изготовленных;

2) клинической симптоматики – наличие эритемы в месте присасывания клеща при БЛ (единственный патогномоничный симптом по которому безотлагательно можно поставить клинический диагноз), лихорадочного состояния, которое требует дифференциальной диагностики не только с клещевыми инфекциями, но и другими патологиями инфекционной и неинфекционной природы;

3) лабораторных методов исследования (ОАК, ОАМ, биохимический анализ крови), включая специфические – молекулярно-биологические (ПЦР), серологические методы исследования (ИФА, иммуноблот, биочип).

В целях совершенствования эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами (БЛ, БМ, ГАЧ и МЭЧ), а именно, в рамках модернизации диагностической подсистемы, на основе полученных в ходе работы результатов исследования, нами предложен алгоритм их дифференциальной диагностики. Данный алгоритм сформирован на основе эпидемиологической диагностики (с учетом исследования иксодового клеща-переносчика), клинической диагностики и лабораторной диагностики, включая специфическую с применением современных молекулярно-биологических (ПЦР-РРВ) и серологических (ИФА, белковый планарный биочип для дифференциальной диагностики БЛ и БМ) методов исследования.

На наш взгляд, современные подходы к диагностике клещевых инфекций, учитывая высокую степень распространения известных возбудителей (вирус КЭ, боррелии комплекса *B. burgdorferi* s.l.) и новых возбудителей (*B. miyamotoi*, *A. phagocytophilum*, *E. muris*) на территории РФ, а также высокую степень сочетанности природных очагов этих инфекций должны носить комплексный характер, т.е. направлены на выявление всех известных патогенных микроорганизмов как в иксодовых клещах-переносчиках, так и в клиническом материале от больных не только методом ИФА (определение антигена к вирусу КЭ в клеще и крови), но и методом ПЦР-РРВ. Нами показано, что диагностическая чувствительность метода ПЦР-РРВ при исследовании биоматериала от больных в зависимости от выявляемой нозологии варьирует. Так, при боррелиозе, вызываемом *B. miyamotoi* диагностическая чувствительность метода ПЦР-РРВ достигает 100%, при БЛ – 20-30%, при этом обнаружение 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в крови свидетельствует о диссеминации инфекции, что, в свою очередь, может определять смену схемы этиотропного лечения, при КЭ – 25-30%. Зачастую, результаты, полученные методом ПЦР-РРВ позволяют поставить диагноз до результатов серологической диагностики или в период «серологического окна», а также у серонегативных больных.

С целью исследования клещей рода *Ixodes* – *I. persulcatus* и *I. ricinus* – основных переносчиков возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ, снятых с пострадавших или при мониторинге природных очагов клещевых инфекций, в лабораторной практике мы рекомендуем использовать зарегистрированные ПЦР-РРВ методики как для одновременного выявления РНК/ДНК возбудителей четырех инфекций – вируса КЭ, возбудителей БЛ, ГАЧ и МЭЧ («АмплиСенс® TBEV, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL»), так и для обнаружения ДНК *B. miyamotoi* («АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL») (производитель – ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора), либо аналоги.

Результаты нашего исследования на примере эндемичной территории по КЭ (Свердловская область) показывают необходимость проведения дифференциальной диагностики наиболее распространенной лихорадочной формы КЭ не только с БЛ (безэритемная, эритемная формы),

но и с безэритемной формой клещевого боррелиоза, вызываемого новым возбудителем – *B. miyamotoi*. В диагностике данного заболевания главное место занимает ПЦР-диагностика. До начала наших исследований, в силу невысокой чувствительности стандартных ИФА тест-систем для диагностики БЛ, пациенты с БМ могли выписываться с диагнозом «ВЛПЧ» и не получать должного этиотропного (антибактериального) лечения. Данный возбудитель, согласно проведенным нами результатам исследования по определению чувствительности клинических изолятов (штаммов) *B. miyamotoi* к антибактериальным препаратам (доксциклину, цефтриаксону, азитромицину, амоксициллину), оказался резистентен *in vitro* к антибиотику амоксициллину, который входит в схемы лечения БЛ [667]. Также дифференциальная диагностика лихорадочной формы КЭ должна проводиться с новыми нозологиями, такими как ГАЧ и МЭЧ, диагностике которых в настоящее время уделяется мало внимания, в том числе, в силу отсутствия зарегистрированных на территории РФ ИФА тест-систем для серологической диагностики этих инфекций (в настоящее время ИФА тест-системы доступны только для проведения исследований в научных целях). Кроме того, учитывая масштабы вакцинопрофилактики против КЭ в ряде эндемичных регионов, в частности, в Свердловской области, нами показаны варианты динамики гуморального иммунитета у вакцинированных больных (сероконверсия, негативная или обратная динамика антител, стабильные титры антител) и разработаны критерии постановки диагноза у пациентов с наиболее сложным для постановки диагностики вариантом динамики – стабильными титрами IgG.

Учитывая схожесть эпидемиологического анамнеза, клинической симптоматики, в ряде случаев лабораторных показателей, основное место в диагностике клещевых инфекций отводится специфической лабораторной диагностике.

Внедрение в практическую деятельность лабораторной службы серологических скрининговых методов (ИФА, биочип) и ПЦР-РРВ методик позволяет определить частоту контактов населения с возбудителями инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

Появление скрининговых ПЦР-РРВ методик позволило создать функционирующую систему диагностических исследований, направленных на выявление РНК/ДНК возбудителей, прежде всего в переносчике, т.к. метод обладает более высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению с методами ИФА для выявления антигена вируса КЭ [213; 323] или микроскопии при исследовании клеща на наличие боррелий. Данный метод позволяет исследовать как живого, так и мертвого клеща, в то время как методом микроскопии для выявления спирохет (боррелий) клещ должен быть живым. Мы считаем целесообразным применение именно метода ПЦР-РРВ для проведения скрининга, снятого с пострадавшего иксодового клеща с целью проведения адекватных и своевременных профилактических мероприятий. Обнаружение вирусной РНК методом ПЦР-РРВ или антигена вируса КЭ методом

ИФА в клеще является основанием для введения специфического иммуноглобулина лицу не имевшему в анамнезе вакцинации, с нарушенной схемой вакцинации, либо неполной схемой вакцинации. При инфицировании клеща бактериальными патогенами – боррелиями, эрлихиями, анаплазмами проводится антибиотикопрофилактика. В дальнейшем необходимо наблюдение у врача и контрольное серологическое исследование сыворотки крови от пациента через 3-4 недели.

Алгоритм лабораторного исследования клеща-переносчика и биоматериала от пациента является наиболее адекватным для верификации трансмиссивных клещевых инфекций.

Наши рекомендации зависят от результатов исследования клеща методом ПЦР-РРВ:

1. При обнаружении РНК вируса КЭ в клеще рекомендуется проведение экстренной профилактики – введение специфического иммуноглобулина против КЭ, в случае, если пациент не имеет завершеного курса вакцинации с последующими ревакцинациями каждые три года или реже (в зависимости от уровня специфических IgG, которые рекомендуется оценивать перед плановой ревакцинацией). В случае, если клещ не сохранился или не подлежит исследованию вследствие неправильного хранения, с целью раннего обнаружения вируса КЭ в организме пострадавшего может быть исследована кровь на наличие вирусной РНК методом ПЦР-РРВ или антигена и IgM методом ИФА. Как при положительных, так и при отрицательных результатах исследования клеща или крови пострадавшего на наличие РНК вируса КЭ рекомендуется наблюдение у врача-инфекциониста или невролога в течение 1 месяца после присасывания клеща и контрольное исследование сыворотки крови на наличие IgM и IgG к вирусу КЭ методом ИФА. Антитела IgM к вирусу КЭ появляются на 4-5-й дни болезни, IgG – на 10-12-й дни. Сыворотки крови исследуют в динамике через 10-14 дней.

2. При обнаружении в клеще боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. рекомендуется проведение экстренной специфической профилактики – антибиотикопрофилактики БЛ, которая назначается врачом-инфекционистом. В случае, если клещ не сохранился или не подлежит исследованию вследствие неправильного хранения, с целью раннего обнаружения возбудителей БЛ в организме пострадавшего может быть проведено исследование его крови на наличие 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. методом ПЦР-РРВ. Рекомендуется исследование сыворотки крови на наличие IgM и IgG методом ИФА с целью определения анамнестических антител к боррелиям, что может помочь в дальнейшем при постановке диагноза в случае развития клинической симптоматики при «свежей» инфекции. Как при положительных, так и при отрицательных результатах исследования клеща или крови пострадавшего на наличие 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. рекомендуется наблюдение у врача-инфекциониста в течение 1 месяца и контрольное исследование сыворотки крови на наличие специфических IgM не ранее чем через 3-4 недели после присасывания клеща, на наличие IgG не ранее чем через 4-6

недель методом ИФА или белкового планарного биочипа. Антитела IgM и IgG появляются не ранее чем через 1 неделю после появления первых клинических симптомов. Рекомендуется трехкратное исследование сывороток крови – на 7-10-й, 14-17-й и 21-24-й дни болезни, т.к. трехкратное обследование значительно повышает чувствительность серологической диагностики. При необходимости проводится серологическое исследование и в более поздние сроки заболевания.

3. При обнаружении в клеще ДНК *B. miyamotoi* рекомендуется проведение экстренной специфической профилактики – антибиотикопрофилактики БМ, которая назначается врачом-инфекционистом. При этом необходимо учитывать, что клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi in vitro* являются устойчивыми к ампициллину. В случае, если клещ не сохранился или не подлежит исследованию вследствие неправильного хранения, с целью раннего обнаружения *B. miyamotoi* в организме пострадавшего может быть проведено исследование его крови на наличие ДНК *B. miyamotoi* методом ПЦР-РРВ или антител к боррелиям методом ИФА, поскольку стандартные ИФА тест-системы в силу перекрестных реакций (общих антигенов у боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. и боррелий возвратных лихорадок, к которым относится *B. miyamotoi*) могут давать положительный ответ. Как при положительных, так и при отрицательных результатах исследования клеща или крови пострадавшего на наличие ДНК *B. miyamotoi* рекомендуется наблюдение у врача-инфекциониста в течение 1 месяца и контрольное исследование сыворотки крови на наличие IgM не ранее чем через 3-4 недели после присасывания клеща, на наличие IgG не ранее чем через 4-6 недель методом ИФА (диагностическая чувствительность стандартных ИФА тест-систем, которые используются для диагностики БЛ составляет по результатам наших исследований при БМ достигают чуть более 30%) или белкового планарного биочипа, который обладает большей чувствительностью (до 60%) и специфичностью по сравнению со стандартными ИФА тест-системами для диагностики боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*. Специфические IgM появляются не ранее чем на 7-10-й дни болезни, IgG через 3-4 недели после появления первых симптомов заболевания. Рекомендуется трехкратное исследование сывороток крови в динамике, для повышения чувствительности серологической диагностики.

4. При обнаружении в клеще ДНК *A. phagocytophilum*, 16S рРНК *E. muris* или *E. chaffeensis* рекомендуется проведение экстренной специфической профилактики – антибиотикопрофилактики ГАЧ и МЭЧ, которая назначается врачом-инфекционистом. В случае, если клещ не сохранился или не подлежит исследованию вследствие неправильного хранения, с целью раннего обнаружения возбудителей ГАЧ и МЭЧ в организме пострадавшего может быть исследована кровь на наличие ДНК/РНК анаплазм и эрлийй методом ПЦР-РРВ или специфических IgM и IgG к ним методом ИФА. Как при положительных, так и при

отрицательных результатах исследования клеща или крови пострадавшего на наличие ДНК *A. phagocytophilum*, 16S рРНК *E. muris* или *E. chaffeensis* рекомендуется наблюдение у врача-инфекциониста в течение 1 месяца и контрольное исследование сыворотки крови на наличие специфических IgM не ранее чем через 2-3 недели после присасывания клеща, на наличие IgG не ранее чем через 3-4 недели методом ИФА. Специфические IgM как при МЭЧ, так и при ГАЧ появляются обычно на 10-14-й дни, IgG – на 21-28-й дни болезни.

Алгоритм исследования переносчика представлен на Рисунке 157 (схема 1).

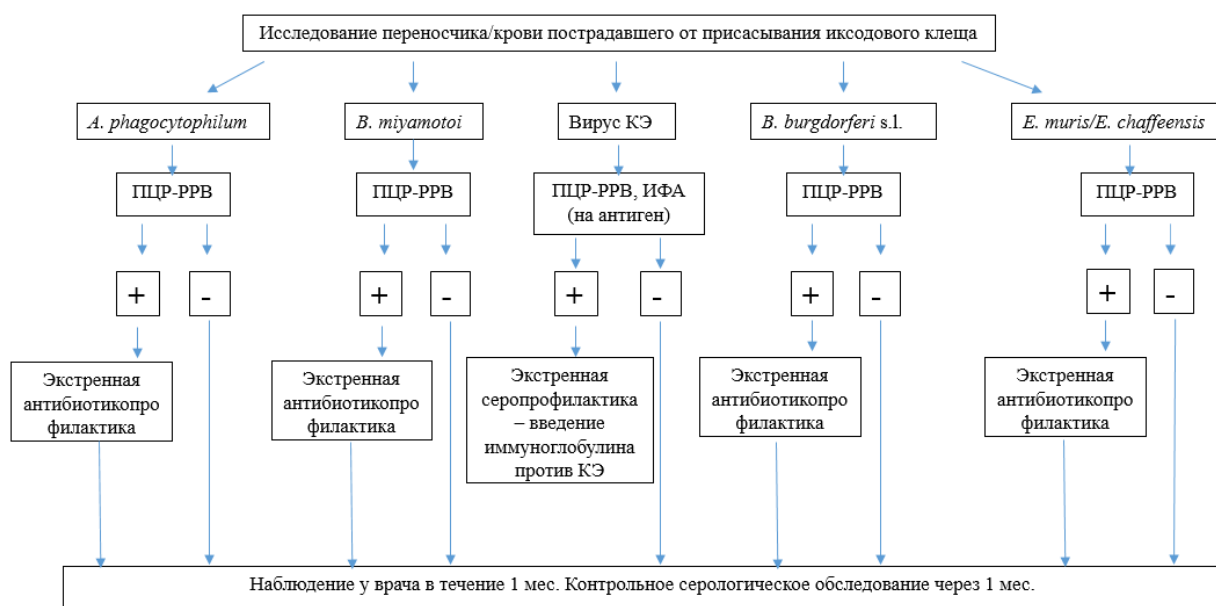
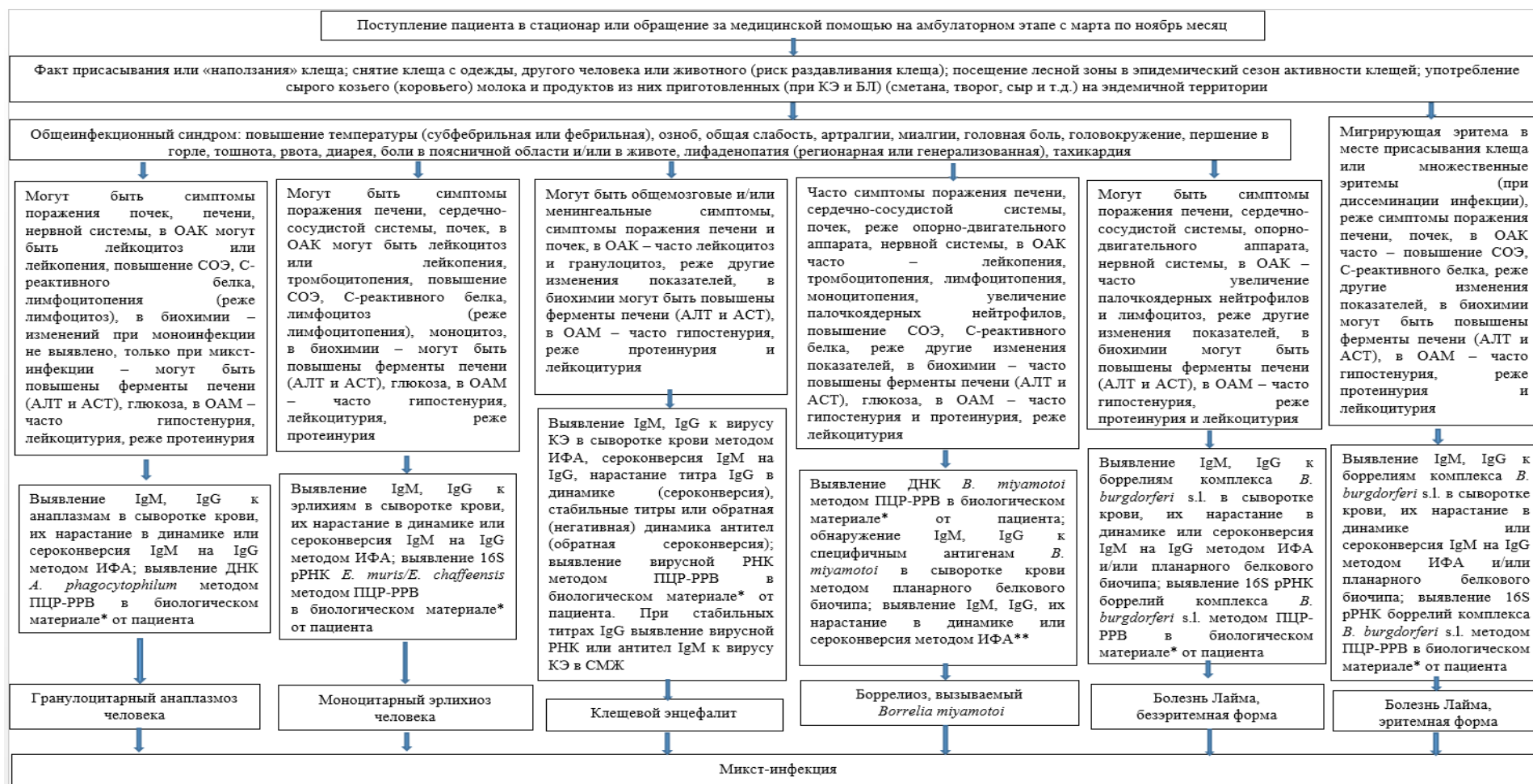


Рисунок 157 – Алгоритм диагностических исследований и тактика профилактических мероприятий у лиц, пострадавших от присасывания клеща в условиях сочетанности природных очагов (схема 1)

В условиях сочетанности природных очагов клещевых инфекций большое значение приобретает внедрение новых методов диагностики и оптимизация алгоритма дифференциальной диагностики заболеваний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический сезон активности клещей с целью достоверного подтверждения диагноза. КЭ, БЛ (безэритемная форма), боррелиоз, вызываемый *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ имеют довольно много сходных клинических черт, особенно в дебюте заболевания, например, спектр проявлений общеинфекционного синдрома, так называемого «острого начала». В условиях сочетанности природных очагов инфекций, передающихся иксодовыми клещами важное значение приобретает правильная клиническая диагностика трансмиссивных клещевых инфекций, включая микст-формы заболеваний. Это сложная задача, поскольку в одних случаях могут возникать клинические симптомы только одной нозологической формы, в то время как

вторая имеет стертое или латентное течение, а в других случаях одновременно проявляются клинические признаки нескольких нозологических форм. В данной ситуации как на этапе амбулаторной, так и стационарной помощи в клинической практике ключевую роль играет алгоритм диагностической тактики врача, позволяющий аргументированно поставить предварительный диагноз, исходя из которого назначается лабораторно-инструментальное обследование больного и соответствующая терапия. По результатам обследования диагноз подтверждается или уточняется, а лечение в случае необходимости может и должно быть скорректировано. При этом следует исходить из того, что любое заболевание, возникшее после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей может быть, как моно- так и микст-инфекцией, вызванной одним, двумя, тремя и даже четырьмя патогенными микроорганизмами. С марта-апреля по октябрь-ноябрь при обращении к врачу-инфекционисту пациентов, в анамнезе которых был факт присасывания клеща или посещение лесной зоны в период активности клещей на эндемичной территории, их необходимо обследовать на весь комплекс заболеваний, встречающихся в данном регионе, возбудители которых передаются клещами рода *Ixodes*. Наличие на коже в месте присасывания клеща мигрирующей эритемы диаметром 5 см и более (редко появляются эритемы размером менее 5 см) – патогномоничный симптом эритемной формы БЛ. КЭ, безэритемная форма БЛ, боррелиоз, вызываемый *B. miyamotoi*, ГАЧ, МЭЧ не имеют патогномоничных симптомов. Развитие общеинфекционного синдрома («острого начала») обычно наблюдается при всех инфекциях, инфицирование возбудителями которых может произойти при присасывании клеща, что затрудняет их диагностику. По мнению Э. И. Коренберга, Н. Н. Воробьевой и других исследователей [87], следует выделять опорные симптомокомплексы, указывающие на наиболее характерную для определенных нозологических форм системную или органную патологию. В ходе исследования, проведенного в Свердловской области, мы составили алгоритм дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, опираясь на эпидемиологический анамнез, выделенные клинические симптомы (симптомокомплексы), результаты лабораторного исследования, включая методы специфической лабораторной диагностики. Во всех случаях следует проводить серологические исследования на наличие специфических антител, как минимум, к выявленным и изученным в конкретном эндемичном регионе клещевым патогенам. Известно, что при серологическом обследовании пациента особое диагностическое значение имеет нарастание титра специфических антител к одному из возбудителей, а для заключения о типе микст-инфекции — к двум и более возбудителям или сероконверсия IgM на IgG в динамике заболевания. Однако нами показано, что при КЭ у вакцинированных, а также, как ранее установлено М. С. Щербининой с соавт. [275; 313], у невакцинированных пациентов могут наблюдаться три варианта динамики антител – сероконверсия, стабильные титры антител и

обратная (негативная) динамика, что важно учитывать при постановке диагноза. Применение ПЦР-РРВ методик исследования с целью выявления генетического материала вышеперечисленных патогенов может дать положительный результат только в тот период заболевания, когда, исходя из особенностей патогенеза конкретной инфекции, есть вероятность, что РНК/ДНК возбудителя может присутствовать в тестируемом биоматериале. Метод ПЦР-РРВ может быть эффективным в период «серологического окна» заболевания, или у серонегативных больных. В ходе нашего исследования мы определили наиболее оптимальные сроки взятия биоматериала для исследования биоматериала (кровь) от пациента методом ПЦР-РРВ – это первые двое суток поступления пациента в стационар (как правило, в лихорадочный период), когда он еще не начал получать этиотропное лечение (специфический иммуноглобулин против КЭ или антибиотики). Несмотря на то, что диагностическая чувствительность ПЦР-РРВ метода исследования в отношении БЛ и КЭ составляет порядка 20-30% относительно серологических методов исследования (ИФА), при выявлении 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. в крови (оптимально исследовать лейкоцитарную фракцию крови с плазмой) можно предположить переход болезни из ранней локализованной в раннюю диссеминированную стадию заболевания и помочь врачу в выборе правильной схемы этиотропной терапии (возможен переход от пероральных к парентеральным антибиотикам). Метод ПЦР-РРВ при исследовании крови или СМЖ (при наличии) на наличие 16S рРНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. или *B. miyamotoi* при безэритемной форме боррелиоза позволяет этиологически верифицировать диагноз (БЛ, безэритемная форма или боррелиоз, вызываемый *B. miyamotoi*). В случае КЭ, выявление РНК вируса методом ПЦР-РРВ до результатов серологических исследований позволяет своевременно поставить диагноз и начать специфическую терапию. Диагностическая чувствительность и специфичность, разработанного нами набора реагентов в формате ПЦР-РРВ, в случае диагностики боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* достигает 100%. ПЦР-РРВ метод исследования на сегодняшний день является основным методом в диагностике данного заболевания. Среди серологических методов исследования для диагностики этого нового боррелиоза высокую специфичность и чувствительность показал метод планарного белкового биочипа, который позволяет дифференцировать иммунный ответ к *B. miyamotoi* и боррелиям комплекса *B. burgdorferi* s.l. Стандартные ИФА тест-системы, которые используются для выявления IgM и IgG к возбудителям БЛ могут выявлять при перекрестных реакциях или не выявлять антитела к *B. miyamotoi*, поскольку не содержат специфических антигенов – glpQ и Vmp. На практике оптимальные результаты лабораторной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, дает сочетание серологических и молекулярно-биологических методов исследования (Рисунок 158, схема 2).



Примечание: *лейкоцитарная фракция крови с плазмой, СМЖ (при наличии); **применение стандартных ИФА тест-систем для выявления антител к возбудителям БЛ

Рисунок 158 – Алгоритм диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами в условиях соотнесенности природных очагов (схема 2)

Для подтверждения или расшифровки диагноза «Клещевой энцефалит» в случае летальных исходов, специфичность и чувствительность метода ПЦР-РРВ достигает 100% при исследовании тканей мозга, если биоматериал был своевременно забран, хранился и транспортировался при должных условиях холодной цепи.

Заключение по главе 10

Учитывая разнообразие клещевых инфекций, установление этиологической роли нового возбудителя безэритемных форм боррелиоза – *B. miyamotoi* в структуре клещевых инфекций, высокую степень распространенности возбудителей и случаи заболевания ГАЧ и МЭЧ, диагностика которых в настоящее время не налажена, высокий социально-экономический ущерб, который наносят трансмиссивные клещевые инфекции (рассмотрено в главе 4 диссертационного исследования), необходима оптимизация и внедрение в практику врача алгоритмов дифференциальной диагностики инфекций, передающихся клещами рода *Ixodes*, целью которой является своевременная диагностика с помощью молекулярно-биологических методов (ПЦР-РРВ) и методов серологической диагностики, включая новые методы – применение белкового планарного биочипа для дифференциальной диагностики БЛ и БМ, которые в настоящее время редко используются в клинической практике или не используются совсем в силу их ограниченной доступности.

Внедрение в практику современных диагностических методик исследования повышают надежность и эффективность скрининговых и лабораторно-диагностических исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекции, экологически связанные с клещами рода *Ixodes*, по-прежнему, представляют серьезную медико-социальную проблему для практического здравоохранения РФ из-за обширного нозоареала, роста обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей, расширения спектра выявляемых в них патогенов различной природы (вирусной, бактериальной) за счет открытия новых и установления возможности инфицирования одной особи переносчика сразу несколькими видами возбудителей, а также разнообразия клинических проявлений, течения и исходов, вызываемых ими заболеваний, в том числе сочетанной этиологии.

В настоящей работе представлены результаты комплексного изучения инфекций, передающихся иксодовыми клещами, проведенные на территории РФ и на примере отдельно взятого субъекта РФ – Свердловской области. Свердловская область, являясь напряженным природным очагом различных по этиологии клещевых инфекций, представляет собой хорошую модель для изучения КЭ, БЛ (эритемная и безэритемная формы), а также новых для нашей страны инфекций – БМ, ГАЧ, МЭЧ. Результаты многолетнего комплексного исследования позволили разработать двухэтапный алгоритм дифференциальной диагностики перечисленных инфекций, основанный на результатах исследования переносчика, данных эпидемиологического анамнеза, клинической симптоматики, лабораторной диагностики, включая специфическую (молекулярно-биологические и серологические методы исследования). В основу данной работы и алгоритма были положены разработанные нами, оптимизированные и апробированные ПЦР-методики в режиме реального времени, а также метод планарного белкового биочипа для дифференциальной диагностики БЛ и БМ.

Учитывая, что диссертационное исследование носило многолетний и комплексный характер, все поставленные задачи (за исключением последней) выполнялись параллельно в разные временные промежутки.

Первой задачей работы было провести многолетний анализ проявлений эпидемического процесса, который включал мониторинг обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей на территории РФ в целом и по субъектам за 9-летний период (2013-2021 гг.), динамику уровня и структуры заболеваемости КЭ и БЛ за 17-летний период (2005-2021 гг.), МЭЧ и ГАЧ за 9-летний период (2013-2021 гг.), а также проведение расширенного сравнительного анализа проявлений эпидемического процесса КЭ и БЛ на примере конкретной эндемичной территории – Свердловской области – за 17-летний период (2005-2021 гг.). Мониторинг обращаемости населения в медицинские организации по поводу

присасывания клещей позволил установить общую тенденцию к стабилизации эпидемиологической ситуации по данному показателю, однако в период эпидемиологического неблагополучия по новой коронавирусной инфекции COVID-19 в 2020-2021 гг. по сравнению с 2019 г. было установлено снижение обращаемости населения по поводу присасывания клещей в 1,2 раза. Тенденция к снижению данного показателя в 2020-2021 гг. прослеживалась практически во всех федеральных округах (ФО) РФ, за исключением СФО и УФО (на которые пришлось 46% всех обращений за период изучения), что вероятно было связано с часто повторяющимися локдаунами в эпидемический период активности клещей, что способствовало снижению контакта населения с иксодовыми клещами, а также, возможно, общебиологическими факторами (снижение численности переносчиков в этот период). За изученный 9-летний период наиболее неблагополучными явились 3 ФО с 12 субъектами РФ: УФО (Тюменская, Свердловская области); СФО (Томская, Кемеровская, Новосибирская области, Республика Алтай); СЗФО (Вологодская, Псковская, Новгородская, Калининградская, Архангельская области и Республика Карелия). Было установлено, что три четверти пострадавших приходится на городское (75,6%) взрослое (75,0%) население.

Среди инфекций, передающихся клещами рода *Ixodes*, за которыми ведется статистический учет, эпидемиологической значимостью в нашей стране характеризуются КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ. Анализ многолетней динамики заболеваемости населения КЭ в РФ выявил дальнейшее снижение заболеваемости с 3,16 на 100 тыс. населения (2005 г.) до 0,66 и 0,69 на 100 тыс. населения (2020 г. и 2021 г. соответственно). В 2020 г. и 2021 г. было зарегистрировано всего 967 и 1010 случаев заболевания КЭ, что в 1,8 раза меньше абсолютного числа случаев, выявленных в 2019 г. (1775 случаев). В 2020 г. показатель заболеваемости КЭ был одним из самых низких за всю его историю изучения, при этом показатель обращаемости населения за медицинской помощью по поводу присасывания клещей в 2020-2021 гг., как было отмечено выше, в РФ снизился только в 1,2 раза. Вероятно, выраженное снижение регистрируемой заболеваемости КЭ в РФ в 2020-2021 гг. было обусловлено не столько снижением контактов населения с природными очагами в период самоизоляции (весенне-летний период – период активности клещей), сколько резким перераспределением объемов оказания медицинской помощи в пользу больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, снижением объемов лабораторной диагностики по выявлению возбудителя и соответственно регистрации случаев заболевания. Подобная тенденция была выявлена при многолетнем анализе показателя заболеваемости БЛ, который снизился в 2 раза в 2020-2021 гг. по сравнению с 2019 г. Однако, следует отметить, что если снижение заболеваемости БЛ может быть обусловлено только неспецифическими факторами (часто повторяющимися локдаунами в период пандемии COVID-19, санпросвет работой, своевременной антибиотикопрофилактикой по результатам исследования клеща методом ПЦР-

РРВ на наличие боррелий), то общая тенденция к снижению заболеваемости КЭ за изученный период обусловлена рядом факторов – специфических и неспецифических. К специфическим следует отнести внедрение с начала 2000-х гг. программы массовой вакцинопрофилактики на эндемичных территориях по КЭ, к неспецифическим – своевременную обращаемость населения по поводу присасывания клещей в медицинские организации, где помимо удаления клеща по показаниям может быть введен иммуноглобулин человека против КЭ, проведение исследования клещей в диагностических лабораториях более высокоспецифичным методом ПЦР-РРВ на наличие вирусной РНК по сравнению с методом ИФА на определение антигена вируса, информационно-просветительская работа с населением, а также период самоизоляции в весенне-летний период пандемии COVID-19.

За изученный период территориальное распределение заболеваемости КЭ и БЛ характеризовалось неравномерностью, однако были выявлены те же ФО с наиболее высокими показателями заболеваемости обеими инфекциями, что и при обращаемости населения в медицинские организации по поводу присасывания клещей – это СФО, УФО и СЗФО, субъекты внутри этих округов могли различаться. Так, при КЭ наиболее эндемичными субъектами оказались: СФО – Красноярский край, Республики Алтай, Хакасия, Тыва; УФО – Курганская и Свердловская области; СЗФО – Архангельская, Вологодская области, Республика Карелия. Интересным является тот факт, что Свердловская область на сегодняшний день является единственным субъектом РФ, где массово проводится вакцинация населения против КЭ (охват вакцинопрофилактикой составляет более 80%, а эпидемиологическая эффективность возросла до 98,1% [324]). Однако, на данной территории несмотря на кампанию массовой вакцинопрофилактики и достигнутый успех, выраженный в клиническом патоморфозе заболевания (среди вакцинированных больных КЭ преобладает лихорадочная форма заболевания) показатели заболеваемости продолжают превышать средние показатели в УФО и по стране. В целом в РФ заболеваемость вакцинированных лиц достигает 5-7%, в отдельных регионах колеблется от 3,7% до 24% [32; 72; 107; 210; 300]. В Европе, в Австрии, где охват вакцинопрофилактикой составляет 85% и более, заболеваемость среди вакцинированных лиц составляет не более 5% [7]. Причинами более высоких показателей заболеваемости среди вакцинированных лиц в отдельных регионах РФ могут быть как гипердиагностика случаев заболевания КЭ среди вакцинированных, вирулентные свойства природных штаммов, так и отличие вакцинных штаммов от природных циркулирующих на большей части территории РФ. В целом следует отметить, что на территории РФ в возрастной структуре заболеваемости КЭ за 17-летний период преобладали взрослые (86,0%) городские (66,1%) жители, а летальные исходы регистрировались преимущественно среди непривитого взрослого населения. Наибольший показатель летальности за все годы изучения был отмечен в ДФО с некоторой тенденцией к

снижению в 2018-2020 гг. Вероятно высокий уровень летальности в ДФО связан с особенностями генетической популяции вируса КЭ, циркулирующей в данном регионе, на территории которого доминирует дальневосточный подтип вируса, и с циркуляцией высокопатогенных штаммов возбудителя. Хотя в последние годы исследователи [154; 155] указывают на увеличение доли слабовирулентных штаммов в структуре популяции вируса КЭ, чем, по-видимому, обусловлено снижение уровня летальности в данном регионе в отдельные годы.

Среди всех субъектов РФ самая высокая среднемноголетняя заболеваемость БЛ была выявлена в Вологодской области, среднемноголетний показатель превысил среднероссийский в 4,6 раза, в Томской области – в 3,7 раза, Свердловской области – в 3 раза, и Республике Тыва – почти в 3 раза. За изученный 17-летний период в возрастной структуре заболеваемости преобладали взрослые (90,1%) городские (81,3%) жители. Летальные исходы крайне редко встречаются при БЛ, однако за наблюдаемый период было выявлено 3 случая летального исхода среди взрослых с БЛ из г. Москва и Забайкальского края.

Многолетний анализ заболеваемости новыми для нашей страны инфекциями – МЭЧ и ГАЧ, официальная регистрация случаев которых ведется с 2013 г. за 9-летний период (2013-2021 гг.) выявил выраженную тенденцию к снижению заболеваемости как среди взрослого, так и среди детского населения. Максимальное число случаев как МЭЧ, так и ГАЧ было выявлено в 2014 г. и составило в абсолютных значениях 54 и 258 случаев соответственно. Наиболее неблагополучными ФО РФ по МЭЧ и ГАЧ явились те же округа и ряд субъектов, которые были выделены для КЭ и БЛ, однако для МЭЧ среди эндемичных добавился Приморский край (ДФО), а для ГАЧ – Пермский край и Кировская область (ПФО). На наш взгляд, выраженное снижение регистрируемой заболеваемости МЭЧ и ГАЧ в РФ в последние годы связано с ухудшением качества диагностики данных нозологий, а не снижением активности природных очагов МЭЧ и ГАЧ на территории РФ. Это может быть обусловлено как отсутствием настороженности врачей-клиницистов в отношении данных заболеваний, так и, прежде всего, отсутствием в настоящее время на рынке зарегистрированных серологических тест-систем для выявления специфических антител к возбудителям МЭЧ и ГАЧ. За все годы изучения летальных исходов при МЭЧ и ГАЧ зафиксировано не было, хотя в США и Европе летальность при МЭЧ составляет 3,7%, при ГАЧ около 1% [463; 565].

Для углубленного анализа проявлений эпидемического процесса наиболее значимых для нашей страны заболеваний – КЭ и БЛ, мы провели сравнительный анализ динамики уровня и структуры заболеваемости данных инфекций на территории Свердловской области – территории эндемичной по КЭ и БЛ, и единственной территории, где уровень вакцинации достиг показателей сравнимых с Австрией – эндемичной по КЭ страной в Европе. В ходе исследования было выявлено как сходство, так и различие в проявлении эпидемического процесса данных

нозологий. Схожие черты заключались в совпадении сезонности КЭ и БЛ (май, июнь), что связано с активностью основных переносчиков на территории Свердловской области клещей *I. persulcatus*; эпидемического подъема заболеваемости в июне и июле с пиком в июне месяце; заболеваемости преимущественно горожан (для КЭ – 66,1%, для БЛ – 92,9%); преобладании в возрастной структуре заболевших лиц 60 лет и старше (для КЭ – 24,6%, для БЛ – 39,5%), однако в совокупности основная доля заболевших пришлась на трудоспособный возраст. Различие определялось в интенсивности заболеваемости БЛ в период сезонного подъема, которая превысила интенсивность сезонного подъема заболеваемости КЭ в 4 раза; продолжительности эпидемического сезона (для КЭ – 8 месяцев, с апреля по ноябрь, для БЛ – 10 месяцев, с марта по декабрь); заболеваемости КЭ преимущественно среди лиц мужского пола; среди многообразия клинических форм КЭ преобладала лихорадочная, доля которой уменьшилась в сторону увеличения менингеальной и очаговых форм среди непривитых пациентов, в структуре клинических форм БЛ преобладала эритемная по сравнению с безэритемной (62,7% и 37,3% соответственно); регистрируемой летальности только среди непривитых больных КЭ. Следует отметить, что постановка диагноза эритемной формы БЛ не представляет трудностей, но безэритемная форма заболевания требует дифференциальной диагностики с наиболее распространенной лихорадочной формой КЭ и другими клещевыми инфекциями (например, БМ, МЭЧ, ГАЧ).

Вторая задача диссертационного исследования заключалась в оценке социально-экономического ущерба, который наносят значимые для РФ инфекции, передающиеся иксодовыми клещами – КЭ и БЛ. Несмотря на то, что данная задача была выполнена в 2013 г., а величина бремени рассчитывалась в ценах 2011 г., на сегодняшний день аналогичных экономических расчетов для нашей страны проведено не было. В ходе исследования было установлено, что общее социально-экономическое бремя, обусловленное КЭ и БЛ за один календарный год составляет более 2 млрд. руб. и приводит к потере 20,5 тыс. лет трудоспособной жизни, а источники экономических потерь определяются течением заболеваний – это текущие медицинские расходы на пребывание в стационаре, и текущие немедицинские расходы (выплата пособий по временной нетрудоспособности, упущенный вклад в производство), а также отложенные немедицинские расходы, возникающие вследствие хронизации заболевания и смерти пациентов, если такие события имеют место. В структуре расходов по клиническим формам КЭ основная доля пришлась на очаговую форму (81,2%), при БЛ – на эритемную форму заболевания (75,0%), по видам затрат – на немедицинские расходы (прямые и косвенные, при КЭ в сумме 86,2%, при БЛ – 55,8%), в медицинских расходах ведущую роль сыграли текущие затраты на лечение КЭ и БЛ в остром периоде, при КЭ в немедицинских – отложенные потери, связанные с инвалидизацией больных в результате заболевания и смертностью больных в

трудоспособном возрасте, при БЛ – отложенные медицинские расходы обусловлены хронизацией заболевания, отложенные немедицинские затраты образуются из-за временной нетрудоспособности больных с хроническим течением болезни. Среди субъектов РФ лидерами по величине социально-экономического ущерба КЭ явились: Красноярский край (203 млн. руб.), Тюменская область (86 млн. руб.), Томская область (74 млн. руб.), Свердловская область (66 млн. руб.) и Пермский край (58 млн. руб.); при БЛ – Москва (135 млн. руб.), Санкт-Петербург (77 млн. руб.), Свердловская область (74 млн. руб.), Пермский край (39 млн. руб.), Кировская область (36 млн. руб.). Несмотря на различия в экономических показателях между регионами (финансирование медицинской помощи, ВРП и средняя заработная плата), была прослежена прямая связь между фактическими средними затратами и общим количеством заболевших по регионам. Результаты расчетов и применение предлагаемой медико-экономической методологии должно предоставить фактическую основу для принятия управленческих решений, поскольку величина и направленность средств, вкладываемых в профилактические, противоэпидемические и лечебные мероприятия, должна определяться дифференцировано, с учетом различия размеров социально-экономического бремени заболеваний по регионам и наиболее значимым природно-очаговым трансмиссивным клещевым инфекциям для них. Разумеется, конкретные оценки ущерба от инфекционных заболеваний могут и должны меняться в зависимости от эпидемиологической ситуации и экономической обстановки в стране. Однако дополнительные организационные мероприятия и финансовые вложения, адекватные относительно высокому и достаточно стабильному бремени КЭ и БЛ, в частности, изученных в данной работе, несомненно, будут оправданы как с социальной, так и с экономической точки зрения.

Третьей задачей нашего исследования было совершенствование эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными клещевыми инфекциями, такими как БЛ, ГАЧ, МЭЧ и боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi* на территории РФ, за счет разработки и внедрения новых современных методик, основанных на ПЦР в режиме реального времени. Данные ПЦР-РРВ методики, обладая высокой специфичностью и чувствительностью легли в основу микробиологического мониторинга (задача №4) и специфической лабораторной диагностики вышеперечисленных заболеваний (задача №5). В ходе работы нами были разработаны, оптимизированы и апробированы две методики на основе ПЦР-РРВ для обнаружения участков генов возбудителей вышеперечисленных заболеваний в клещах и биологическом материале от больного (кровь, СМЖ, аутопсийный материал). В настоящее время обе методики зарегистрированы на территории РФ и имеют коммерческие названия: «АмплиСенс® *TBEV, B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum, E. chaffeensis/E. muris*-FL» (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/09026 от 22.02.2019) и «АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL» (регистрационное удостоверение № РЗН/7316 от 11.04.2019) (производитель – ЦНИИ эпидемиологии

Роспотребнадзора). Данные наборы реагентов широко внедрены в практику работы учреждений Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения, научно-исследовательских институтов, зачастую на базе которых находятся референс-лаборатории, а также других диагностических лабораторий. Клиническая апробация ПЦР-РРВ методик, проведенная в Свердловской области позволила внедрить данные методы диагностики в практику работы региональных врачей-неврологов и инфекционистов и показала необходимость дифференциальной диагностики лихорадочной (реже менингеальной) формы КЭ с новым ранее неизвестным боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi*, а одновременное обнаружение четырех патогенов, передаваемых одним видом переносчика, существенно сократило время выявления возбудителей в клещах и проведения дифференциальной диагностики лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей, и на сегодняшний день является удобным форматом исследования для специалиста клинической лабораторной диагностики. Включение в комплекс методик тест-системы для выявления *B. miyamotoi* представляет уникальную возможность для диагностики этой новой, ранее неизвестной инфекции.

В ходе решения четвертой задачи, которая заключалась в проведении молекулярно-биологического мониторинга за распространением возбудителей КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ, боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* на территории РФ и за ее пределами (дополнительно были проведены исследования иксодовых клещей, собранных на территории Республики Казахстан), удалось установить, что все пять видов возбудителей вышеперечисленных инфекций встречаются в том или ином соотношении на 12 исследованных территориях РФ и 3 областей Республики Казахстан. Были выявлены 4 региона РФ с циркуляцией всех пяти патогенных микроорганизмов в клещах, расположенных в 3 из 6 ФО РФ. Циркуляция пяти возбудителей была выявлена также в иксодовых клещах на территории всех изученных областей из Республики Казахстан. Проведенные исследования показали высокий процент микст-инфицирования переносчиков двумя и более патогенами (до 45,8%), что представляет угрозу инфицирования для населения, проживающего на эндемичных территориях, а, следовательно, каждый случай присасывания клеща следует рассматривать как возможную сочетанную инфекцию. Важной особенностью эпидемиологии трансмиссивных клещевых инфекций на территории РФ и республики Казахстан является доминирование сибирского подтипа вируса КЭ, обнаружение двух геновидов боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. патогенных для человека – *B. afzelii* и *B. garinii* (геновиды NT29, 20047), среди *B. miyamotoi* s.l. азиатского и европейского генотипов *B. miyamotoi*.

Пятая задача диссертационного исследования была посвящена изучению этиологической структуры инфекций, передающихся иксодовыми клещами на территории Свердловской области, которая является природным очагом клещевых инфекций, а также

изучению эпидемиологических, клинико-лабораторных, молекулярно-генетических характеристик выявленных заболеваний. Ежегодно в течение эпидемического сезона активности иксодовых клещей – переносчиков возбудителей заболеваний вирусной и бактериальной природы в ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга (Городской центр природно-очаговых инфекций) поступают пациенты с присасыванием клеща в анамнезе или посещением лесной зоны в период активности клещей в лихорадочном состоянии. Поскольку Свердловская область является территорией эндемичной по КЭ и БЛ, то зачастую при направлении больных в стационар выставляются диагнозы: ОКЭ, БЛ (эритемная или безэритемная форма), ВЛПЧ и другие диагнозы инфекционной (ОРВИ, ОКИ), а также неинфекционной природы. До начала нашего исследования (2009 г.) более 20% случаев заболеваний, возникших после присасывания иксодовых клещей оставались этиологически нерасшифрованными, и пациенты выписывались с диагнозом: Вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими (ВЛПЧ), т.е. такие пациенты по результатам отрицательных серологических исследований не получали специфического лечения. В регионе из всего возможного разнообразия инфекций, передающихся иксодовыми клещами, серологическая диагностика проводится только в отношении КЭ и БЛ. Если при вирусных заболеваниях в настоящее время не существует этиотропной терапии (только при КЭ в качестве специфического лечения может быть применен иммуноглобулин человека против КЭ), то при бактериальных инфекциях она есть (антибактериальные препараты). В рамках данной задачи за изученный период было проведено комплексное эпидемиологическое, клинико-лабораторное (включая специфические молекулярно-биологические и серологические методы) обследование 1205 больных, которые поступили в ООО МО «Новая больница» г. Екатеринбурга (Городской центр природно-очаговых инфекций) по поводу заболеваний, развившихся после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности иксодовых клещей. Специфическое лабораторное обследование включало ПЦР-диагностику, которая проводилась проспективно диссертантом (июнь-июль) на базе лаборатории особо-опасных инфекций Центра гигиены и эпидемиологии в Свердловской области в 2009 г, в остальные годы на базе лаборатории молекулярных методов исследования в Клинико-диагностическом центре г. Екатеринбурга, также часть молекулярно-генетических исследований проводилось ретроспективно на двух базах – лаборатории эпидемиологии природно-очаговых инфекций ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора и лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН; а также серологическое обследование (ИФА, планарный белковый биочип), которое осуществлялось на трех базах – лаборатории иммунологии Клинико-диагностического центра г. Екатеринбурга, лаборатории протеомного анализа ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

и лаборатории клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН. Применение комплекса методов специфической лабораторной диагностики позволило установить наличие какой-либо клещевой инфекции у 1076 больных (диагнозы: КЭ, БЛ, боррелиоз, вызываемый *B. miyamotoi*, ГАЧ, МЭЧ, ВЛПЧ). Из 1076 человек верифицировать диагноз удалось у 967, остальные 109 человек были выписаны с диагнозом ВЛПЧ. Таким образом, в ходе исследования среди обследованных пациентов мы выявили 6 нозологий (как моно-, так и микст-инфекций). Для верификации ВЛПЧ и изучения разнообразия клещевых инфекций в 2021 г. мы провели дополнительные молекулярно-биологические исследования на вирусы Кемерово, Джингмен (включая Алонгшан), Хасеки, Ку-лихорадку, риккетсиоз, ГАЧ, МЭЧ, которые дали отрицательные результаты. Ретроспективное серологическое обследование пациентов на ГАЧ методом ИФА позволило расшифровать диагноз ВЛПЧ у 7 человек, остальные выявленные случаи ГАЧ были связаны с микст-инфекцией той или иной этиологии; моноинфекции МЭЧ выявлено не было, все случаи представляли микст-инфекцию в различных сочетаниях; серологическое обследование на клещевой риккетсиоз у ряда пациентов нашей группы позволило выявить только IgM, но не IgG (отсутствие сероконверсии), поэтому для установления возможной роли риккетсиоза в структуре инфекций, передающихся иксодовыми клещами на территории Свердловской области требуется проведение дополнительных целенаправленных исследований.

В ходе исследования было установлено, что клещевые боррелиозы на территории Свердловской области в структуре инфекций, передающихся иксодовыми клещами являются преобладающими и составляют 79,8% и могут быть вызваны двумя группами боррелий – боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. (геновид *B. garinii*) и *B. miyamotoi* s.l. (выявлен азиатский генотип *B. miyamotoi*), причем *B. miyamotoi* является этиологическим агентом только безэритемной формы боррелиоза, в то время как *B. garinii* и эритемной и безэритемной клинических форм. Этиологическим агентом КЭ на территории области является сибирский подтип вируса КЭ.

При изучении эпидемиологических и клинико-лабораторных показателей как моно-, так и микст-инфекций КЭ, БЛ (эритемная и безэритемная формы), БМ, ГАЧ, МЭЧ, ВЛПЧ было установлено, что общими эпидемиологическими характеристиками для вышеперечисленных инфекций являются: трансмиссивный механизм передачи возбудителей, преобладание заболеваний в группах лиц среднего и старшего возраста, наибольшее количество случаев заражения возбудителями вышеперечисленных инфекций произошло в районе лесопарковой и лесной зоны г. Екатеринбурга (подзона южной предгорной и равнинной тайги), наиболее излюбленными местами присасываний иксодовых клещей явились верхние и нижние конечности, живот, реже другие области тела, длительность присасывания иксодовых клещей в

большинстве случаев была не более суток. Различия наблюдались при заболевании той или иной клещевой инфекцией по половому признаку, так при моноинфекции КЭ, БМ, ВЛПЧ чаще болели мужчины, при БЛ (эритемная форма) – в одинаковом соотношении и мужчины, и женщины, а при БЛ (безэритемная форма) и МЭЧ – среди заболевших преобладали женщины, варьировали частота инфицирования тем или иным возбудителем при посещении леса, садово-огородных участков или городской лесопарковой зоны, наибольшее число случаев было зарегистрировано при посещении первых двух. Раньше за медицинской помощью обращались пациенты с БМ, ВЛПЧ и ГАЧ, в среднем через трое-четверо суток после появления первых симптомов заболевания.

Клиническая симптоматика при инфекциях, передающихся иксодовыми клещами оказалась схожей, т.к. практически при всех нозологиях имел место общеинфекционный синдром с повышением температуры в разгаре заболевания до субфебрильных и фебрильных цифр, исключение составила эритемная форма БЛ. При эритемной форме БЛ клинический диагноз выставлялся по наличию мигрирующей эритемы в месте присасывания клеща или наличию множественных эритем при диссеминации инфекции с учетом данных эпидемиологического анамнеза. Также при эритемной форме БЛ общеинфекционный синдром имел место только в 50% случаев, по сравнению с другими нозологиями (от 62 до 97% и более). Все остальные клинические симптомы оказались неспецифичными, однако наиболее выражены симптомы общеинфекционного синдрома были при моноинфекции БМ, КЭ (лихорадочная форма), БЛ-БЭФ, ВЛПЧ. Менингеальные симптомы в группах с микст-инфекцией КЭ были связаны с менингеальной или менингоэнцефалитической формами заболеваний, хотя менингеальные симптомы в одном случае были выявлены у пациента с моноинфекцией ГАЧ, что статистически не достоверно. Что касается микст-инфекций в том или ином сочетании, то частота клинических симптомов сильно варьировала, однако, по результатам наших исследований нельзя сказать, что микст-инфекции клинически протекают тяжелее. Например, при БМ, при котором наиболее часто выражен интоксикационный синдром, в сочетании с другими нозологиями утяжеления течения установлено не было, напротив моноинфекция БМ клинически протекала тяжелее, чем микст-инфекция БМ. При оценке лабораторных показателей мы отметили, что при КЭ достоверно чаще встречаются лейкоцитоз и гранулоцитоз. В разгар БМ имеется склонность к лейкопении, лимфоцитопении, тромбоцитопении, моноцитопении, относительному увеличению доли палочкоядерных нейтрофилов, сдвигу лейкоцитарной формулы влево, повышению ферментов печени, С-реактивного белка, повышению глюкозы. Изменение этих же показателей отличает период разгара БМ от разгара эритемной формы БЛ, при которой могут быть как лейкоцитоз, так и лейкопения, тромбоцитоз или тромбоцитопения, могут быть повышены ферменты печени, но реже, чем при БМ, достоверно чаще повышена СОЭ (более 60%) и С-

реактивный белок (более 70%), может быть моноцитоз. При безэритемной форме БЛ также, как и при эритемной могут быть лейкоцитоз или лейкопения, чаще тромбоцитопения, чем тромбоцитоз, относительное увеличение палочкоядерных нейтрофилов, повышение печеночных трансаминаз (до 37%), СОЭ (около 50%), С-реактивный белок (более 40%), лимфоцитоз. ВЛПЧ характеризуется склонностью к лейкопении, тромбоцитопении, повышением печеночных трансаминаз, СОЭ (около 50%), С-реактивного белка (более 60%), моноцитозом. При ГАЧ могут быть как лейкоцитоз, так и лейкопения, повышение СОЭ (около 50%), С-реактивного белка (более 30%), лимфоцитопения. Поскольку МЭЧ был диагностирован только в сочетании с какой-либо другой клещевой нозологией, по результатам нашего исследования не представляется возможным оценить лабораторные показатели только для данной инфекции.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что опираясь на знания об эндемичности региона по той или иной клещевой инфекции, данных эпидемиологических и клинико-лабораторных исследований можно поставить достоверный диагноз только в случае БЛ эритемной формы, все остальные инфекции, передающиеся иксодовыми клещами можно только заподозрить, но окончательный диагноз может быть поставлен только по результатам специфической лабораторной диагностики, основанной на комплексном применении молекулярно-биологических и серологических методов исследования.

Шестой задачей нашего исследования было оценить возможности специфической лабораторной диагностики КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ, МЭЧ, доступной в настоящее время в клинической практике или только в научных целях. На сегодняшний день следует отметить, что в целях совершенствования эпидемиологического надзора за вышеперечисленными инфекциями зарегистрированы наборы реагентов на основе ПЦР-РРВ для одновременного обнаружения генетического материала возбудителей КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ, а также для выявления возбудителя безэритемной формы клещевого боррелиоза – *B. miyamotoi*, вызывающее одноименное заболевание, обозначаемое в диссертации как БМ, о которых речь шла выше. В ходе исследования было установлено, что молекулярно-биологические методы исследования в диагностике БМ являются первоочередными в постановке и подтверждении диагноза, в силу отсутствия специфичных ИФА тест-систем и низкой диагностической чувствительности существующих ИФА тест-систем для выявления IgM (34,3%) и IgG (11,2%) к возбудителям БЛ. В качестве метода специфической лабораторной диагностики БМ хорошо себя показал, разработанный в ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора и используемый в настоящее время в научных целях, метод планарного белкового биочипа для дифференциальной диагностики БЛ и БМ, диагностическая чувствительность которого в нашем исследовании составила более 60%. В ходе данного исследования нам удалось впервые в мире выделить клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi* из крови пациентов Свердловской области, которым диагноз был

поставлен на основании метода ПЦР. Изучение некоторых из них (Yekat-1 и Yekat-6) на чувствительность к антибактериальным препаратам *in vitro* позволило установить, что данные изоляты чувствительны к доксициклину, цефтриаксону, азитромицину, но резистентны к амоксициллину, который входит в схемы лечения БЛ у взрослых и детей. До результатов данной работы БМ лечили эмпирически согласно схеме лечения эритемной формы БЛ. Что касается БЛ (эритемная и безэритемная формы), то на первое место в диагностике данного заболевания выходит серологический метод исследования и клинический в случае эритемной формы БЛ. Однако, обнаружение методом ПЦР-РРВ в крови генетического материала возбудителей *B. burgdorferi* s.l. указывает на проникновение патогена в кровяное русло и его диссеминацию, что является риском развития более тяжелого течения заболевания или даже хронизации процесса. По результатам наших исследований при МЭЧ и ГАЧ единственным методом специфической лабораторной диагностики на сегодняшний день является ИФА, поскольку в настоящем исследовании ПЦР-РРВ метод исследования во всех случаях, за исключением одного, дал отрицательные результаты при исследовании биологического материала (кровь) от пациентов в первые двое суток поступления в стационар или обращения амбулаторно, когда важна дифференциация диагноза между заболеваниями вирусной и бактериальной этиологии. Мы предполагаем, что отрицательные находки могут быть связаны как со сроками взятия биоматериала для ПЦР-исследования на наличие 16S рРНК/ДНК эрлихий и анаплазм, так и другими патогенными анаплазмами, для выявления которых нужно использовать, например, не гранулоциты (лейкоцитарную фракцию крови), а эритроциты (цельную кровь или ее эритроцитарную фракцию). В настоящем исследовании мы брали кровь в первые 1-2 суток поступления пациента в стационар или амбулаторно. В работах, проведенных В. Ю. Тетериным с соавт. [86; 211; 287] показано, что сроки обнаружения генетического материала анаплазм и эрлихий могут варьировать в широких пределах (от 1-3 недель заболевания и более), однако около 60% положительных ПЦР-находок приходится на первую неделю заболевания. Кроме того, причиной отрицательных ПЦР-результатов в отношении ГАЧ могут быть другие патогенные для человека анаплазмы, патогенность которых для человека установлена в последние годы и подробно описана в обзоре Rar et al. [823]. Так, например, патогенная для человека *A. carpa* поражает эритроциты, а не гранулоциты, как *A. phagocytophilum*. В настоящем исследовании мы исследовали лейкоцитарную фракцию крови с плазмой и определяли наличие ДНК только *A. phagocytophilum*. Отрицательные результаты при ПЦР-диагностике исследования крови на 16S рРНК/ДНК возбудителей МЭЧ и ГАЧ в нашем исследовании требуют дальнейшего изучения. Важным является тот факт, что в ходе данного исследования были установлены три варианта динамики гуморального иммунитета при КЭ (сероконверсия, стабильные титры IgG, обратная или негативная сероконверсия), особенно в группе вакцинированных пациентов, а не

только сероконверсия с нарастанием титра антител в динамике заболевания, как это принято считать и как это указано в клинических рекомендациях по КЭ и других регламентирующих документах. Было установлено, что у вакцинированных пациентов наиболее трудным в постановке диагноза является такой тип гуморального иммунитета как стабильные титры. Для этого нами были разработаны критерии постановки диагноза у вакцинированных пациентов с данным типом гуморального ответа. Предложено исследовать СМЖ на наличие IgM, антигена вируса КЭ методом ИФА и/или вирусной РНК методом ПЦР-РРВ. Особое значение имеет изоляция вируса с последующим его генотипированием. В случае выявления у вакцинированных больных IgM в сыворотке крови необходимо уточнить сроки последней вакцинации или ревакцинации, так показано, что IgM могут определяться в крови до трех месяцев [624], как и антиген [275; 313]. В качестве дополнительного метода, подтверждающего диагноз КЭ рекомендуется применять реакции, дифференцирующие иммунный ответ к вакцинному штамму и к этиологическому агенту, если он относится к другому подтипу вируса КЭ. Интересными являются более ранние исследования, проведенные М. С. Щербининой с соавт. [275; 313] в ходе которых установлено, что все три варианта динамики гуморального иммунитета могут встречаться и среди невакцинированных ранее больных.

Седьмая задача настоящего исследования заключалась в изучении патогенного потенциала вируса КЭ сибирского подтипа, доминирующего на большей части территории РФ, кроме Дальнего Востока [120; 279]. В настоящее время кардинально изменились представления о патогенности сибирского подтипа вируса КЭ для человека. Гипотеза о том, что дальневосточный и сибирский подтипы ВКЭ связаны с разными нозологическими формами, не нашла подтверждения, как и мнение о слабой патогенности сибирского подтипа. Клинико-вирусологические, иммунологические, молекулярно-генетические, морфологические исследования доказывают способность сибирского подтипа вызывать инаппарантные, лихорадочные, менингеальные, тяжелые хронические, летальные очаговые формы заболевания [107; 164; 196; 453]. Нами показано, что все изученные летальные случаи КЭ, зарегистрированные в период 2008-2014 гг. из Свердловской, Кемеровской, Курганской, Челябинской, Ярославской, Вологодской областей, были вызваны сибирским подтипом вируса КЭ. Исследование проводилось в рамках референс-центра по КЭ на базе Института полиомиелита, действующего до 2017 г. В ходе данной работы мы постарались разобраться в причинах летальных исходов у многократно вакцинированных пациентов. Было установлено, что у привитых и непривитых пациентов сибирский подтип вируса КЭ способен вызывать самое тяжелое течение заболевания с многоуровневыми поражениями ЦНС (морфологические исследования головного и спинного мозга при летальных исходах, вызванных сибирским подтипом вируса были проведены впервые в ходе настоящей работы). Отягощающими

факторами в развитии заболевания у невакцинированных больных явились старший возраст, множественные присасывания клещей, высокая вирулентность штаммов, сопутствующие заболевания (у некоторых погибших была диагностирована БЛ), антибактериальная терапия, приводящая к иммуносупрессии. При бульбарном синдроме больные получали иммуноглобулин человека против КЭ. На сегодняшний день схемы введения этого препарата, дозы, титр антител являются предметом дискуссии. Несоответствие природных штаммов вакцинным может играть роль в выработке защитных титров антител (нейтрализующих антител) против доминирующего сибирского подтипа вируса [272; 273].

Экспериментальное изучение вопроса дает неоднозначные результаты. Г. Н. Леонова и соавт., исследовав сыворотки крови людей, привитых вакциной Энцепур, а затем и четырьмя вакцинами, делают вывод об иммунологической эффективности всех вакцин относительно дальневосточного подтипа вируса КЭ, хотя уровень нейтрализующих антител к различным штаммам существенно различался [716]. По данным Л. Л. Терехиной и соавт., вакцины из штаммов дальневосточного (производства ИПВЭ им. М.П. Чумакова) и европейского подтипов вируса КЭ ("ФСМЕ-Иммун-Инжект") в опытах на мышах защищали от различных подтипов вируса КЭ, включая сибирский. Уровень защиты, по мнению авторов, зависит не от генетических различий, а от индивидуальных свойств штаммов [286].

О. В. Морозова и соавт. провели комплексное изучение эффекта четырех вакцин в опытах на мышах линий BALB/c и ICR [90]. Отечественные вакцины и препарат "ФСМЕ-Иммун-Инжект" различались по экспрессии генов ключевых цитокинов, ответственных за клеточный и гуморальный иммунитет. Слабая стимуляция цитокинового ответа, особенно экспрессии генов фактора некроза опухолей TNF- α и ИЛ- β , снижали риск развития поствакцинальных осложнений. При иммунизации московской вакциной титр IgG в ИФА был наиболее высок к гомологичным штаммам и вдвое ниже к сибирскому подтипу. Защиту мышей против заражения сибирским подтипом обеспечивали "Энцевир", московская и австрийская вакцины, тогда как "Энцепур" была неэффективна.

Варианты опытов, методов и тестов, использованных авторами, не дают однозначного ответа относительно протективных свойств существующих вакцин. Отягощающими факторами при летальном КЭ, вызванном сибирским подтипом, являются принадлежность пациентов к старшей возрастной группе, сопутствующие заболевания, иммуносупрессия, множественные присасывания клещей, локализация укуса в области головы, высокая вирулентность заражающего штамма [315]. Два последних фактора имели место при заболевании больной Б. Штамм Курган-118-2010, изолированный из спинного мозга погибшей, в опытах на лабораторных животных проявил высокую нейровирулентность, нейроинвазивность, тропизм к нейронам. После 6-кратных прививок вакцинами дальневосточного подтипа больной Б. имела

гуморальный иммунитет (IgG 1:1600), сравнимый с уровнем, отмечаемым при массовой вакцинации в Свердловской области [324]. Тем не менее это не обеспечило защиту от заражения сибирским подтипом вируса. Состояние клеточного иммунитета у больной Б. изучено не было. Связь клеточного иммунитета с протективным эффектом различных вакцин против КЭ требует дальнейшего исследования.

Нельзя исключить роль в патогенезе заболевания больной Б. антителозависимого усиления инфекции. Данный феномен детально изучен при лихорадке Денге [487; 613]. Антителозависимое усиление инфекции вируса КЭ продемонстрировано в клеточных культурах [317; 362; 789]. Потенцирующее действие на инфекцию оказывали моноклональные антитела и поликлональные сыворотки.

Больной Б. в стационаре ввели специфический иммуноглобулин против КЭ (2 мл, титр 1:160). В течение 2 ч состояние больной резко ухудшилось. Через 5 ч после введения иммуноглобулина она скончалась. Некоторые авторы допускают возможность антителозависимого усиления инфекции КЭ в организме человека [434].

Механизм заболевания больной Б., по-видимому, связан с комплексом специфических и неспецифических факторов, требующих дальнейшего анализа.

Дефекты иммунитета различного генеза, вероятно, могут быть причиной развития КЭ у привитых людей, эта область остается малоисследованной.

Нет данных о целесообразности сочетания активной иммунизации вакцинами и пассивной иммунизации иммуноглобулином. Феномен антителозависимого усиления инфекции требует специального исследования применительно к вакцинам и специфическому иммуноглобулину против КЭ.

Не изучен вопрос о персистенции вируса КЭ в организме вакцинированных людей. В опытах на обезьянах и сирийских хомяках В. В. Погодиной и соавт. показано, что профилактическое введение вакцины на основе дальневосточного подтипа не препятствует длительной персистенции штаммов сибирского подтипа, что может обусловить развитие хронического КЭ [149; 798].

В случае, зарегистрированном в Челябинской области у пациента М., многократно привитого вакцинами из штаммов дальневосточного и европейского подтипов вируса КЭ, диагноз КЭ подтвержден эпидемиологическими, клиническими, гистологическими данными, детекцией в сыворотках крови специфических IgM и сероконверсией IgG, а также выявлением антигена вируса КЭ в нейронах головного мозга методом иммунофлюоресценции.

Отсутствие в литературе описания подобных случаев заболевания среди вакцинированных пациентов свидетельствует об их исключительной редкости или трудности диагностики. Оба случая, исследованные нами, имеют сходство: а) зона циркуляции сибирского подтипа вируса

КЭ, вакцинация гетеротипичными вакцинами; б) многократные прививки с сокращенными интервалами между отдельными ревакцинациями; в) быстрота развития заболевания и летального исхода (55 ч и 9 сут) в отличие от времени смерти невакцинированных больных (в Челябинской области у пациентов на 15, 29 и 23-й дни болезни). В инструкциях по применению вакцин против КЭ число ревакцинаций не ограничено. Между тем известно, что гипервакцинация, излишняя антигенная нагрузка нежелательны из-за риска осложнений, образования иммунных комплексов и возможного развития феномена антителизависимого усиления инфекции. Важен принцип индивидуального подхода к вакцинации с учетом иммунного статуса реципиента [176], который еще не вошел в практику специфической профилактики КЭ. Обращает на себя внимание высокий уровень гуморального иммунитета в двух описанных случаях летального КЭ у вакцинированных пациентов – титр IgG 1:1600. При сравнительном изучении российских и зарубежных вакцин против КЭ показатель в ИФА IgG 1:1600 свидетельствовал о высокой иммуногенности препаратов [324]. Причины неэффективности вакцинации у умерших больных с высоким уровнем иммунитета требуют целенаправленного изучения, однако, нельзя исключить антителизависимое усиление инфекции, которое наблюдается при инфекции, вызванной вирусом Денге, кроме того данный феномен был воспроизведен *in vitro* с вирусом КЭ [317], иммунизация вакцинами, приготовленными из четырех штаммов вируса КЭ, относящимися к дальневосточному и европейскому подтипам вируса КЭ, в то время как этиологическим агентом был сибирский подтип вируса.

В литературе начал обсуждаться вопрос о целенаправленном отборе тест-штаммов. Предложено создать обновляемую панель современных региональных штаммов, выделенных от клещей, с высокой вирулентностью при периферическом введении [90]. Возможен другой подход, основанный на главном критерии – соответствии задачам вакцинопрофилактики КЭ – снижение заболеваемости, в первую очередь очаговых форм с летальным исходом и инвалидизацией. Выбор штаммов, изолированных от клещей, не отвечает данному критерию. Инфицирование через присасывание клеща в подавляющем большинстве случаев вызывает инapparантную инфекцию, реже манифестные формы – от легких лихорадочных до очаговых. Важна инфицирующая доза вируса, в индивидуальных особях самок и самцов *I. persulcatus* концентрация вируса КЭ колеблется от 10^2 до 10^9 БОЕ/мл [144]. В число тест-штаммов целесообразно включать современные штаммы сибирского подтипа, заведомо патогенные для человека, то есть выделенные при очаговых формах КЭ от умерших людей. В коллекции ФГАНУ ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН имеются такие штаммы, изолированные в ходе данной работы (Yaroslavl-Bel-08-GQ845439, Yaroslavl-Aver-08-GQ845440, Yaroslavl-Zhd-12-KJ936633, Vologda-Krash-08-KJ936638, Ekaterinburg-Zhg-09-KJ936630, Ekaterinburg-Egsh-09-KJ936624, Chelyabinsk-Abd-12-KJ936631, Kemerovo-Kch-13-KJ936632 и другие).

Результаты изучения нейровирулентных и нейроинвазивных свойств современных изолятов (штаммов) вируса КЭ сибирского подтипа, выделенных при очаговых с летальным исходом, лихорадочной, инаппаратной форм заболевания, свидетельствуют об их высокой нейроинвазивности и нейровирулентности в опытах на белых мышах и сирийских хомяках.

Последняя (восьмая) задача диссертационного исследования заключалась в разработке, на основе полученных результатов исследований, двухэтапного алгоритма дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами. Данный алгоритм является инструментом для врача-клинициста как в постановке диагноза, так и принятии профилактических мер в случае выявления в клеще патогенов, т.к. первый этап направлен на исследование клеща-переносчика от пострадавшего, а второй этап – это собственно алгоритм дифференциальной диагностики, включающий данные эпидемиологического анамнеза, клинической картины (наиболее часто общеинфекционного синдрома), результатов лабораторных исследований, в том числе специфической лабораторной диагностики. Основной задачей внедрения алгоритма дифференциальной диагностики является совершенствование эпидемиологического надзора за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

ВЫВОДЫ

1. Дана комплексная характеристика современной эпидемиологической ситуации в РФ в целом и на высокоэндемичных территориях с различной динамикой и структурой заболеваемости (УФО, СФО, СЗФО) по КЭ, БЛ, МЭЧ и ГАЧ, которая свидетельствует о неухаживающей активности природных очагов данных инфекционных болезней в масштабах страны, несмотря на тенденцию к снижению заболеваемости ими в период эпидемиологического неблагополучия по новой коронавирусной инфекции (2020-2021 гг.).

2. Проведен сравнительный анализ проявлений эпидемического процесса КЭ и БЛ на примере Свердловской области в ходе которого установлено, что интенсивность заболеваемости БЛ в период сезонного подъема в 3,8 раза превышает интенсивность сезонного подъема заболеваемости КЭ, продолжительность эпидемического сезона для КЭ составляет 8 месяцев (с апреля по ноябрь), для БЛ – 10 месяцев (с марта по декабрь) с пиком заболеваемости для обеих инфекций в июне, случаи заболевания КЭ и БЛ регистрируются преимущественно среди горожан (КЭ – 66,1%, БЛ – 92,9%), в возрастной структуре заболевших преобладают лица 60 лет и старше (для КЭ – 24,6%, для БЛ – 39,5%), при КЭ болеют чаще лица мужского пола, в структуре клинических форм заболеваний КЭ преобладает лихорадочная, при БЛ – эритемная, летальные исходы регистрируются только от КЭ среди невакцинированных пациентов.

3. Впервые на территории РФ изучено социально-экономическое бремя КЭ и БЛ и показано, что в совокупности КЭ и БЛ за один календарный год (по ценам 2011 г.) приводят к потере 20 547 лет трудоспособной жизни, а общее расчетное экономическое бремя в денежном эквиваленте составляет 2,04 млрд. руб.; основная доля в структуре расходов для КЭ приходится на очаговую (81,2%), для БЛ – на эритемную (75,0%) формы заболевания.

4. Показано, что разработанные и оптимизированные методики на основе ПЦР в режиме реального времени обладают высокой чувствительностью (5×10^3 ГЭ/мл для всех заявленных микроорганизмов для «АмплиСенс® *TBEV*, *B. burgdorferi* s.l., *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*/*E. muris*-FL» и 1×10^3 ГЭ/мл для «АмплиСенс® *Borrelia miyamotoi*-FL») и специфичностью (до 100% для обеих методик). Данные методики широко используются как для мониторинга природных очагов КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ, так и для диагностики перечисленных заболеваний в клинической практике на эндемичных территориях.

5. Проведенный молекулярно-биологический мониторинг клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus* показал широкое распространение возбудителей КЭ, БЛ, МЭЧ, ГАЧ, БМ на территории РФ и Республики Казахстан; установлена циркуляция всех пяти видов изученных патогенных микроорганизмов в клещах из Вологодской, Свердловской, Курганской, Кировской и Иркутской

областей, отмечен высокий процент микст-инфицирования переносчиков двумя и более патогенами (до 45,8%); в клещах определены патогенные для человека геновиды боррелий – *B.afzelii* и *B.garinii* (геноварианты NT29 и 20047), сибирский подтип вируса КЭ (азиатский и европейский топоварианты), азиатский и европейский генотипы *B. miyamotoi*.

6. Показано, что этиологическая структура инфекций, передающихся иксодовыми клещами на территории Свердловской области на современном этапе представлена КЭ (сибирский подтип вируса, субгенотип «Заусаев»), БЛ (боррелии комплекса *B. burgdorferi* s.l., геновид *B. garinii*), БМ (*B. miyamotoi*, азиатский генотип), ГАЧ и МЭЧ, однако в 10,1% случаев этиологию заболевания, возникшего после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей установить не удалось (пациенты выписаны с диагнозом ВЛПЧ). Частота микст-форм заболеваний за период изучения составила 18,7%, а в 2021 г. достигла 50,5%.

7. Установлено, что большая часть безэритемных форм боррелиоза на территории Свердловской области этиологически связана с новым возбудителем, который входит в группу возбудителей возвратных лихорадок – *B. miyamotoi*. Клинические изоляты (штаммы) *B. miyamotoi*, выделенные от больных *in vitro* являются чувствительными к доксициклину, азитромицину и цефтриаксону, но проявляют устойчивость к амоксициллину, который входит в схемы лечения БЛ.

8. Показано, что в основе специфической лабораторной диагностики КЭ, БЛ, ГАЧ и МЭЧ лежит серодиагностика, в то время как специфическая диагностика боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* основана, прежде всего, на выявлении ДНК возбудителя в крови в первые двое суток поступления пациента в стационар (в лихорадочный период), затем на выявлении специфических для возвратных лихорадок IgM и IgG к антигенам glpQ и Vmp (метод планарного белкового биочипа). При постановке диагноза пациентам с КЭ (особенно вакцинированным) следует учитывать возможные три варианта динамики гуморального иммунитета.

9. Установлено, что сибирский подтип вируса КЭ является доминирующим на территории РФ на современном этапе и вызывает весь спектр клинических проявлений – от стертой до очаговых форм с летальным исходом; данный подтип является пантропным к различным структурам головного и спинного мозга, что подтверждается изоляцией РНК и изолятов (штаммов) вируса из них от погибших пациентов. Выделенные современные штаммы сибирского подтипа вируса обладают высокой нейроинвазивностью и нейровирулентностью в экспериментах на лабораторных животных (белые мыши и сирийские хомяки).

10. Разработан двухэтапный алгоритм дифференциальной диагностики КЭ, БЛ, БМ, ГАЧ, МЭЧ, включающий исследование клеща-переносчика или крови пострадавшего (в случае

невозможности исследования клеща) и постановку диагноза пациенту после присасывания клеща или посещения лесной зоны в период активности клещей.

11. На основе молекулярно-биологического мониторинга и внедрения алгоритма дифференциальной диагностики усовершенствованы информационная и диагностическая подсистемы эпидемиологического надзора за КЭ и бактериальными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С целью совершенствования эпидемиологического надзора за инфекциями, передающимися иксодовыми клещами рекомендовано обеспечить ведение целенаправленного эпидемиологического и микробиологического мониторингов за КЭ, БЛ и новыми для РФ инфекционными заболеваниями – боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ.

Для исследования иксодовых клещей из природы или снятых с людей рекомендуется использовать метод ПЦР в режиме реального времени, как метод, обладающий наибольшей чувствительностью и специфичностью для выявления патогенных для человека возбудителей КЭ, БЛ, боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ.

Учитывая широкое распространение сочетанных природных очагов трансмиссивных инфекций рекомендовано проводить ПЦР-исследование как минимум на наличие возбудителей КЭ, БЛ, боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ в пределах ареала клещей рода *Ixodes* (основные переносчики – клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus*).

У лиц, проживающих на территориях эндемичных по КЭ, дифференциальная диагностика лихорадочных состояний, возникших после присасывания клеща или посещения лесной зоны в эпидемический период активности клещей должна проводиться не только с БЛ (эритемная и безэритемная формы), но и новыми инфекциями – боррелиозом, вызываемым *B. miyamotoi*, ГАЧ и МЭЧ.

Для верификации КЭ, БЛ, ГАЧ, МЭЧ рекомендуется использовать молекулярно-генетические методы исследования в комплексе с серологическими методами в первые дни пребывания пациента в стационаре в период «серологического окна», а также у серонегативных больных.

Для обоснования окончательного диагноза «Боррелиоз, вызываемый *Borrelia miyamotoi*» рекомендуется использовать методы специфической лабораторной диагностики, такие как ПЦР-РРВ для выявления ДНК возбудителя в крови, метод планарного белкового биочипа со второй недели заболевания с определением специфических IgM и IgG к glpQ антигену, а также к Vmp антигенам *B. miyamotoi*.

При подтверждении клинического диагноза «Клещевой энцефалит» у вакцинированных пациентов против КЭ необходимо учитывать три типа динамики гуморального иммунитета (по IgG): сероконверсия, стабильные титры антител, обратная (негативная) динамика антител. При стабильных титрах антител рекомендуется определение IgM, антигена вируса КЭ или вирусной РНК в СМЖ, а также проведение изоляции вируса в лабораторных условиях с последующим его генотипированием.

При назначении экстренной профилактики (антибиотикопрофилактики) и в схемах лечения боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi* рекомендуется пересмотреть применение антибиотика пенициллинового ряда – ампициллина в сторону антибиотиков тетрациклинового ряда – доксициклина, группы макролидов – азитромицина, цефалоспорина III поколения – цефтриаксона, т.к. в эксперименте *in vitro* клинические изоляты *B. miyamotoi* проявляют устойчивость к ампициллину и чувствительны к доксициклину, азитромицину и цефтриаксону.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Необходимо проведение регулярного молекулярно-биологического мониторинга циркулирующих на территории РФ возбудителей инфекций, передающихся иксодовыми клещами (КЭ, БЛ, боррелиоза, вызываемого *B. miyamotoi*, ГАЧ, МЭЧ) с целью определения распространенности клещевых патогенов и оценки активности природных очагов данных инфекций.

2. Полученные данные о доминировании на территории РФ сибирского подтипа вируса КЭ и его этиологической роли в развитии различных клинических форм заболевания, включая очаговые с летальным исходом, требуют дальнейшего изучения нейровирулентных и нейроинвазивных свойств данного подтипа вируса, а также получение и депонирование в базу данных GenBank полноразмерных последовательностей геномов современных штаммов вируса КЭ сибирского подтипа для сравнения с прототипными штаммами и выявления нуклеотидных замен, ответственных за вирулентность и нейроинвазивность.

3. Для более углубленного изучения причин заболеваемости и летальных исходов среди вакцинированных лиц против КЭ требуется проведение поиска генетических локусов (маркеров), ассоциированных с развитием, тяжестью течения заболевания и исходов.

4. Требуется дальнейшего изучения вопрос соответствия современных природных и вакцинных штаммов вируса КЭ в условиях доминирования сибирского подтипа возбудителя на территории РФ и создание обновляемой панели современных региональных штаммов с высокой вирулентностью при периферическом введении. Такой подход основан на главном критерии – соответствии задачам вакцинопрофилактики КЭ – снижение заболеваемости, в первую очередь, очаговых форм с летальным исходом и инвалидизацией. В число тест-штаммов целесообразно включать современные штаммы сибирского подтипа, заведомо патогенные для человека, т.е. выделенные при очаговых формах КЭ от умерших людей.

5. Необходимо расширенное изучение этиологической роли нового возбудителя безэритемных форм боррелиоза – *B. miyamotoi* в структуре трансмиссивных клещевых инфекций в масштабах страны.

6. Требуется дальнейшее изучение этиологической роли на территории РФ возбудителей МЭЧ и ГАЧ в развитии лихорадочных состояний с целью дифференциальной диагностики инфекций, передающихся иксодовыми клещами.

7. В настоящее время в РФ не существует зарегистрированных специфических серологических тест-систем (например, ИФА) для диагностики боррелиоза, вызываемого *B.*

miyamotoi. Необходимо создание и внедрение в рутинную практику здравоохранения подобных методик.

8. Фундаментальную роль в профилактике трансмиссивных клещевых инфекций вирусной и бактериальной природы играет специфическая профилактика – вакцинопрофилактика. Учитывая практически повсеместное распространение природных очагов боррелиозов на территории РФ необходима разработка вакцины против этой гетерогенной группы заболеваний. Учитывая доминирование сибирского подтипа вируса КЭ на территории нашей страны следует проработать вопрос о создании современных вакцин на основе данного подтипа.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД – артериальное давление

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспаргатаминотрансфераза

БЛ – болезнь Лайма

БЛ-ЭФ – болезнь Лайма в эритемной форме

БЛ-БЭФ – болезнь Лайма в безэритемной форме

БМ – боррелиоз, вызываемый *Borrelia miyamotoi*

ВЗН – вирус Западного Нила

ВКО – внутренний контрольный образец

ВЛПЧ – вирусная лихорадка, передаваемая членистоногими

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВРП – валовый региональный продукт

ГАЕ – гемагглютинирующая единица

ГАУЗ – Государственное автономное учреждение здравоохранения

ГАЧ – гранулоцитарный анаплазмоз человека

ГКПМ – государственная коллекция патогенных микроорганизмов

ГЭ – геном эквивалент

ГЭЧ – гранулоцитарный эрлихиоз человека

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДФО – Дальневосточный федеральный округ

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИД – интерквартильный диапазон

ИИ – индекс инвазивности

ИКБ – иксодовый клещевой боррелиоз

ИКБ-БЭФ – иксодовый клещевой боррелиоз в безэритемной форме

ИКБ-ЭФ – иксодовый клещевой боррелиоз в эритемной форме

ИН – индекс нейтрализации

ИПВЭ – Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов

ИФА – иммуноферментный анализ

КБ – клещевой боррелиоз

КВЛ – клещевая возвратная лихорадка

кДНК – комплементарная ДНК
КИД₅₀ – культуральная 50% инфицирующая доза
КП – коэффициент позитивности
КВЭ – клещевой вирусный энцефалит
КР – клещевой риккетсиоз
КТ – компьютерная томография
КЭ – клещевой энцефалит
ЛД₅₀ – 50% летальная доза
ЛЗН – лихорадка Западного Нила
ЛПС – липополисахарид
МИД₅₀ – минимальная 50% иммунизирующая доза
МИК – минимальная ингибирующая концентрация
МИКк – определение МИК колориметрическим методом
МИКм – определение МИК методом микроскопии
МКБ – международная классификация болезней
м.м.о – мягкая мозговая оболочка
ММУ – Московский медицинский университет
МРТ – магнитно-резонансная томография
МУЗ ГКБ – Муниципальное учреждение здравоохранения Городская клиническая больница
МФА – метод флуоресцирующих антител
МЭ – мигрирующая эритема
МЭЧ – моноцитарный эрлихиоз человека
НИИ – научно-исследовательский институт
НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты
ОАК – общий анализ крови
ОАМ – общий анализ мочи
ОКБ – областная клиническая больница
ОКИ – острая кишечная инфекция
ОКЭ – острый клещевой энцефалит
ОНП – олигонуклеотидный полиморфизм
ОП – оптическая плотность
ООО МО – Общество с ограниченной ответственностью Медицинское объединение
ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция
ОТ-ПЦР – метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией
ПФО – Приволжский федеральный округ

ПЦР – полимеразная цепная реакция
ПЦР-PPV – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
РАМН – Российская академия медицинских наук
РАН – Российская академия медицинских наук
РН – реакция нейтрализации
РНИФ – реакция непрямой иммунофлуоресценции
РНК – рибонуклеиновая кислота
рРНК – рибосомальная РНК
РТГА – реакция торможения гемагглютинации
РФ – Российская Федерация
СГТ – средняя геометрическая титра
СЗФО – Северо-западный федеральный округ
СКФО – Северо-Кавказский федеральный округ
СМЖ – спинномозговая жидкость
СМУ – среднемноголетний уровень заболеваемости
СОП – стандартный образец предприятия
СОЭ – скорость оседания эритроцитов
СП – санитарные правила
СПЖ – средняя продолжительность жизни
СПЭВ – культура клеток почки эмбриона свиньи
СФО – Сибирский федеральный округ
ТЦД – тканевая цитопатогенная доза
УФО – Уральский федеральный округ
ФБУЗ – Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения
ФБУН – Федеральное бюджетное учреждение науки
ФГАНУ – Федеральное государственное автономное научное учреждение
ФГБОУ ВО – Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования
ФГБОУ ДПО РМАНПО – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования
ФНЦИРИП – Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов
ФО – федеральный округ
ХААД – хронический атрофический акродермит
ХКЭ – хронический клещевой энцефалит

ЦНИИЭ – Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии

ЦНС – центральная нервная система

ЦПД – цитопатогенное действие

ЦРБ – центральная районная больница

ЦФО – Центральный федеральный округ

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

ЭКГ – электрокардиография

ЭМГ – электромиография

ЭНМГ – электронейромиография

ЭПР – эндоплазматический ретикулум

ЭЭГ – электроэнцефалография

ЮФО – Южный федеральный округ

BSK – Barbour-Stoenner-Kelly

CDC – Centre for Disease Prevention and Control

CEVAG – Central European Vaccination Awareness Group

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

COVID-19 – coronavirus disease 2019

DALY – disability-adjusted life year

ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control

ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay

IgG – иммуноглобулины класса G

IgM – иммуноглобулины класса M

SNP – single nucleotide polymorphism

TBE – tick-borne encephalitis

TBEV – tick-borne encephalitis virus

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аитов, К. А. Природно-очаговые трансмиссивные клещевые инфекции Прибайкалья: автореферат дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.30 / Аитов Курбандурды. – Иркутск, 2005. – 52 с.
2. Активирующий эффект циклофосфана на поздних этапах персистенции вируса клещевого энцефалита / Фролова Т. В., Погодина В. В., Ларина Г. И. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 1982. – № 5. – С. 66-73.
3. Амосов, М. Л. Клинические проявления клещевого энцефалита при его сочетания с Лайм-боррелиозом в остром периоде / М. Л. Амосов, О. М. Лесняк, М. В. Надеждина [и др.]. // Актуальные проблемы природноочаговых инфекций: материалы Респ. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию инфекц. службы Удмуртии / [Редкол. Рябов В.И. (отв. ред.) и др.]. – Ижевск: Экспертиза, 1998. – С. 214-215.
4. Анализ генетической вариабельности штаммов вируса клещевого энцефалита по первичной структуре фрагмента гена белка оболочки Е / Злобин В. И., Демина Т. В., Мамаев Л. В. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2001. – Т. 46. – № 1. – С. 12-16.
5. Анализ инфекций, переносимых клещами, в Республике Алтай / Гришечкин А. Е., Морозова О. В., Щучинова Л. Д. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 2 (57). – С. 12-16.
6. Анализ многолетнего опыта изучения инактивированных культуральных вакцин для профилактики КЭ отечественного и зарубежного производства по показателю качества – специфической активности (иммуногенности) / Воробьева М. С., Афонина О. С., Бархалева О. А. [и др.]. // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2015. – № 4. – С. 4-10.
7. Анализ эффективности вакцинации населения природных очагов Австрии против клещевого энцефалита / Ф. Хайнц, Х. Хольцманн, А. Эссел, М. Кундт // Вопросы вирусологии. – 2008. – № 53 (2). – С. 19-27.
8. Анализ эффективности и безопасности вакцин для профилактики клещевого энцефалита / Т. Козлова, Л. Хантиминова, А. Рукавишников, В. Шевцов // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2018. – Т. 18. – № 1. – С. 33-41.
9. Ананьева, Л. П. Боррелиоз Лайма и его ревматические проявления: автореферат дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.39 / Ананьева Лидия Петровна. – Москва, 1999. – 54 с.
10. 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.
11. Ассоциация полиморфизма генов 2'-5'-олигоденилатсинтетаз с уровнем гуморального иммунного ответа после вакцинации против клещевого энцефалита / Юдин Н. С., Игошин А. В., Лутова С. Л. [и др.]. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22. – № 4. – С. 445-451.
 12. Атлас вирусной цитопатологии / [Быковский А.Ф. и др.]; Под ред. В. М. Жданов. – Москва: Медицина, 1975. – 260 с.
 13. Афанасьева, М. В. Клинико-эпидемиологическая характеристика гранулоцитарного анаплазмоза человека в России (на примере Пермского края): автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.10 / Афанасьева Марина Валерьевна. – Москва, 2006. – 20 с.
 14. Базарный, В. В. Особенности серологической диагностики микст-инфекции клещевого энцефалита и безэритемной формы Лайм-боррелиоза / В. В. Базарный, М. Ю. Корицова, М. В. Анкундинова // Вестник УрГМА. – 2010. – № 21. – С. 174-175.
 15. Бактерицидное действие сыворотки крови человека на *Borrelia miyamotoi*, возбудителя иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ-БМ) / Платонов А. Е., Koetsveld J., Стуколова О. А. [и др.]. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 1. – С. 58-67.
 16. Балашов, Ю. С. Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных / Ю. С. Балашов. – С-Петербург: Наука, 2009. – 357 с.
 17. Баранова, Н. С. Особенности клиники и течения поражения нервной системы при Лайм-боррелиозе на Среднем Урале: диссертация ... канд. мед. наук: 14.00.39 / Баранова Наталия Сергеевна. – Екатеринбург, 1997. – 28 с.
 18. Безрукова, Е. Г. Роль сибирского подтипа вируса клещевого энцефалита в этиологии острых и хронических форм заболевания (сопоставление с дальневосточным подтипом): диссертация ... канд. мед. наук: 03.00.06 / Безрукова Екатерина Геннадьевна. – Москва, 2009. – 225 с.
 19. Беликова, Н. П. Иксодовые клещи / Н. П. Беликова // Природноочаговые болезни в Приморском крае. – 1975. – С. 162-180.
 20. Беляков, В. Д. Эпидемиологический надзор – основа современной организации противоэпидемической работы / В. Д. Беляков // Журнал микробиологии. – 1985. – № 5. – С. 53-58.
 21. Боржек, Б. П. Об отношении мигрирующей кольцевидной эритемы к клещевому энцефалиту / Б. П. Боржек // Труды Томского НИИ вакцин и сывороток. – 1965. – Т. 16. – С. 41-45.

22. Борисов, В. А. К вопросу о клинико-лабораторных особенностях клещевого энцефалита в Природно-очаговой зоне Приангарья / В. А. Борисов, К. А. Аитов, Н. Ф. Муляр // Журнал инфекционной патологии. – 1996. – Т. 3. – № 2. – С. 21-23.
23. Борисов, В. А. Клинико-эпидемиологические и некоторые патогенетические аспекты клещевого энцефалита в Приангарье: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.10 / Борисов Виктор Александрович. – Москва, 1997. – 24 с.
24. Борисов, В. А. Клещевой энцефалит / В. А. Борисов, И. В. Малов, Н. Д. Ющук. – Новосибирск: Наука, 2002. – 183 с.
25. Борисов, В. А. Клинические особенности и патоморфоз клещевого энцефалита в Иркутской области / К. А. Аитов, В. И. Злобин, И. В. Малов // Эпидемиологическая обстановка и стратегия борьбы с клещевым энцефалитом на современном этапе: материалы расш. пленума пробл. комиссии «Клещевой и другие вирусные энцефалиты». – Москва: РАМН, 2003. – С. 41-42.
26. Борисов, В. А. Клещевой энцефалит в Иркутской области: диссертация ... докт. мед. наук: 14.00.30, 14.00.10 / Борисов Виктор Александрович. – Иркутск, 2003. – 272 с.
27. Боррелии как вероятные антагонисты вируса клещевого энцефалита: паразитологический и клинический аспекты проблемы / Алексеев А. Н., Дубинина Е. В., Вашукова М. А. [и др.]. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2001. – № 3. – С. 3-11.
28. Боррелиозные возвратные лихорадки / Гордынина Е. В., Бородина Ж. И. Каменщикова Т. М. [и др.]. // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2014. – № 4. – С. 27-33.
29. Брико, Н. И. Эпидемиологический надзор – инструмент выявления новых нозологических форм болезней / Н. И. Брико // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. – № 1. – С. 4-7.
30. Бугрышева, Ю. В. Структура и функции гетерокомплекса гликопротеинов E и NS1 вируса клещевого энцефалита / Ю. В. Бугрышева, В. А. Матвеева // Вирусные, риккетсиозные и бактериальные инфекции, переносимые клещами: материалы межд. науч.-практ. конф. – Иркутск: 1996. – С. 51-52.
31. Вакцинные препараты на основе штаммов Софьин и Найдорфл индуцируют нейтрализующие антитела против всех подтипов вируса клещевого энцефалита / Майкова Г. Б., Чернохаева Л. Л., Ворович М. Ф. [и др.]. // Медицинская вирусология. – 2015. – Т. 29. – № 2. – С. 121.
32. Вакцинопрофилактика клещевого энцефалита в Челябинской области: масштабы вакцинации, популяционный иммунитет, анализ случаев заболеваемости привитых /

- Лучинина С. В., Семёнов А. И., Степанова О. Н. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2016. – № 15 (86). – С. 67-76.
33. Вакциноterapia хронического клещевого энцефалита / Погодина В. В., Щербинина М. С., Бочкова Н. Г. [и др.]. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2014. – № 19 (4). – С. 30-37.
34. Ванеева, Г. Г. Опыт диспансерного наблюдения больных, перенесших клещевой энцефалит в Пермской области: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.13 / Ванеева Галина Георгиевна. – Пермь, 1971. – 16 с.
35. Васильева, И. С. Клещи, вредящие здоровью человека / И. С. Васильева, Л. А. Ганушкина. – Ростов-на-Дону: Изд-во Феникс, 2017. – 157 с.
36. Верета, Л. А. Принципы прогнозирования заболеваемости клещевым энцефалитом: монография / Л. А. Верета. – Москва: Медицина, 1975. – 133 с.
37. Верховина, М. М. Молекулярная эпидемиология и экология вируса клещевого энцефалита в Восточной Сибири: диссертация ... докт. биол. наук: 03.03.02 / Верховина Марина Михайловна. – Иркутск, 2014. – 369 с.
38. Взаимодействие нейтрофилов человека с *Borrelia miyamotoi*, возбудителем иксодового клещевого боррелиоза / Платонов А. Е., Koetsveld J., Колясникова Н. М. [и др.]. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – № 2. – С. 30-38.
39. Визен, Э. М. Об атипичных формах клещевого энцефалита / Э. М. Визен // Журнал невропатологии и психиатрии. – 1963. – № 10. – С. 1462-1466.
40. Волков, В. И. Медико-экологический атлас Хабаровского края и Еврейской автономной области / В. И. Волков, В. А. Янович, П. С. Посохов. – Хабаровск: 2005. – 110 с.
41. Волкова, Л. И. Клинико-эпидемиологические особенности микст-инфекций, передающиеся иксодовыми клещами в Свердловской области / Л. И. Волкова, М. В. Анкутдинова, И. Л. Русаков, О. Г. Охулкова // Клещевые боррелиозы: материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Ижевск: 2002. – С. 89-91.
42. Волкова, Л. И. Клещевой энцефалит на Среднем Урале: клинико-эпидемиологический анализ острых и хронических форм, пути оптимизации оказания специализированной медицинской помощи в эндемичном очаге: автореферат. дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.13 / Волкова Лариса Ивановна. – Екатеринбург, 2009. – 46 с.
43. Воробьева, Н. Н. Клинико-патогенетические аспекты и антибиотикопрофилактика иксодовых клещевых боррелиозов: автореферат дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.13 / Воробьева Наталья Николаевна. – Москва, 1996. – 28 с.
44. Воробьева, Н. Н. Клиника, лечение и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов / Н. Н. Воробьева. – Пермь: Урал-Пресс, 1998. – 132 с.

45. Воробьева, Н. Н. Эрлихиоз в России / Н. Н. Воробьева, Е. В. Григорян, Э. И. Коренберг // Проблемы клещевых и паразитарных заболеваний: материалы круглого стола в рамках VI Российско-итал. науч. конф. «Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика». – Санкт-Петербург: 2000. – С. 21-25.
46. Воронкова, Г. М. Состояние проблемы клещевых инфекций в Хабаровском крае / Г. М. Воронкова, Т. А. Захарычева // Бюллетень СО РАМН. – 2007. – № 4 (126). – С. 82-88.
47. Ворошилова, М. К. Методы лабораторной диагностики энтеровирусных инфекций / М. К. Ворошилова, В. И. Жевандрова, М. С. Балаян. – Москва: Букинист, 1964. – 152 с.
48. Вотяков, В. И. Клещевые энцефалиты Евразии (вопросы экологии, молекулярной эпидемиологии, нозологии, эволюции) / В. И. Вотяков, В. И. Злобин, Н. П. Мишаева. – Новосибирск: Наука, 2002. – 438 с.
49. Встречаемость генетических типов и подтипов вируса клещевого энцефалита на территории новосибирского научного центра / С. Ткачев, В. Боргояков, Н. Ливанова, В. Панов / Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 111. – № 4. – С. 41-44.
50. Выявление и первые результаты изучения болезни Лайма на северо-западе СССР / Коренберг Э. И., Ковалевский Ю. В., Кузнецова Р. И. [и др.]. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1988. – № 1. – С. 45-48.
51. Выявление различных видов риккетсий у иксодовых клещей, в крови людей и мелких млекопитающих на юге Западной Сибири и на Урале / Иголкина Я. П., Фоменко Н. В., Ливанова Н. Н. [и др.]. // Бюллетень Сибирской Медицины. – 2006. – Т. 5. – С. 121-125.
52. Галюков, И. А. Антропогенные факты заболеваемости населения клещевым энцефалитом и иксодовым клещевым боррелиозом на Южном Урале и Зауралье, организация профилактики, восстановительного лечения и диспансеризации больных: автореферат дис. ... д-ра. мед. наук: 14.02.03 / Галюков Игорь Анатольевич. – Екатеринбург, 2010. – 47 с.
53. Генетическая характеристика возбудителя клещевого энцефалита в Монголии / Хаснатинов М. А., Данчинова Г. А., Кулакова Н. В. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2010. – Т. 55. – № 3. – С. 27-32.
54. Генетические различия восточноевропейской и азиатской популяций вируса клещевого энцефалита сибирского подтипа / Карань Л. С., Погодина В. В., Фролова Т. В. [и др.] // Бюллетень сибирской медицинской академии. – 2006. – Т. 5. – С. 24-27.
55. Генетическое разнообразие популяции вируса клещевого энцефалита на территории национального парка «Алханай» (Забайкальский край) / Сидорова Е. А., Карань Л. С., Борисова Т. И. [и др.]. // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 111. – № 4. – С. 75-78.

56. Генетическое разнообразие эрлихий и анаплазм на территории азиатской части России / Рар В. А., Ливанова Н. Н., Пуховская Н. М. [и др.]. // Инфекции, передаваемые клещами в Сибирском регионе. – Новосибирск: СО РАН, 2011. – С. 309-320.
57. Генотипы 4 и 5 вируса клещевого энцефалита: особенности структуры геномов и возможный сценарий их формирования / Демина Т. В., Джигоев Ю. П., Козлова И. В. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2012. – Т. 57. – № 4. – С. 13-19.
58. Герасимов, С. Г. Эволюция клещевого энцефалита в Центральном федеральном округе России. Моделирование смены подтипов возбудителя в эксперименте: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 03.02.02 / Герасимов Сергей Геннадьевич – Москва, 2012. – 26 с.
59. Гистопатология центральной нервной системы. Атлас микрофотографий / [Ермохин П. Н.]; Под ред. А. П. Авцына – Москва: Медицина, 1969. – 243 с.
60. Гордеец, А. В. Клинико-иммунологические аспекты клещевого энцефалита, иксодового клещевого боррелиоза / А. В. Гордеец, А. А. Черникова // Детские инфекции. – 2009. – № 4. – С. 15-18.
61. Государственный доклад: О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – Москва: 2019. – 254 с.
62. Давиденков, С. Н. Клинические особенности атипичной формы клещевого энцефалита / С. Н. Давиденков // Клиническая медицина. – 1952. – Т. 30. – № 2. – С. 19-24.
63. Дальнейшие наблюдения в природных очагах клещевого риккетсиоза на территории Алтайского края / Оберт А. С., Рудаков Н. В., Рудакова С. А. [и др.]. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2007. – № 4. – С. 34-37.
64. Доклад Минздрава России о реализации Программы государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи в 2011 г.: сайт. – 2011. – URL:<http://www.rosminzdrav.ru/docs/mzsr/finance/30> (дата обращения: 14.04.2013).
65. Деконенко, Е. П. Инфекционные заболевания, передающиеся клещами / Е. П. Деконенко // Медицинская вирусология. – 2009. – Т. XXVI. – С. 262-276.
66. Долговых, С. В. Природно-очаговые инфекционные заболевания на территории Республики Алтай: методические рекомендации для студентов, проходящих полевые практики / Сост. Долговых С. В., Денисов А. В. – Горно- Алтайск: РИО ГАГУ, 2010. – 63 с.
67. Демина, Т. В. Характеристика генетической variability штаммов вируса клещевого энцефалита на основе анализа гомологии участка вирусного генома: диссертация ... канд. биол. наук: 03.00.06 / Демина Татьяна Васильевна. – Иркутск, 1999. – 157 с.

68. Дружинина, Т. А. Эколого-эпидемиологическая характеристика и профилактика трансмиссивных клещевых инфекций (по материалам Ярославской области): диссертация ... докт. мед. наук: 14.00.30 / Дружинина Татьяна Александровна. – Москва, 2005. – 219 с.
69. Дружинина, Т. А. Клещевой энцефалит в Ярославской области в условиях плановой вакцинопрофилактики / Т. А. Дружинина, Н. Ю. Ширина // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19. – № 3. – С. 46-51.
70. Ермак, Т. Н. Инфекционные болезни: национальное руководство / Т. Н. Ермак. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 576 с.
71. Ерман, Б. А. Ультраструктурная патология лимфатических узлов при клещевом энцефалите / Б. А. Ерман, Л. Г. Тулакина, В. П. Устинцев // Архив патологии. – 1996. – Т. 58. – № 2. – С. 37-41.
72. Есюнина, М. С. Современные тенденции заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в условиях различных тактик иммунизации и усовершенствование эпидемиологического надзора и контроля: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.02.02 / Есюнина Мария Сергеевна. – Екатеринбург, 2015. – 28 с.
73. Жукова, Н. Г. Клещевой энцефалит в Томской области (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика, лечение) / Н. Г. Жукова, Н. И. Команденко, Л. Е. Подоплекина. – Томск: СТТ, 2002. – 255 с.
74. Захарычева, Т. А. Клиническая характеристика эффективности специфической терапии при клещевом энцефалите в Хабаровском крае: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.13 / Захарычева Татьяна Адольфовна. – Пермь, 1993. – 18 с.
75. Захарычева, Т. А. Клещевой энцефалит в Хабаровском крае: вчера, сегодня, завтра / Т. А. Захарычева. – Хабаровск: ХНИИЭМ Библиотека инфекционной патологии. – 2014. – 248 с.
76. Злобин, В. И. Клещевой энцефалит: Этиология. Эпидемиология и профилактика в Сибири / В. И. Злобин, О. З. Горин. – Новосибирск: Наука, 1996. – 177 с.
77. Злобин, В. И. Клещевой энцефалит в Российской Федерации: этиология, эпидемиология, профилактика / В. И. Злобин, И. В. Малов // Журнал инфектологии. – 2015. – Т. 7. – № S3. – С. 37-38.
78. Злобин, В. И. Клещевой энцефалит в XXI веке / В. И. Злобин. – Москва: Наука, 2021. – 471 с.
79. Иерусалимский, А. П. Клещевой энцефалит: руководство для врачей / А. П. Иерусалимский. – Новосибирск: Новосиб. гос. мед. акад. – 2001. – 359 с.

80. Изменение клещевого энцефалита и эволюция популяций возбудителя за 70-летний период / Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова Н. М. [и др.]. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2007. – № 11. – С. 104-105.
81. Изучение гетерогенности гена 16S рРНК и GROESL-оперона в образцах ДНК *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia muris* и «*Candidatus neohrlichia mikurensis*», выявленных в таежных клещах на территории Урала, Сибири и Дальнего Востока / Рап В. А., Епихина Т. И., Ливанова Н. Н. [и др.]. // Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. – 2011. – № 2. – С. 17-23.
82. Изучение протективных свойств вакцин против вирулентных штаммов вируса клещевого энцефалита трех генотипов: европейского, дальневосточного и сибирского (экспериментальное исследование) / Афонина О. С., Бархалев О. А., Саркисян К. А. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – № 1. – С. 62-67.
83. Иксодовые клещевые боррелиозы у детей и взрослых: методические рекомендации для врачей / [Ю. В. Лобзин и др.]; Под ред. Ю. В. Лобзина. – Санкт-Петербург: 2010. – 64 с.
84. Иммунологические и некоторые этиологические аспекты изучения серотипа Айна/1448 вируса клещевого энцефалита / Погодина В. В., Бочкова Н. Г., Левина Л. С. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 1981. – № 6. – С. 735-741.
85. Иммунопатологические аспекты развития поражений нервной системы при клещевых инфекциях у детей / Попонникова Т. В., Бедарева Т. Ю., Вахрамеева Т. Н. [и др.]. // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6. – № 4. – С. 54-58.
86. Иммуноферментный анализ и полимеразная цветная реакция в лабораторной диагностике гранулоцитарного анаплазмоза человека / Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. [и др.]. // Журнал инфектологии. – 2012. – Т. 4. – № 2. – С. 33-39.
87. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Пермском крае (этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика) / Коренберг Э. И., Воробьева Н. Н., Сумливая О. Н. [и др.]. – Пермь: 2007. – 67 с.
88. Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика / Кощевец Е. С., Лепехин А. В., Серебров В. Ю. [и др.]. – Санкт-Петербург: 2000. – 124 с.
89. Исследование зараженности боррелиями таежных клещей на территории Новосибирского научного центра СО РАН / В. Боргояков, Н. Фоменко, В. Панов, Е. Чикова. // Паразитология. – 2010. – Т. 44. – № 6. – С. 543-555.
90. Исследование иммуногенного и защитного эффектов инактивированных вакцин против клещевого энцефалита (КЭ) по отношению к современным штаммам вируса КЭ / Морозова О. В., Бахвалова В. Н., Потапова О. Ф. [и др.]. // Национальные приоритеты России (Омск). – 2011. – № 2 (5). – С. 61-63.

91. История открытия и изучения клещевого энцефалита в России: три дальневосточные экспедиции (1937-1939 гг.) / Н. Колясникова, В. Злобин, А. Ишмухаметов, В. Малеев // Терапевтический архив. – 2021. – Т. 93. – № 11. – С. 1407-1412.
92. История создания и оценка качества современных вакцин клещевого энцефалита отечественного и зарубежного производства / Воробьева М. С., Меркулов В. А., Ладыженская И. П. [и др.]. // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2013. – № 3. – С. 40-44.
93. Карань, Л. С. Применение молекулярно-генетических методик для изучения структуры штаммов вируса клещевого энцефалита / Л. С. Карань, Г. В. Маленко, Н. Г. Бочкова // Бюллетень СО РАМН. – 2007. – № 4 (126). – С. 34-39.
94. Карань, Л. С. Развитие методов детекции и генотипирования вируса клещевого энцефалита на основе амплификационных технологий / Л. С. Карань, С. И. Браславская, А. Е. Мязин // Вопросы вирусологии. – 2007. – Т. 52. – № 6. – С. 17-22.
95. Карань, Л. С. Применение молекулярных методов в изучении распространенности возбудителей клещевых инфекций в сочетанных очагах / Л. С. Карань, Т. А. Шопенская, Н. М. Колясникова // Инфекционные болезни: материалы I Ежег. Всерос. Конгр. по инфек. бол. – Москва: 2009. – С. 87-88.
96. Карань, Л. С. Сибирский подтип вируса клещевого энцефалита, доминирующий на территории России. Генетические кластеры / Л. С. Карань, В. В. Погодина, Н. М. Колясникова // Медицинская вирусология. – 2013. – Т. XXVII. – № 1. – С. 87.
97. Кармышева, В. Я. Применение метода флуоресцирующих антител в вирусологии. Атлас / В. Я. Кармышева. – Москва: Медицина, 1978. – 118 с.
98. Кармышева, В. Я. Диагностическое и клиническое значение реакции иммунного цитолиза вирус-инфицированных клеток / В. Я. Кармышева // Советская медицина. – 1979. – Т. 42. – № 7. – С. 97-100.
99. Кармышева, В. Я. Поражение клеток при вирусных инфекциях / В. Я. Кармышева. – Москва: Медицина, 1981. – 192 с.
100. Кветкова, Э. А. Морфогенез и патоморфоз клещевого энцефалита / Э. А. Кветкова, В. П. Конев // Вирусные, риккетсиозные и бактериальные инфекции, переносимые клещами: материалы межд. науч.-практ. конф. – Иркутск: 1996. – С. 103-104.
101. Кветкова, Э. А. Иммунопатогенез инфекционного и вакцинального процесса при клещевом энцефалите / Э. А. Кветкова, В. П. Конев // Вирусные, риккетсиозные и бактериальные инфекции, переносимые клещами: материалы межд. науч.-практ. конф. – Иркутск: 1996. – С. 146-147.

102. К патогенезу клещевого боррелиоза у детей / Васильева Ю. П., Скрипченко Н. В., Железникова Г. Ф. [и др.]. // Детские инфекции. – 2003. – № 3. – С. 26-30.
103. Клещевые микст-инфекции (иксодовый клещевой боррелиоз и гранулоцитарный эрлихиоз человека) в Ярославской области / Алешковская Е. С., Благов Н. А., Дружинина Т. А. [и др.]. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – № 2. – С. 6-8.
104. Клещевой энцефалит в Восточной Сибири: этиология, молекулярная эпидемиология, особенности клинического течения / Аитов К. А., Бурданова Т. М., Верхозина М. М. [и др.]. // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2018. – № 7. – С. 31-40.
105. Клещевой энцефалит в Забайкальском крае и молекулярно-биологическая характеристика возбудителя / Андаев Е. И., Сидорова Е. А., Борисова Т. И. [и др.]. // Национальные приоритеты России. – 2011. – № 2 (5). – С. 148-149.
106. Клещевой энцефалит в Читинской области и этиология очаговых форм с летальным исходом / Андаев Е. И., Трухина А. Г., Карань Л. С. [и др.]. // Бюллетень СО РАМН. – 2007. – № 4. – С. 60-65.
107. Клещевой энцефалит с молниеносным течением и летальным исходом у многократно вакцинированного пациента / Погодина В. В., Левина Л. С., Скрынник С. М. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2013. – Т. 58. – № 2. – С. 33-37.
108. Клинико-лабораторная характеристика гранулоцитарного эрлихиоза человека на юге Дальнего Востока России / Сидельников Ю. Н., Медяников О. Ю., Иванов Л. И. [и др.]. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2002. – № 3. – С. 28-31.
109. Клинико-патогенетические особенности острого периода микст-инфекции клещевого энцефалита и иксодового боррелиоза у детей / Бедарева Т. Ю., Попонникова Т. В., Галиева Т. Ю. [и др.]. // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – № 3. – С. 36-41.
110. Клинико-эпидемиологические аспекты клещевых инфекций на территории Томской области / Жукова Н. Г., Полторацкая Т. М., Лукашова Л. В. [и др.]. // Медицина в Кузбассе. – 2008. – № 5. – С. 59-64.
111. Клинические и этиологические аспекты клещевых микст-инфекций у детей / Пиневиц О. С., Попонникова Т. В., Вахрамеева Т. Н. [и др.]. // Мать и дитя в Кузбассе. – 2008. – № 3 (34). – С. 30-35.
112. Клинические особенности «нового клещевого боррелиоза, вызываемого *Borrelia miyamotoi* / Сарксян Д. С., Платонов А. Е., Карань Л. С. [и др.]. // Терапевтический архив. – 2012. – Т. 84. – № 11. – С. 34-41.
113. Клинические проявления иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi*, в контексте иммунного ответа на возбудителя / Платонов А. Е., Топоркова М.

- Г., Колясникова Н. М. [и др.]. // Терапевтический архив. – 2017. – Т. 89. – № 11. – С. 35-43.
114. Клинические проявления Лайм-боррелиоза на Среднем Урале и их ассоциация с геновидами *Borrelia burgdorferi* / Лесняк О. М., Истомина О. Ю., Рипкема Ш. [и др.]. // Терапевтический архив. – 1995. – № 5. – С. 12-15.
115. Клинические рекомендации «Болезнь Лайма у взрослых»: сайт. – 2014. <http://nnoi.ru/uploads/files/protokoly/Laima.pdf> (дата обращения: 01.02.2022).
116. Клинические рекомендации «Клещевой вирусный энцефалит у взрослых»: сайт. – 2014. – URL: http://nnoi.ru/uploads/files/protokoly/Klesch_encephal.pdf (дата обращения: 01.02.2022).
117. Коваленко, В. Н. Клиника клещевого энцефалита и дифференцируемых с ним заболеваний в Кемеровской области: эпидемиологические, клинические, серологические и вирусологические исследования: автореферат дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.10 / Коваленко В. Н. – Москва, 1972. – 54 с.
118. Коза, Н. М. Иммунологический надзор за дифтерией и корью как основа коррекции иммунитета в группах риска / Н. М. Коза, И. В. Фельдблум, Н. И. Маркович, А. А. Паршин // Иммунологические реакции в диагностике, профилактике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными болезнями: сб. научных трудов ПГМИ. – Пермь: 1991. – С. 66-71.
119. Козлов, С. С. Лайм-боррелиоз в Северо-Западном регионе России: автореферат дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.10, 03.00.19 / Козлов Сергей Сергеевич. – Санкт-Петербург, 1999. – 54 с.
120. Колясникова, Н. М. Мониторинг структуры популяций вируса клещевого энцефалита в Уральском, Западносибирском и Северо-западном регионах России (вирусологические и молекулярно-биологические исследования): автореферат дис. ... канд. мед. наук: 03.00.06 / Колясникова Надежда Михайловна. – Москва, 2008. – 27 с.
121. Колясникова, Н. М. Молекулярно-генетические исследования распространенности возбудителей клещевых инфекций среди иксодовых клещей, собранных на различных территориях Российской Федерации / Н. М. Колясникова, М. В. Федорова, С. Г. Герасимов [и др.]. // Молекулярная диагностика – 2010: материалы VII Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием. – Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – Т. II. – С. 232-234.
122. Колясникова, Н. М. Выбор антибиотиков для терапии бактериальных инфекций при остром течении клещевого энцефалита / Г. В. Маленко, М. С. Щербинина, А. А. Ишмухаметов, В. В. Погодина // Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020:

- материалы Всерос. науч.-практ. интернет-конф. с международным участием. – Москва: 2021. – С. 34-39.
123. Колясникова, Н. М. Сибирский подтип клещевого энцефалита: летальные исходы / Н. М. Колясникова, Л. С. Карань, В. В. Погодина // Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время). – Тверь: ООО «ТФП», 2021. – С. 229-236.
124. Колясникова, Н. М. Совершенствование лабораторной диагностики трансмиссивных клещевых инфекций на эндемичной территории (по материалам Свердловской области) / Н. М. Колясникова, М. Г. Топоркова, Л. С. Карань [и др.]. // Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены: материалы VIII Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. – Екатеринбург: 2021. – С. 266-269.
125. Комплексная терапия очаговой формы смешанной клещевой энцефалит-боррелиозной инфекции / Этенко Д. А., Громова О. А., Субботин А. В. [и др.]. // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2016. – Т. 8. – № 3. – С. 26-30.
126. Комплексная характеристика оригинальной группы штаммов вируса клещевого энцефалита, изолированных на территории Восточной Сибири / Козлова И. В., Верховина М. М., Демина Т.В. [и др.]. // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 111. – № 4. – С. 80-85.
127. Конькова-Рейдман, А. Б. Клинический полиморфизм иксодовых клещевых боррелиозов (микст-инфекция с клещевым энцефалитом) на территории Южно-Уральского региона России / А. Б. Конькова-Рейдман, В. И. Злобин // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 100. – № 1. – С. 17-20.
128. Конькова-Рейдман, А. Б. Моно- и микст-инфекции иксодовых клещевых боррелиозов и клещевого энцефалита: клиника, эпидемиология, иммуноопосредованные аспекты патогенеза: диссертация ... докт. мед. наук: 14.01.09, 14.02.02 / Конькова-Рейдман Алена Борисовна. – Челябинск, 2012. – 324 с.
129. Коренберг, Э. И. Материалы по распространению болезни Лайма в СССР / Э. И. Коренберг, С. В. Щербаков, В. Н. Крючечников // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1987. – № 2. – С. 71-73.
130. Коренберг, Э. И. Первые итоги и задачи изучения болезни Лайма в СССР / Э. И. Коренберг, В. Н. Крючечников, Ю. В. Ковалевский // Вестник Академии медицинских наук СССР. – 1990. – № 6. – С. 52-57.
131. Коренберг, Э. И. Проблема болезни Лайма в России / Э. И. Коренберг // Проблемы клещевых боррелиозов. – М.: Медицина, 1993. – С. 13-21.

132. Коренберг, Э. И. Болезнь Лайма / Э. И. Коренберг // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1993. – № 1. – С. 48-51.
133. Коренберг, Э. И. Болезнь Лайма / Э. И. Коренберг // Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. – М: Медицина, 1993. – Т. 2. – С. 387-391.
134. Коренберг, Э. И. Таксономия, филогенетические связи и области формирования спирохет рода *Borrelia*, передающихся иксодовыми клещами / Э. И. Коренберг // Успехи современной биологии. – 1996. – № 116. – С. 389-406.
135. Коренберг, Э. И. Инфекции группы Лайм боррелиоза – иксодовые клещевые боррелиозы в России / Э. И. Коренберг // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1996. – № 3. – С. 14-18.
136. Коренберг, Э. И. Эрлихиозы – новая для России проблема инфекционной патологии / Э. И. Коренберг // Медицинская паразитология. – 1999. – № 4. – С. 10-16.
137. Коренберг, Э. И. Изучение и профилактика микст-инфекций, передающихся иксодовыми клещами / Э. И. Коренберг // Паразитология. – 1999. – Т. 33. – № 4. – С. 273-289.
138. Коренберг, Э. И. Изучение и профилактика микст-инфекций, передающихся иксодовыми клещами / Э. И. Коренберг // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2001. – № 11. – С. 41-45.
139. Коренберг, Э. И. Боррелиозы (инфекции группы Лайм-боррелиоза) / Э. И. Коренберг // Частная эпидемиология. – 2002. – Т. 2. – С. 20-24.
140. Коренберг, Э. И. Иксодовые клещевые боррелиозы: основные итоги изучения и профилактики в России / Э. И. Коренберг // Клещевые боррелиозы: материалы науч.-практ. конф. – Ижевск: 2002. – С. 165-172.
141. Коренберг, Э. И. Эрлихиозы: состояние проблемы, первые итоги и перспективы изучения в России / Э. И. Коренберг // Материалы VIII съезда Всерос. общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – Москва: 2002. – С. 341-342.
142. Коренберг, Э. И. Иксодовые клещевые боррелиозы / Э. И. Коренберг, В.И. Покровский, Г. Г. Онищенко [и др.]. // Эволюция инфекционных болезней в России в XX веке. – Москва: Медицина, 2003. – С. 379-386.
143. Коренберг, Э. И. Природная очаговость инфекций: современные проблемы и перспективы исследования / Э. И. Коренберг // Зоологический журнал. – 2010. – Т. 89. – № 1. – С. 5-17.
144. Коренберг, Э. И. Природноочаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами / Э. И. Коренберг, В. Г. Помелова, Н. С. Осин. – Москва: Наука, 2013. – 464 с.

145. К проблеме генетического несоответствия вакцинных штаммов и природных вариантов вируса клещевого энцефалита: практические аспекты / Погодина В. В., Герасимов С. Г., Левина Л.С. [и др.]. // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2. № 1-2. – С. 181.
146. Кравчук, Л. Н. Клинико-иммунологические сопоставления при сочетанной инфекции Лайм-боррелиоза и клещевого энцефалита у детей / Л. Н. Кравчук // Проблемы клещевых боррелиозов. – М.: Медицина, 1993. – С. 99-106.
147. Краминская, Н. Н. Своеобразный штамм вируса КЭ, выделенный от больного с прогрессирующим течением заболевания / Н. Н. Краминская, Р. Р. Живоляпина, Р. А. Мейерова // Актуальные проблемы вирусных заболеваний. – 1965. – С. 190-191.
148. Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник / [Е. В. Богословская и др.]; Под ред. В. И. Покровского, М. Г. Твороговой, Г. А. Шипулина. – Москва: Бином, 2013. – 648 с.
149. Левина, Л. С. Персистенция вируса клещевого энцефалита в вакцинированном организме / Л. С. Левина, В. В. Погодина // Вопросы вирусологии. – 1988. – № 4. – С. 485-490.
150. Левина, Л. С. Вирусологическая и молекулярно-генетическая диагностика летальных случаев энцефалита на Урале, в Западной Сибири и Европейской части России / Л. С. Левина, В. В. Погодина, Л. С. Карань [и др.]. // Молекулярная диагностика – 2014: материалы VIII Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием / под общ. ред. В. И. Покровского. – Москва: ООО "Издательство МБА", 2014. – Т. 1. – С. 500-501.
151. Левкович, Е. Н. Вирусологические и иммунологические исследования вспышки энцефалита в Ленинградской области / Е. Н. Левкович // Весенне-летний энцефалит в Ленинградской области (труды врачей Волховского фронта). – Ленинград: Управление полиграфии и издательств Леноблсовета, 1945. – С. 82-93.
152. Леонова, Г. Н. Клещевой энцефалит в Приморском крае / Г. Н. Леонова, Г. П. Сомов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1989. – № 7. – С. 43-48.
153. Леонова, Г. Н. Клещевые микст-инфекции в Приморском крае / Г. Н. Леонова, С. С. Якушева, В. А. Иванис // Клещевые боррелиозы: материалы науч.-практ. конф. – Ижевск: 2002. – С. 179-182.
154. Леонова, Г. Н. О нозологической однородности и эволюции клещевого энцефалита / Г. Н. Леонова // Тихоокеанский международный журнал. – 2010. – № 3. – С. 19-22.
155. Леонова, Г. Н. Динамика эпидемической ситуации по клещевому энцефалиту на Дальнем Востоке / Г. Н. Леонова // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – № 14 (3). – С. 17-22.

156. Леонова, Г. Н. Современный взгляд на дальневосточную популяцию вируса клещевого энцефалита / Г. Н. Леонова, С. И. Беликов, И. Г. Кондратов // Медицинская вирусология. – 2017. – Т. 31. – № 1. – С. 32.
157. Леонова, Г. Н. Значение уровня концентрации специфических антител в элиминации разных штаммов вируса клещевого энцефалита // Г. Н. Леонова, В. А. Лубова, А. В. Калинин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – № 2. – С. 50-55.
158. Лесняк, О. М. Поражение сердца при лаймовской болезни / О. М. Лесняк, А. В. Лирман, В. Ф. Антюфьев // Клиническая медицина. – 1994. – № 1. – С. 45-47.
159. Лесняк, О. М. Клинико-эпидемиологические закономерности Лайм-боррелиоза на Среднем Урале: диссертация ... докт. мед. наук: 14.00.39 / Лесняк Ольга Михайловна. – Москва, 1995. – 269 с.
160. Лесняк, О. М. Дифференциальная диагностика ревматизма и Лайм-боррелиоза / О. М. Лесняк // Клиническая ревматология. – 1995. – № 3. – С. 11-13.
161. Лесняк, О. М. Поражение опорно-двигательного аппарата при Лайм-боррелиозе / О. М. Лесняк // Клиническая медицина. – 1995. – № 3. – С. 28-30.
162. Лесняк, О. М. О классификации Лайм-боррелиоза / О. М. Лесняк, Е. С. Беликов // Терапевтический архив. – 1995. – № 3. – С. 49-51.
163. Лесняк, О. М. Лайм-боррелиоз / О. М. Лесняк. – Екатеринбург: Уральская Гос. Мед. академия, 1999. – 226 с.
164. Летальные исходы клещевого энцефалита, вызванного сибирским подтипом возбудителя в европейской части России и на Урале / Погодина В. В., Левина Л. С., Колясникова Н. М. [и др.]. // Медицинская вирусология. – 2009. – Т. 26. – С. 121-122.
165. Лобзин, Ю. В. Лайм-боррелиоз (иксодовые клещевые боррелиозы) / Ю. В. Лобзин, А. Н. Усков, С. С. Козлов. – Санкт-Петербург: Фолиант, 2000. – 160 с.
166. 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.
167. Лукашова, Л. В. Клинические аспекты ассоциированной инфекции — иксодового клещевого боррелиоза и клещевого энцефалита / Л. В. Лукашова, А. В. Лепехин, Н. П. Чернышова [и др.]. // Инфекционные болезни: диагностика, лечение, профилактика: материалы круглого стола в рамках VI Рос.-итал. науч. конф. – Санкт-Петербург: 2000. – С. 148-149.
168. Любезнова, О. Н. Клинико-эпидемиологические аспекты клещевого энцефалита в эндемичном регионе европейской части России / О. Н. Любезнова, А. Л. Бондаренко // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8. – № 2. – С. 32-39.

169. Магазаник, С. С. О кожно-эритемных реакциях при клещевом энцефалите / С. С. Магазаник, В. В. Погодина // Клиническая медицина. – 1960. – Т. 38. – № 9. – С. 59-64.
170. Магазаник, С. С. К патоморфозу клинической картины клещевого энцефалита на Среднем Урале / С. С. Магазаник // Актуальные проблемы медицинской вирусологии: материалы научн. конф. – Москва: 1985. – С. 231-232.
171. Малеев, В. В. Обзор Европейских рекомендаций по диагностике клещевых бактериальных инфекций / В. В. Малеев // Клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 7. – № 2. – С. 130-153.
172. Маленко, Г. В. Стрептомицин – активатор персистирующего вируса клещевого энцефалита / Г. В. Маленко, В. В. Погодина, В. Я. Кармышева // Вопросы вирусологии. – 1984. – № 2. – С. 217-223.
173. Маленко, Г. В. Поиск антибиотиков, не оказывающих активирующего действия при персистенции вируса клещевого энцефалита / Г. В. Маленко, В. В. Погодина // Вопросы вирусологии. – 1989. – Т. 34. – № 2. – С.197-200.
174. Малов, И. В. Иксодовые клещевые боррелиозы / И. В. Малов // Практическое руководство: [сайт], 2011. – URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/970410004V0053.html> (дата обращения: 01.02.2022).
175. Манзенюк, И. Н. Клещевые боррелиозы (болезнь Лайма). Пособие для врачей / И. Н. Манзенюк, О. Ю. Манзенюк. – Кольцово: 2005. – 85 с.
176. Медуницын, Н. В. Вакцины. Новые способы повышения эффективности и безопасности вакцинации / Н. В. Медуницын, А. Н. Миронов // Вопросы вирусологии. – 2012. – S 1. – С. 43-51.
177. Мейерова, Р. А. Клещевой энцефалит, ассоциированный с другими инфекциями / Р. А. Мейерова // Клиническая медицина. – 1991. – № 5. – С. 71-73.
178. Мерзлова, Н. Б. Природно-очаговые трансмиссивные клещевые инфекции у детей Пермского края (алгоритм дифференциальной диагностики) / Н. Б. Мерзлова, М. Н. Самаров // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2012. – № 2. – С. 23-27.
179. Место заболеваний, передающихся иксодовыми клещами, в инфекционной патологии Пермской области / Фризен В. Т., Афанасьева М. В., Коренберг Э. И. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2004. – № 2 (15). – С. 27-29.
180. Методические указания по клинике, лечению, лабораторной диагностике, эпидемиологии и профилактике (специфической и неспецифической) клещевого энцефалита: сайт. – 1990. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/901893813/> (дата обращения: 01.02.2022).

181. Методические указания по эпидемиологии, диагностике, клинике и профилактике болезни Лайма / [Э. И. Коренберг и др.]; Под ред. Э. И. Коренберга, В. А. Насоновой. – Москва: 1991. – 61 с.
182. Методические указания «Эпидемиология, этиология, клиника, лечение и профилактика клещевого энцефалита» / [Л. И. Волкова и др.]; Под ред. Л. И. Волковой, В. В. Романенко. – Екатеринбург: 2004. – 72 с.
183. Методические указания по организации и проведению противоклещевых мероприятий и биологических наблюдений в природных очагах клещевого энцефалита. – Москва: 1987. – 43 с.
184. Методическое пособие «Эпидемиологический надзор за инфекциями с разным механизмом передачи возбудителя, гельминтозами и иммунопрофилактикой». – Екатеринбург: 2006. – 53 с.
185. Микробиологическое подтверждение этиологии иксодового клещевого боррелиоза в безэритемной форме - инфекции, вызываемой *Borrelia miyamotoi* / Платонов А. Е., Koetsveld J., Колясникова Н. М. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – Т. 16. – № 1. – С. 29-35.
186. Микст-инфекция Лайм-боррелиоза и клещевого энцефалита / Лайковская Е. Э., Лесняк О. М., Волкова Л. И. [и др.]. // Проблемы клещевых боррелиозов. – М.: Медицина, 1993. – С. 93-98.
187. Миноранская, И. С. Дерматологические проявления клещевого боррелиоза в Красноярском крае / И. С. Миноранская, Т. Г. Рукша // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2014. – № 1. – С. 32-36.
188. Миронов, И. Л. Клещевой энцефалит: лабораторная диагностика / И. Л. Миронов // Вестник Челябинской областной клинической больницы. – 2011. – № 3 (14). – С. 41-43.
189. Молекулярная эпидемиология и экология вируса клещевого энцефалита в Восточной Сибири / М. М. Верховина, В. И. Злобин, И. В. Козлова [и др.]. – Новосибирск: АНС «СибАК», 2017. – 298 с.
190. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита / Злобин В. И., Беликов С. И., Джигоев Ю. П. [и др.]; – Иркутск: РИО ВСНЦ СО РАМН, 2003. – 272 с.
191. Молекулярная эпидемиология клещевого энцефалита в европейской части России и некоторых странах Балтии, Восточной и Юго-Восточной Европы / Адельшин Р. В., Злобин В. И., Беликов С. И. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2006. – № 2 (27). – С. 27-34.

192. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика вируса клещевого энцефалита на генотипспецифической ОТ-ПЦР / Ковалев С. Ю., Умпелева Т. В., Снитковская Т. Э. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2008. – Т. 53. – № 2. – С. 27-31.
193. Морозова, О. В. Количественные оценки ДНК боррелий и бартонелл и РНК вируса клещевого энцефалита в клещах *Ixodes persulcatus*, собранных в Челябинской области / О. В. Морозова, А. Е. Гришечкин, А. Б. Конькова-Рейдман // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2011. – № 1. – С. 35-38.
194. Морфогенез дальневосточного клещевого энцефалита / Сомова Л. М., Леонова Г. Н., Фисенко А.Ю. [и др.]. // Архив патологии. – 2010. – № 32 (5). – С. 47-51.
195. Нафеев, А. А. Эпидемические признаки клещевых инфекций в Ульяновской области / А. А. Нафеев, Л. М. Киселева, С. Л. Мерцалова // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2011. – № 3. – С. 81-85.
196. Необычный случай летального клещевого энцефалита у пациента, привитого вакцинами разных генотипов (Челябинская область) / Погодина В. В., Лучинина С.В., Степанова О.Н. [и др.]. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2015. – Т. 20. – № 1. – С.56-64.
197. Нефедова, В. В. Микроорганизмы порядка Rickettsiales у таежного клеща (*Ixodes persulcatus* Sch.) в Предуралье / В. В. Нефедова, Э. И. Коренберг, Ю. В. Ковалевский [и др.]. // Вестник Российской АМН. – 2008. – № 7. – С. 47-50.
198. Никольский, П. В. Демонстрация случаев *atrophia cutis maculate* / П. В. Никольский // Дневник VI съезда общества русских врачей в память Н. И. Пирогова. – Киев: 1896. – С. 89.
199. Новые данные о выявлении эрлихий и анаплазм в иксодовых клещах в России и Казахстане / Шпынов С. Н., Рудаков Н. В., Ястребов В. К. [и др.]. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2004. – № 2. – С. 10-14.
200. Новый генетический маркер предрасположенности человека к тяжелым формам клещевого энцефалита / Бархаш А. В., Козлова И. В., Позднякова Л. Л. [и др.]. // Молекулярная биология. – 2019. – № 3. – С. 388-392.
201. Оберт, А. С. Эрлихиозы и анаплазмозы в очагах сибирского клещевого риккетсиоза Алтайского края / А. С. Оберт, Н. В. Рудаков, Н. Н. Седых // Детские инфекции. – 2009. – № 2. – С. 30-32.
202. 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.

203. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2010-2020 гг. и прогноз на 2021 г. / Рудакова С. А., Пеньевская Н. А., Блох А. И. [и др.]. // Проблемы особоопасных инфекций. – 2021. – № 2. – С. 52-61.
204. Опыт реализации программы массовой иммунизации населения против клещевого энцефалита в Свердловской области / Романенко В. В., Есюнина М. С., Килячина А. С. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2007. – Т. 52. – № 6. – С. 22-25.
205. О распространении вируса клещевого энцефалита европейского субтипа в Западной Сибири и на Алтае / Якименко В. В., Ткачев С. Е., Макенов М. Т. [и др.]. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2015. – Т. 27. – С. 29-35.
206. О роли *Rickettsia raoultii* в эпидемиологии клещевых риккетсиозов в России / Рудаков Н. В., Самойленко И. Е., Рудакова С. А. [и др.]. // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2015. – № 3. – С. 17-21.
207. О специфическом антивирусном действии антисмысловых олигонуклеотидов в живом организме / Погодина В. В., Фролова Т. В., Фролова М. П. [и др.]. // Доклады АН СССР. – 1989. – Т. 308. – № 1. – С. 237-240.
208. Особенности клещевого энцефалита в Ярославской области на современном этапе. Проблема эволюции инфекции / Герасимов С. Г., Дружинина Т. А., Карань Л. С. [и др.]. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2014. – Т. 19. – № 14. – С. 37-44.
209. Особенности клещевого энцефалита при смешанных клещевых инфекциях в Тюменской области / Колчанова Л. П., Степанова К. Б., Степанова Т. Ф. [и др.]. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2007. – № 11 (11). – С. 126-127.
210. Особенности клещевого энцефалита у вакцинированных пациентов, критерии специфической лабораторной диагностики / Погодина В. В., Щербинина М. С., Семенов В. А. [и др.]. // Инфекционные болезни. – 2020. – Т. 18. – № 4. – С. 94-104.
211. Особенности лабораторной диагностики моноцитарного эрлихиоза человека / Тетерин В. Ю., Коренберг Э. И., Нефедова В. В. [и др.]. // Пермский медицинский журнал. – 2022. – Т. XXXIX. – № 3. – С. 73-82.
212. Основные итоги разработки проблемы риккетсиозов, передающихся иксодовыми клещами, в России / Рудаков Н. В., Шпынов С. Н., Ястребов В. К. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2012. – № 5. – С. 29-33.
213. Оценка зараженности клещей вирусом клещевого энцефалита с использованием различных методов исследования. Неоднозначность трактовки результатов / Холодилов И. С., Белова О. А., Мотузова О. В. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2014. – № 3 (76). – С. 29-36.

214. Падальян, Л. О. Особенности клиники начального периода микст-инфекции клещевого энцефалита и болезни Лайма в Кемеровской области / Л. О. Падальян, Л. Н. Кравчук, И. А. Беляева // Проблемы клещевых боррелиозов. – М.: Медицина, 1993. – С. 86-92.
215. Панов, А. Г. Клещевой энцефалит / А. Г. Панов. – Ленинград: Медгиз, 1956. – 284 с.
216. Панов, А. Г. Некоторые патогенетические механизмы прогрессивных форм клещевого энцефалита / А. Г. Панов, В. И. Ильенко, Н. И. Команденко // Журнал невропатологии. – 1977. – Т. 77. – № 2. – С. 161-166.
217. Пеньевская, Н. А. Методологические подходы к оценке эффективности этиотропной противовирусной иммунопрофилактики (на примере препаратов иммуноглобулина против клещевого энцефалита) / Н. А. Пеньевская // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2008. – Т. 10. – № 1. – С. 70-85.
218. Пеньевская, Н. А. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в северных районах Омской области / Н. А. Пеньевская, С. А. Рудакова, Н. В. Рудаков [и др.]. // Пермский медицинский журнал. – 2009. – № 5. – С. 32-39.
219. Пеньевская, Н. А. Оценка эффективности этиотропной профилактики инфекций, передающихся иксодовыми клещами: проблемы теории и практики / Н. А. Пеньевская. – Омск: ИЦ «Омский научный вестник», 2010. – 232 с.
220. Пеньевская, Н. А. Проблемные аспекты оценки эпидемиологической эффективности вакцинопрофилактики клещевого энцефалита / Н. А. Пеньевская, Н. В. Рудаков, С. А. Рудакова // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – № 5. – С. 78-88.
221. Пеньевская, Н. А. Оценка эффективности этиотропной профилактики инфекций, передающихся иксодовыми клещами: систематизация понятий и методологические особенности / Н. А. Пеньевская, Н. В. Рудаков // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – № 6. – С. 48-56.
222. Пенсионный фонд РФ: сайт. – 2008. – URL: <http://www.pfrf.ru/> (дата обращения: 14.04.2013).
223. Первая изоляция *Borrelia burgdorferi sensu stricto* в России / Н. Б. Горелова, В. В. Нефедова, И. А. Фадеева // Журнал микробиологии. – 2001. – № 4. – С. 10-12.
224. Первиков, Ю. В. Иммунные комплексы при вирусных инфекциях / Ю. В. Первиков, Л. Б. Эльберт. – Москва: Медицина, 1984. – 160 с.

225. Первые данные о клиническом течении моноцитарного эрлихиоза в России / Е. В. Григорян, Э. И. Коренберг, Н. Н. Воробьева // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2000. – № 6. – С. 20-23.
226. Письмо Минздравсоцразвития РФ от 17.12.2010 №20-2/10/212028 «О формировании и экономическом обосновании территориальной программы государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи на 2011 г.»: сайт. – 1997. – URL:www.consultant.ru/ (дата обращения 14.04.2013).
227. Пиценко, Н. Д. Персистенция вируса и вирусной РНК у больных клещевым энцефалитом / Н. Д. Пиценко, Э. А. Кветкова, Л. П. Илюшенко [и др.]. // Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики клещевого энцефалита: материалы науч. конф. – Иркутск: 1990. – С. 121-122.
228. Платонов, А. Е. Таксономическая позиция и генетическое разнообразие вида боррелий *Borrelia miyamotoi* - возбудителя "нового" иксодового клещевого боррелиоза / А. Е. Платонов, Л. С. Карань, Н. М. Колясникова [и др.]. // Молекулярная диагностика – 2010: материалы Всерос. науч.-практич. конф. с международным участием. – 2010. – Т. 2. – С. 250-256.
229. Платонов, А. Е. Боррелиозные возвратные лихорадки: забытые и новые / А. Е. Платонов, В. В. Малеев, Л. С. Карань // Терапевтический архив. – 2010. – № 82 (11). – С. 74-80.
230. Платонов, А. Е. Применение метода «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.
231. Погодина, В. В. Вирусы антигенного комплекса клещевого энцефалита (биология, дифференциация, нейровирулентность и связанные с ней особенности патогенеза и иммунологии): диссертация ... докт. мед. наук / Ванда Вацлавовна Погодина. – Москва, 1966. – 795 с.
232. Погодина, В. В. Хронический клещевой энцефалит / В. В. Погодина, М. П. Фролова, Б. А. Ерман. – Новосибирск: Наука, 1986. – 234 с.
233. Погодина, В. В. Мониторинг популяций вируса клещевого энцефалита и этиологической структуры заболеваемости за 60-летний период / В. В. Погодина // Вопросы вирусологии. – 2005. – №3. – С. 7-13.
234. Погодина, В. В. Изучение защитного титра антител против сибирского подтипа вируса клещевого энцефалита у вакцинированного населения / В. В. Погодина, М. С. Щербинина, Л. С. Левина [и др.]. // Клещевой энцефалит и другие переносимые клещами

- инфекции: материалы Росс. науч. конф., посвященной 80-летию открытия вируса клещевого энцефалита. – Москва: 2017. – № 31 (1). – С. 39.
235. Пола, У. Иммунология / У. Пола. – Москва: Мир, 1988. – Т 2. – 456 с.
236. Попонин, Н. М. Клещевой энцефалит в Кировской области: эпидемиология, клиническая картина и исходы заболевания / Н. М. Попонин, А. Л. Бондаренко // Практическая медицина. – 2019. – Т. 17. – № 7. – С. 143-148.
237. Попонникова, Т. В. Исходы менингоэнцефалита при сочетанной инфекции ИКБ и КЭ у детей / Т. В. Попонникова, А. В. Субботин // Клещевые боррелиозы: материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Ижевск: 2002. – 2002. – С. 234-237.
238. Попонникова, Т. В. Особенности клинических проявлений острого периода сочетанной инфекции клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза у детей / Т. В. Попонникова, А. В. Субботин // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2005. – № 1. – С. 7-10.
239. Применение ПЦР в режиме реального времени для диагностики различных клещевых инфекций // Карань Л. С., Колясникова Н. М., Махнева Н. А. [и др.]. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2010. – № 3. – С. 72-77.
240. Природная очаговость болезней: Исследования института Гамалеи РАМН / [В. Ю. Литвин и др.]; Под ред. проф. Э. Н. Коренберга. – Москва: Русаки, 2003. – 254 с.
241. Проворова В. В. Значение эпидемиологических и клинических данных в раннем прогнозе при клещевом энцефалите: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.01.09 / Проворова Вероника Валерьевна. – Новосибирск, 2010. – 24 с.
242. ПЦР-диагностика клинических случаев боррелиозов и риккетсиозов. В: Генодиагностика инфекционных заболеваний / Карань Л. С., Рудникова Н. А., Булгакова Т. А. [и др.]. // Медицина для всех. – 2004. – Т. II. – С. 35-37.
243. Пчелкина, А. А. О смешанном природном очаге Ку-риккетсиоза и клещевого энцефалита в восточноевропейских южнотаежных лесах / А. А. Пчелкина, З. М. Жмаева // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. – 1967. – № 3. – С. 118-123.
244. Развитие вариантов клинических форм клещевого энцефалита связано с проникновением вируса через разные барьеры мозга / Кармышева В. Я., Маленко Г. В., Левина Л. С. [и др.]. // Медицинская вирусология. – 2013. – Т. XXVII. – № 1. – С. 43.
245. Разработка и использование планарного белкового биочипа для серологической диагностики клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* / Стуколова О. А., Колясникова Н. М., Сарксян Д. С. [и др.]. // «Молекулярная диагностика – 2017»: материалы Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием. – Москва, 2017. – Т II. – С. 151-152.

246. Разработка и практическое применение методики для идентификации поверхностных антигенов *Borrelia miyamotoi* / Миронов К. О., Титков А. В., Кулешов К. В. [и др.]. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2021. – Т. 98. – № 3. – С. 339-350.
247. Рар, В. А. Вариабельность переносимых иксодовыми клещами бактерий семейства *Anaplasmataceae* на территории азиатской части России: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.01.03 / Рар Вера Александровна. – Новосибирск, 2011. – 21 с.
248. Распространение клещевых инфекций в бассейне р. Селенга на территории Республик Бурятия и Монголия / Данчинова Г. А., Хаснатинов М. А., Арбатская Е. В. [и др.]. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5-1 (87). – С. 206-209.
249. Решенные и нерешенные проблемы профилактики клещевого энцефалита / Погодина В. В., Левина Л. С., Бочкова Н. Г. [и др.]. // Дезинфекционное дело. – 2007. – № 1. – С. 42-44.
250. Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт. – Москва: Мир, 1991. – 328 с.
251. Росстат России: сайт. – 1999. – URL: [http:// www.gks.ru/](http://www.gks.ru/) (дата обращения 14.04.2013).
252. Рудаков, Н. В. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций / Н. В. Руданова. – Москва: Бином, 2010. – 940 с.
253. Рябов, В. И. Критерии оценки тяжести течения клещевого энцефалита / В. И. Рябов, Т. И. Николаевская // Актуальные вопросы изучения клещевого энцефалита и геморрагической лихорадки в их природных очагах: сб. научных трудов. – Ижевск: 1990. – Ч. 2. – С. 38-39.
254. Савельева, М. В. Клинико-лабораторная характеристика клещевых бактериальных инфекций у взрослых в Новосибирской области: диссертация ... канд. мед. наук: 14.01.09 / Савельева Мария Викторовна. – Новосибирск, 2018. – 143 с.
255. Савинова, Ю. С. Европейский субтип виурса клещевого энцефалита. Обзор литературы / Ю. С. Савинова // Acta biomedica scientifica. – 2021. – № 6 (4). – С. 100-113.
256. СП 3.1.3.2352-08 «Профилактика клещевого вирусного энцефалита»: сайт. – 2008. – URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293834/4293834096.pdf> (дата обращения 01.02.2022).
257. СП 3.1.3310-15 «Профилактика инфекций, передающихся иксодовыми клещами»: сайт. – 2015. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/420319715> (дата обращения 01.02.2022).
258. Самаров, М. Н. Микст-инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, у детей Пермского края / М. Н. Самаров, Н. Н. Воробьева, Н. Б. Мерзлова // Актуальные проблемы

- клещевых нейроинфекций: материалы межрегион. науч.-практ. конф. с международным участием. – Кемерово: ИД «Медицина и Просвещение» Медицина в Кузбассе, 2008. – № S5. – С. 138-139.
259. Самович, Н. В. Клещевой энцефалит в Молотовской области в 1948 году / Н. В. Самович // Журнал невропатологии и психиатрии. – 1950. – Т. 19. – № 2. – С. 19-21.
260. Сарксян Д. С. Иксодовый клещевой боррелиоз, вызванный, *Borrelia miyamotoi* – клинико-эпидемиологическая характеристика, диагностика, лечение: диссертация ... докт. мед. наук: 14.01.09 / Сарксян Денис Сосович. – Москва, 2016. – 281 с.
261. Сарманова, Е. С. Изучение вирусемии у белых мышей и белых крыс, зараженных вирусами клещевого весенне-летнего и шотландского энцефалитов / Е. С. Сарманова // Вопросы вирусологии. – 1956. – № 2. – С. 27-31.
262. Связь полиморфизма генов ABCB9 и COL22A1 с предрасположенностью человека к тяжелым формам клещевого энцефалита / Бархаш А. В., Юрченко А. А., Юдин Н. С. [и др.]. // Генетика. – 2019. – № 3. – С. 337-347.
263. Семенов, Б. Ф. Иммунопатология при вирусных инфекциях / Б. Ф. Семенов, В. И. Гаврилов. – Москва: Медицина, 1976. – 173 с.
264. Семенов, Б. Ф. Клеточные и молекулярные основы противовирусного иммунитета / Б. Ф. Семенов, Д. Р. Каулен, И. Г. Баландин. – Москва: Медицина, 1982. – 239 с.
265. Симонова, Е. Г. Современный этап развития эпидемиологического надзора и перспективы его совершенствования / Е. Г. Симонова // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – № 4 (95). – С. 4-7.
266. Скрипченко, Н. В. Клещевой вирусный энцефалит / Н. В. Скрипченко // Эффективная фармакотерапия. – 2018. – № 15. – С. 32-34.
267. Случай развития хронического клещевого энцефалита у вакцинированного пациента / Субботин А. В., Семенов В. А., Смирнов В. Д. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2014. – № 3 (76). – С. 104-109.
268. Смирнов В. Д. Состояние мозгового кровообращения у больных клещевым энцефалитом: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.13 / Смирнов Вадим Дмитриевич. – Новосибирск, 2000. – 25 с.
269. Смородинцев, А. А. Основы противовирусного иммунитета / А. А. Смородинцев, Т. Я. Лузянина, А. А. Смородинцев. – Ленинград: Медицина, 1975. – 311 с.
270. Современная эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Челябинской области / Лучинина С. В., Степанова О. Н., Погодина В. В. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2014. – № 2 (75). – С. 32-37.

271. Современные подходы к изучению Rickettsiales / Рудаков Н. В., Шпынов С. Н., Самойленко И. Е. [и др.]. // Бюллетень Сибирской Медицины. – 2006. – Т. 5. – С. 111-116.
272. Современные проблемы специфической профилактики клещевого энцефалита. Сообщение I. Вакцинопрофилактика в зоне доминирования сибирского подтипа возбудителя / Погодина В. В., Щербинина М. С., Герасимов С. Г. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – № 5 (84). – С. 77-84.
273. Современные проблемы специфической профилактики клещевого энцефалита. Сообщение II. Особенности иммунитета в зоне доминирования сибирского подтипа возбудителя / Погодина В. В., Щербинина М. С., Герасимов С. Г. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – № 6 (85). – С. 65-73.
274. Сомова, Л. М. Патология нейроинфекций, вызываемых вирусами комплекса клещевого энцефалита / Л. М. Сомова, Фролова М. П., Погодина В. В. – Москва: Синтерия, 2018. – 360 с.
275. Состояние поствакцинального иммунитета к вирусу клещевого энцефалита у населения высокоэндемичной территории в условиях доминирования сибирского подтипа возбудителя / Щербинина М. С., Скрынник С. М., Левина Л. С. [и др.]. // Журнал эпидемиологии и вакцинопрофилактики. – 2018. – № 17 (2). – С. 27-36.
276. Социально-экономическое бремя клещевого энцефалита в Российской Федерации / Колясникова Н. М., Авксентьева Н. А., Деркач Е. В. [и др.]. // Медицинские технологии. Оценка и выбор. – 2013. – № 3. – С. 56-69.
277. Социально-экономическое бремя пяти природно-очаговых инфекций в Российской Федерации / Платонов А. Е., Авксентьев Н. А., Авксентьева М. В. [и др.]. // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2015. – Т. 8. – № 1. – С. 47-56.
278. Специфическая диагностика иксодового клещевого боррелиоза, вызванного *Borrelia miyamotoi* / Е. Гордынина, В. Березина, Н. Александрова, Л. Морыжанкова // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. – 2015. – № 2. – С. 28-31.
279. Сравнительный анализ вирулентности сибирского и дальневосточного подтипов вируса клещевого энцефалита / Погодина В. В., Бочкова Н. Г., Карань Л. С. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2004. – Т. 49. – № 6. – С. 24-30.
280. Степанова, Т. Ф. Риск заражения людей моноцитарным эрлихиозом и гранулоцитарным анаплазмозом человека в различных ландшафтных подзонах Тюменской области / Т. Ф. Степанова, Л. П. Колчанова, Е. А. Брагина // Вестник Тюменского государственного университета. – 2010. – № 3. – С. 111-115.

281. Стратегия выбора антибиотиков для терапии бактериальных инфекций, ассоциирующихся с хроническим клещевым энцефалитом / Маленко Г. В., Погодина В. В., Фролова М. П. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 1996. – № 3. – С. 138-141.
282. Субботин, А. В. Особенности неврологического статуса при лихорадочной форме сочетанной инфекции клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза / А. В. Субботин, Т. В. Попонникова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2002. – № 4-2. – С. 95-96.
283. Субботин, А. В. Клинические проявления микст-инфекции клещевого энцефалита и боррелиоза на территории Кемеровской области / А. В. Субботин, В. А. Семенов // Медицина в Кузбассе. – 2008. – Т. 7. – № 2. – С. 21-26.
284. Субботин, А. В. Пациент с клещевым энцефалитом полиневрической формой / А. В. Субботин, В. А. Семенов, М. С. Щербинина // Медицина в Кузбассе. – 2018. – № 17 (1). – С. 68-72.
285. Супотницкий, М. В. Неисследованные тупики вакцинации / М. В. Супотницкий // Крымский журнал экспериментальной клинической медицины. – 2011. – № 1 (3-4). – С. 118-127.
286. Терехина, Л. Л. Протективные свойства вакцинных препаратов против клещевого энцефалита для защиты от разных подтипов вируса клещевого энцефалита / Л. Л. Терехина, Ю. В. Рогова, Л. Ю. Романова [и др.]. // Материалы IV Всерос. конгресса по инфекционным болезням. Москва: 2012. – С. 373-374.
287. Тетерин, В. Ю. Оптимизация лабораторной диагностики и клинические особенности иксодовых клещевых боррелиозов, гранулоцитарного анаплазмоза человека: диссертация ... канд. мед. наук: 14.01.09 / Тетерин Владимир Юрьевич. – Москва, 2012. – 189 с.
288. Тимаков, В. Д. Микробиология (2-е издание) / В. Д. Тимаков, В. С. Левашев, Л. Б. Борисов. – Москва: Медицина, 1983. – 517 с.
289. Туваков, М. К. Эпидемиология микст-форм природно-очаговых трансмиссивных иксодовых заболеваний в Прибайкалье / М. К. Туваков, В. А. Борисов, К. А. Аитов [и др.]. // Нейроинфекции. Современные аспекты клещевых инфекций: материалы II нац. конф. с международным участием. – Екатеринбург: Вестник УГМА, 2010. – № 21. – С. 207-208.
290. Уманский, К. Г. Существует ли эритемная форма клещевого энцефалита? / К. Г. Уманский, Е. С. Сарманова, Г. П. Пиванова // Клещевой энцефалит и другие арбовирусные инфекции. – 1962. – С. 182-183.
291. Усков, А. Н. Смешанные инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в Северо-Западном регионе России: (клиника, диагностика, лечение): автореферат дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.10 / Усков Александр Николаевич. – Санкт-Петербург, 2003. – 44 с.

292. Ушакова, М. А. Характеристика суставного синдрома при Лайм-боррелиозе: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.39 / Ушакова Мария Анатольевна. – Москва, 1996. – 24 с.
293. Фармацевтический рынок России в 2011 г. DSM Group: сайт. – 2011. – URL:http://dsm.ru/content/file/dsm_11.pdf (дата обращения: 14.04.2013).
294. Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по диагностике и лечению вирусных энцефалитов у детей: сайт. – 2013. – URL: http://ulgb3.ru/doc/211218_11-00.pdf (дата обращения: 01.02.2022).
295. Федчук, Т. Н. Клинико-эпидемиологические особенности микст-инфекции клещевого энцефалита и иксодовых клещевых боррелиозов в Удмуртской Республике / Т. Н. Федчук, Г. А. Малинина, М. Л. Ертахова // Клещевые боррелиозы: материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Ижевск: – 2002. – С. 285-287.
296. Федчук, Т. Н. Клинико-неврологическая характеристика неочаговых форм клещевого энцефалита и микст-инфекции в Удмуртской Республике: автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.13 / Федчук Татьяна Николаевна. – Пермь, 2008. – 24 с.
297. Фризен, В. И. Клещевой энцефалит и его сочетание с другими инфекциями, передающимися клещами в Пермском крае / В. И. Фризен, М. В. Афанасьева, Н. Н. Воробьева [и др.]. // Современные научные и прикладные аспекты клещевого энцефалита: материалы Всерос. науч. конф., посвящ. 70-летию открытия вируса клещевого энцефалита. – Москва: 2007. – С. 131-132.
298. Фролова, Т. В. Активирующий эффект адреналина, преднизолон и винкристина на отдаленных сроках персистенции вируса клещевого энцефалита / Т. В. Фролова, В. В. Погодина // Вопросы вирусологии. – 1984. – № 1. – С. 103-108.
299. Хань, Ш. Применение метода флуоресцирующих антител для изучения инфекции, вызванной вирусом восточного клещевого энцефалита у мышей, хомяков и поросят / Хань-Ши-Цзе, В. В. Погодина // Acta Virologica. – 1964. – Т. 8. – № 1. – С. 22-29.
300. Характеристика случаев клещевого энцефалита у вакцинированных / Погодина В. В., Щербинина М. С., Колясникова Н. М. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2019. – Т. 18. – № 6. – С. 90-97.
301. Характеристика эпидемического процесса болезни Лайма на территории Свердловской области за 20-летний период / Колясникова Н. М., Чистякова Л. Г., Пономарева А. В. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2023. – Т. 22. – № 2. – С. 64-71.
302. Харисов, Ф. М. Клинико-эпидемиологическая характеристика клещевого энцефалита и клещевого боррелиоза в Краснокамском районе Республики Башкортостан

- / Ф. М. Харисов, В. Л. Шипицын, Л. М. Мусина [и др.]. // Актуальные вопросы эпидемиологии инфекционных болезней: сб. научных трудов. – Москва: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 1997. – С. 364-366.
303. Хаснатинов, М. А. Роль генетического разнообразия вируса клещевого энцефалита и других клещевых патогенов в обеспечении устойчивого существования их эпидемиологически значимых природных очагов: автореферат дис. ... д-ра. биол. наук: 03.02.02 / Хаснатинов Максим Анатольевич. – Кольцово, 2019. – 47 с.
304. Хохуткин, И. М. Экологические проблемы клещевого энцефалита в антропогенной среде / И. М. Хохуткин, В. Н. Большаков, К. И. Бердюгин [и др.]. // Совершенствование защиты населения территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера в условиях Уральского региона: материалы науч.-практ. конф. – Екатеринбург, 1998. – С. 110-111.
305. Циркуляция *Borrelia miyamotoi* в природных очагах Прибайкалья / Войцеховская И. В., Козлова И. В., Сунцова О. В. [и др.]. // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология. – 2014. – № 8. – С. 56-65.
306. Черкасский, Б. Л. Социально-экологическая концепция в эпидемиологии инфекционных и паразитарных болезней / Б. Л. Черкасский // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1985. – № 6. – С. 3-8.
307. Черкасский, Б. Л. Эпидемиологический надзор / Б. Л. Черкасский. – Москва: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000. – 24 с.
308. Черкасский, Б. Л. Риск в эпидемиологии / Б. Л. Черкасский. – Москва: Практическая медицина, 2007. – 476 с.
309. Шаповал, А. Н. Клещевой энцефаломиелит / А. Н. Шаповал. – Москва: Медицина, 1980. – 256 с.
310. Шкарин, В. В. Проблемы и перспективы системы мониторинга за новыми инфекциями / В. В. Шкарин, О. В. Ковалишена // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2013. – № 4. – С. 4-9.
311. Шубин, Н. В. Клиника клещевого энцефалита в Западной Сибири / Н. В. Шубин // Материалы межinst. науч. конф., посвященной 50-летию Томского НИИВС. – Москва, 1958. – Т. 8. – С. 151-165.
312. Шубладзе, А. К. Экспериментальное изучение ультра-вирусных инфекций нервной системы: автореферат дис. ... д-ра. мед. наук / Шубладзе Антонина Константиновна. – Москва, 1943. – 32 с.
313. Щербинина, М. С. Поствакцинальный иммунитет к вирусу клещевого энцефалита у населения эндемичных территорий, значение числа ревакцинаций / М. С. Щербинина,

- С. М. Скрынник, Н. А. Широкова [и др.]. // Клещевой энцефалит и другие переносимые клещами инфекции: материалы конф., посвященной 80-летию открытия вируса клещевого энцефалита. – Москва: 2017. – № 31 (1). – С. 56.
314. Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины / Н. Колясникова, С. Герасимов, А. Ишмухаметов, В. Погодина // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19. – № 3. – С. 78-88.
315. Эволюция клещевого энцефалита и проблема эволюции возбудителя / Погодина В. В., Карань Л. С., Колясникова Н. М. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2007. – № 5. – С. 16-21.
316. Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время) (коллективная монография) / [В. В. Погодина и др.]; Под ред. В. В. Погодиной, А. А. Ишмухаметова. – Москва: ООО «ТФП», 2021. – 344 с.
317. Экспериментальное исследование феномена антителозависимого усиления инфекционности вируса клещевого энцефалита *in vitro* / Ожерелков С. В., Калинина Е. С., Кожевникова Т. Н. [и др.]. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2008. – № 6. – С. 39-43.
318. Эпидемиологическая и клинико-иммунологическая характеристика иксодовых клещевых боррелиозов и микст-форм клещевых инфекций на Южном Урале / Конькова-Рейдман А. Б., Тарасов В. Н., Теплова С. Н. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2009. – Т. 47. – № 4. – С. 12-23.
319. Эпидемиологическая ситуация по клещевому энцефалиту и вакцинопрофилактика в Курганской области (1983-2017 гг.) / Погодина В. В., Щербинина М. С., Скрынник С. М. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – Т. 17. – № 4. – С. 46-56.
320. Эпидемиологическая характеристика клещевого энцефалита в Свердловской области за 20-летний период / Колясникова Н. М., Чистякова Л. Г., Пономарева А. В. [и др.]. // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2023. – Т. 22. – № 2. – С. 54-63.
321. Эпидемиология, этиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика иксодовых клещевых боррелиозов (рекомендации для врачей) / Лобзин Ю. В., Рахманова А. Г., Антонов В. С. [и др.]. – Санкт-Петербург: 2000. – 78 с.
322. Эффект гентамицина при персистенции вируса клещевого энцефалита / Погодина В. В., Маленко Г. В., Кармышева В. Я. [и др.]. // Вопросы вирусологии – 1999. – Т. 44. – № 1. – С. 35-39.
323. Эффективность детекции вируса клещевого энцефалита в иксодовых клещах (*Acari: Ixodidae*) с помощью иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции

- в реальном времени / Белова О. А., Буренкова Л. А., Карань Л. С. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 2014. – № 5. – С. 38-43.
324. Эффективность программы массовой вакцинопрофилактики клещевого энцефалита в Свердловской области / Романенко В. В., Анкудинова А. В., Килячина А. С. [и др.]. // Вестник Уральской государственной медицинской академии. – 2010. – № 21. – С. 125-132.
325. Явление антигенной дефектности у циркулирующих в природе штаммов вируса клещевого энцефалита и его возможная связь с серонегативными формами заболевания / Погодина В. В., Бочкова Н. Г., Дживанян Т. И. [и др.]. // Вопросы вирусологии. – 1992. – № 2. – С. 103-107.
326. A 10-year follow-up study of tick-borne encephalitis in the Stockholm area and a review of the literature: need for a vaccination strategy / M. Haglund, M. Forsgren, G. Lindh, L.Lindquist // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. – 1996. – Vol. 28 (3). – P. 217-224.
327. A bacterial genome in flux: the twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* / Casjens S., Palmer N., van Vugt R. [et al.]. // *Molecular Microbiology*. – 2000. – Vol. 35. – P. 490-516.
328. Abbott, A. Lyme disease: Uphill struggle / A. Abbott // *Nature*. – 2006. – Vol. 439. – P. 524-525.
329. Abdiyeva, K. The South of Kazakhstan is a hotspot for the Siberian Subtype of tick-borne encephalitis virus / K. Abdiyeva, N. Turebekov, Z. Shapiyeva [et al.]. // 15th Medical Biodefense Conference Abstracts. – Munich: 2016. – P. 31.
330. A case of meningoencephalitis by the relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* in Europe / Hovius W. R., de Wever B., Sohne. M. [et al.]. // *Lancet*. – 2013. – Vol. 382 (9892). – P. 658.
331. A case of Powassan encephalitis acquired in southern Quebec / M. Sanderson, R. Lindsay, M. Campbell, M. Morshed // *Canadian Medical Association Journal*. – 2018. – Vol. 190 (50). – P. 1478-1480.
332. A case series of fatal meningoencephalitis in Mongolia: epidemiological and molecular characteristics of tick-borne encephalitis virus / Uyanga B., Burmaajav B., Natsagdorj B. [et al.]. // *Western Pacific Surveillance and Response Journal*. – 2019. – Vol. 10 (1). – P. 1-7.
333. A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus / Takashima I., Morita K., Chiba M. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1997. – Vol. 35. – P. 1943-1947.
334. Acquisition and transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis by *Ixodes scapularis* ticks / Hodzic E., Fish D., Maretzki C. M. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1998. – Vol. 36. – P. 3574-3578.

335. Acrodermatitis chronica atrophicans: clinical and microbiological characteristics of a cohort of 693 Slovenian patients / Ogrinc K., Maraspin V., Lusa L. [et al.]. // *Journal of Internal Medicine*. – 2021. – Vol. 290 (2). – P. 335-348.
336. Acrodermatitis chronica atrophicans in children: report on two cases and review of the literature / Maraspin V., Mrvič T., Ružić-Sabljić E. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2019. – Vol. 10. – P. 180-185.
337. Acute respiratory distress syndrome in persons with tickborne relapsing fever –three states, 2004-2005 / Centers for Disease Control and Prevention (CDC) // *Morbidity and Mortality Weekly Report*. – 2007. – Vol. 56. – P. 1073-1076.
338. Acute tick-borne rickettsiosis caused by *Rickettsia heilongjiangensis* in Russian Far East / Mediannikov O.Y., Sidelnikov Y., Ivanov L. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2004. – Vol. 10. – P. 810-817.
339. A deletion in the chemokine receptor 5 (CCR5) gene is associated with tickborne encephalitis / Kindberg E., Mickiene A., Ax C. [et al.]. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2008. – Vol. 197 (2). – P. 266-269.
340. A functional Toll-like receptor 3 gene (TLR3) may be a risk factor for tick-borne encephalitis virus (TBEV) infection / Kindberg E., Vene S., Mickiene A., [et al.]. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 203 (4). – P. 523-528.
341. Afzelius, A. Eritema chronica migrans // *Archive of Dermatology and Syphilis*. – 1910. – Vol. 101. – P. 404.
342. Agüero-Rosenfeld, M. E. Lyme disease: laboratory issues / M. E. Agüero-Rosenfeld // *Infectious Disease Clinics of North America*. – 2008. – Vol. 22 (2). – P. 301-313.
343. Albrecht, P. Pathogenesis of Neurotropic Arbovirus Infections / Arber W., Braun F., Cramer R. [et al.]. // *Current Topics Microbiology and Immunology*. – New York: Springer-Verlag, 1968. – Vol. 43. – P. 45-91.
344. Alekseev, A. N. First determination of ehrlichia infected ticks among the primary vectors of the tick-borne encephalitis and borreliosis in the Russian Baltic region / A. N. Alekseev, H. V. Dubinina // *Bulletin of the Scandinavian Society for Parasitology*. – 1998. – Vol. 8 (2). – P. 88-91.
345. Alekseev, A. N. Vector (tick) is ecological niche of different parasitic organisms / A. N. Alekseev, H. V. Dubinina // *Bulletin of the Scandinavian Society for Parasitology*. – 2000. – Vol. 10. – P. 1.
346. Allan E. J. Bacterial L-forms / E. J. Allan, C. Hoischen, J. Gumpert // *Advances in Applied Microbiology*. – 2009. – Vol. 68. – P. 1-39.

347. A matrix metalloproteinase 9 (MMP9) gene single nucleotide polymorphism is associated with predisposition to tick-borne encephalitis virus-induced severe central nervous system disease / Barkhash A.V., Yurchenko, A. A., Yudin, N. S. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2018. – Vol. 9 (4). – P. 763-767.
348. An acute severe ehrlichiosis in a dog experimentally infected with a new virulent strain of *Ehrlichia canis* / Unvera A., Rikihisa Y., Karaman M. [et al.]. // *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2009. – Vol. 15 (Suppl 2). – P. 59-61.
349. Analysis of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolated from cerebrospinal fluid / Ruzic-Sabljić E., Lotric-Furlan S., Maraspin V. [et al.]. // *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*. – 2001. – Vol. 109. – P. 707-713.
350. Analysis of the envelope (E) protein gene of tick-borne encephalitis viruses isolated in South Korea / Yun S. M., Kim S. Y., Han M. G. [et al.]. // *Vector-borne and Zoonotic Diseases*. – 2009. – Vol. 9 (3). – P. 287-293.
351. An animal model of a newly emerging human ehrlichiosis / Saito T. B., Thirumalapura N. R., Shelite T. R. [et al.]. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2015. – Vol. 211. – P. 452-461.
352. *Anaplasma phagocytophilum* has a functional *msp2* gene that is distinct from *p44*. / Lin Q., Rikihisa Y., Felek S. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 2004. – Vol. 72. – P. 3883-3889.
353. *Anaplasma phagocytophilum* surface protein AipA mediates invasion of mammalian host cells / Seidman D., Ojogun N., Walker N. J. [et al.]. // *Cellular microbiology*. – 2014. – Vol. 16. – P. 1133-1145.
354. *Anaplasma phagocytophilum* transmitted through blood transfusion – Minnesota, 2007 / Centers for Disease Control and Prevention (CDC) // *Morbidity and Mortality Weekly Report*. – 2008. – Vol. 57. – P. 1145-1148.
355. An avian reservoir (*Tardus merula*) of the Lyme borreliosis spirochetes / P. Humair., D. Postic, R. Wallich, L. Gern // *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene Abteilung*. – 1998. – Vol. 287 (4). – P. 521-538.
356. A New Segmented Virus Associated with Human Febrile Illness in China / Wang Z. D. Wang B., Wei F. [et al.]. // *New England Journal of Medicine*. – 2019. – Vol. 380 (22). – P. 2116-2125.
357. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China / Dai X., Shang G., Lu S. [et al.]. // *Emerging Microbes and Infectious*. – 2018. – Vol. 7 (1). – P. 71-74.
358. *Anguilla*, J., Adaptation of *Borrelia burgdorferi* in the tick and the mammalian host / J. Anguilla, M. N. Hedrick, E. Fikrig // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2003. – Vol. 27. – P. 493-504.

359. An optimized PCR leads to rapid and highly sensitive detection of *Borrelia burgdorferi* in patients with Lyme borreliosis / Priem S., Rittig M. G., Kamradt T. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1997. – Vol. 35 (3). – P. 685-690.
360. A novel *Ehrlichia* genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. // Aguiar D. M., Ziliani T. F., Zhang X. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2014. – Vol. 5. – P. 537-544.
361. Anovská, D. Sensitivity of *Borrelia burgdorferi* strains isolated in the Czech Republic / D. Anovská, D. Hulínská, T. Godová // *Central European Journal of Public Health*. – 2001. – Vol. 9. – P. 38-40.
362. Antibody-induced conformational changes result in enhanced avidity of antibodies to different antigenic sites in the tick-borne encephalitis virus glycoprotein / Heinz F.X., Mandl C., Berger R. [et al.]. // *Virology*. – 1984. – Vol. 133 (1). – P. 25-34.
363. Antibody response in *Borrelia miyamotoi* infection studied by protein microarray / Stukolova O., Koetsveld J., Kolyasnikova N. [et al.]. // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 79 (S1). – P. 1-150.
364. Antigen display, T-cell activation, and immune evasion during acute and chronic ehrlichiosis / Nandi B., Chatterjee M., Hogle K. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 2009. – Vol. 77. – P. 4643-4653.
365. Antigenic variability of *Borrelia burgdorferi* / Wilske B., Preac-Mursic V., Schierz G. [et al.]. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1988. – Vol. 539. – P. 126-143.
366. Apoptosis of gamma/delta T cells in human ehrlichiosis / Caldwell C. W., Everett E. D., McDonald G. [et al.]. // *American Journal of Clinical Pathology*. – 1996. – Vol. 105. – P. 640-646.
367. A population-based seroepidemiological study of Human Granulocytic Ehrlichiosis and Lyme borreliosis on the west coast of Sweden / J. Dumler, S. Dotevall, R. Gustafson, M. Granström // *Journal of Infectious Diseases*. – 1997. – Vol. 175. – P. 720-722.
368. A proposal for the reliable culture of *Borrelia burgdorferi* from patients with chronic Lyme disease, even from those previously aggressively treated / S. Phillips, L. Mattman, D. Hulinska, H. Moayad // *Infection*. – 1998. – Vol. 26. – P. 364-367.
369. A protective chimeric antibody to tick-borne encephalitis virus / Baykov I. K., Matveev A. L., Stronin O. V. [et al.]. // *Vaccine*. – 2014. – Vol. 32 (29). – P. 3589-3594.
370. A relapsing fever group spirochete transmitted by *Ixodes scapularis* ticks / G. Scoles, M. Papero, L. Beati, D. Fish // *Vector-borne and Zoonotic Diseases*. – 2001. – Vol. 1 (1). – P. 21-34.

371. Are the specialized bird ticks, *Ixodes arboricola* and *I. frontalis*, competent vectors for *Borrelia burgdorferi sensu lato*? / Heylen D., Sprong H., van Oers K. [et al.]. // *Environmental Microbiology*. – 2014. – Vol. 16. – P. 1081-1089.
372. Asbrink, E. Successful cultivation of spirochetes from skin lesions of patients with erythema chronicum migrans Afzelius and acrodermatitis chronica atrophicans / E. Asbrink, A. Hovmark // *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica. Section B*. – 1985. – Vol. 93 (2). – P. 161-163.
373. Asbrink, E. Clinical manifestations of acrodermatitis chronica atrophicans in 50 Swedish patients / E. Asbrink, A. Hovmark, I. Olsson // *Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene Abteilung*. – 1986. – Vol. 263. – P. 253-261.
374. Asbrink, E. Comments on the course and classification of Lyme borreliosis / E. Asbrink, A. Novmark // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. – 1991. – Vol. 77. – P. 41-43.
375. Assi, M. A. Lyme disease followed by human granulocytic anaplasmosis in a kidney transplant recipient / M. A. Assi, J. D. Yao, R. C. Walker // *Transplant Infectious Disease*. – 2007. – Vol. 9. – P. 66-72.
376. Association of distinct species of *Borrelia burgdorferi sensu lato* with neuroborreliosis in Switzerland / Peter O., Bretz A. G., Postic D. [et al.]. // *Clinical Microbiology and Infection*. – 1997. – Vol. 3. – P. 423-431.
377. Association of IL28B and IL10 gene polymorphism with predisposition to tick-borne encephalitis in a Russian population / A. Barkhash, V. Babenko, M. Voevoda, A. Romaschenko // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2016. – Vol. 7 (5). – P. 808-812.
378. A survey of antibodies against *Rickettsia rickettsii* and *Ehrlichia chaffeensis* in domestic animals from a rural area of Colombia / Hidalgo M., Vesga J. F., Lizarazo D. [et al.]. // *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 2009. – Vol. 80. – P. 1029-1030.
379. A tick-borne encephalitis virus vaccine based on the European prototype strain induces broadly reactive cross-neutralizing antibodies in humans / Orlinger K. K., Hofmeister Y., Fritz R., [et al.]. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 203 (11). – P. 1556-1564.
380. A variable-length PCR target protein of *Ehrlichia chaffeensis* contains major species-specific antibody epitopes in acidic serinerich tandem repeats / Luo T., Zhang X., Wakeel A. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 2008. – Vol. 76. – P. 1572-1580.
381. Bair, G. The diagnosis and treatment of Lyme disease / G. Bair // *Knas Medicine*. – 1992. – Vol. 93 (9). – P. 254-257.
382. Bakken, J. S. Human granulocytic ehrlichiosis in the upper Midwest United States. A new species emerging? / Bakken J. S., Dumler J. S., Chen S. M. [et al.] // *Journal of the American Medical Association*. – 1994. – Vol. 272. – P. 212-218.

383. Bakken, J. S. Sequential changes in blood counts during natural course of human granulocytic ehrlichiosis / J. S. Bakken, J. Krueth, R. L. Tilden [et al.]. // 37th International Congress of Antibiotic Agents and Chemotherapy: Abstracts. – Toronto: Canada American Society for Microbiology, 1997. – P. 56.
384. Bakken, J. S. Human granulocytic ehrlichiosis / J. S. Bakken, J. S. Dumler // *Clinical Infectious Diseases*. – 2000. – Vol. 31. – P. 554-560.
385. Bakken, J. S. Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis / J. S. Bakken, J. S. Dumler // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 1078. – P. 236-247.
386. Bakken, J. S. Human granulocytic anaplasmosis / J. S. Bakken, J. S. Dumler // *Infectious Disease Clinics of North America*. – 2015. – Vol. 29. – P. 341-355.
387. Bannwarth, A. Chronische lymphozytäre Meningitis, entzündliche Polyneuritis und 'Rheumatismus' / A. Bannwarth // *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. – 1941. – Vol. 113. – P. 284-376.
388. Baradaran-Dilmaghani, R. In vitro susceptibility of thirty *Borrelia* strains from various sources against eight antimicrobial chemotherapeutics / R. Baradaran-Dilmaghani, G. Stanek // *Infection*. – 1996. – Vol. 24. – P. 60-63.
389. Barbour, A. Lyme disease spirochetes share a common surface antigenic determinant defined by a monoclonal antibody / A. Barbour, S. Tessier, W. Todol // *Journal of Infection and Immunity*. – 1983. – Vol. 41. – P. 795-804.
390. Barbour, A. G. Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes / A. G. Barbour // *Yale Journal of Biology and Medicine*. – 1984. – Vol. 57. – P. 521-525.
391. Barbour, A. G. Variation in a major surface protein of Lyme disease spirochetes / A. G. Barbour, S. L. Tessier, S. F. Hayes // *Journal of Infection and Immunity*. – 1984. – Vol. 45. – P. 94-100.
392. Barbour, A. G. Biology of *Borrelia* species / A. G. Barbour, S. F. Hayes // *Microbiology Reviews*. – 1986. – Vol. 50 (4). – P. 381-400.
393. Barbour, A. G. Laboratory aspect of Lyme borreliosis / A. G. Barbour // *Clinical Microbiology Reviews*. – 1988. – Vol. 1. – P. 399.
394. Barbour, A. G. Antigenic variation of a relapsing fever *Borrelia* species / A. G. Barbour // *Annual Review of Microbiology*. – 1990. – Vol. 44. – P. 155-171.
395. Barbour, A. G. Antigenic variation in vector-borne pathogens / A. G. Barbour, B. I. Restrepo // *Emerging Infectious Diseases*. – 2000. – Vol. 6. – P. 449-457.

396. Barbour, A. G. Phylogeny of a relapsing fever *Borrelia* species transmitted by the hard tick *Ixodes scapularis* / A. G. Barbour // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2014. – Vol. 27. – P. 551-158.
397. 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. – Vol. 11 (1). – P. e0146283.
398. Barkhash, A. V. Association of single nucleotide polymorphism rs3775291 in the coding region of the TLR3 gene with predisposition to tick-borne encephalitis in a Russian population / A. V. Barkhash, M. I. Voevoda, A. G. Romaschenko // *Antiviral Research*. – 2013. – Vol. 99 (2). – P. 136-138.
399. Barton, L. L. Infection with *Ehrlichia* in childhood / L. L. Barton, M. H. Rathore, J. E. Dawson // *Journal of Pediatrics*. – 1992. – Vol. 120. – P. 998-1001.
400. Belongia, E. A. Prevalence of granulocytic *Ehrlichia* infection among white-tailed deer in Wisconsin / E. A. Belongia, K. D. Reed, P. D. Mitchell // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1997. – Vol. 35 (6). – P. 1465-1468.
401. Belongia, E. A. Implication of co-infections / E. A. Belongia // IX International Conference on Lyme Borreliosis and other tick-borne diseases: program and abstract book. – New York: 2002. – P. 131-134.
402. Billings, A. N. Tick-borne diseases in Texas: a 10-year retrospective examination of cases / A. N. Billings, J. A. Rawlings, D. H. Walker // *Texas Medicine*. – 1998. – Vol. 94 (12). – P. 66-76.
403. Biochemical activities of three pairs of *Ehrlichia chaffeensis* two-component regulatory system proteins involved in inhibition of lysosomal fusion / Kumagai Y., Cheng Z., Lin M. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 2006. – Vol. 74. – P. 5014-5022.
404. Biosurveillance in Central Asia: Successes and Challenges of Tick-Borne Disease Research in Kazakhstan and Kyrgyzstan / Hay J., Yeh K. B., Dasgupta D. [et al.]. // *Frontier in Public Health*. – 2016. – Vol. 4. – P. 4.
405. Birds as reservoirs for *Borrelia burgdorferi* s.l. in Western Europe: circulation of *B. turdi* and other genospecies in bird-tick cycles in Portugal / Norte A. C., Ramos J. A., Gern L. [et al.]. // *Environmental Microbiology*. – 2013. – Vol. 15. – P. 386-397.
406. Blackbirds and song thrushes constitute a key reservoir of *Borrelia garinii*, the causative agent of borreliosis in Central Europe / Taragel'ova V., Koci J., Hanincova K. [et al.]. // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2008. – Vol. 74. – P. 1289-1293.
407. Blackbirds *Turdus merula* as competent reservoirs for *Borrelia turdi* and *Borrelia valaisiana* in Portugal: evidence from a xenodiagnostic experiment / Norte A. C., Lopes de

- Carvalho I., Nuncio M. S. [et al.]. // *Environmental Microbiology Reports*. – 2013. – Vol. 5. – P. 604-607.
408. Blanton, L. S. *The Rickettsioses: A Practical Update* / L. S. Blanton // *Infectious Disease Clinics of North America*. – 2019. – Vol. 33 (1). – P. 213-229.
409. Bloch, K. C. Predictors of tick-borne rickettsial disease among patients hospitalized with encephalitis / K. C. Bloch, Y. W. Tang, L. Hillstrom // *Infectious Diseases Society of America*. – San Francisco, CA: 2005.
410. Bloodstream invasion in early Lyme disease: results from a prospective, controlled, blinded study using the polymerase chain reaction / Goodman J. L., Bradley J. F., Ross A. E. [et al.]. // *American Journal of Medicine*. – 2013. – Vol. 99 (1). – P. 6-12.
411. Bogovic, P. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management / P. Bogovic, F. Strle // *World Journal of Clinical Cases*. – 2015. – Vol. 3 (5). – P. 430-441.
412. Bogovic, P. Tick-Borne Encephalitis (Chapter 3) / P. Bogovic, F. Strle // *Meningoencephalitis. Disease Which Requires Optimal Approach in Emergency Manner*. – IntechOpen: 2017. – P. 586-618.
413. Borde, J. P. TBE in Adults (Chapter 5) / J. P. Borde, J. Zajkowska // *The TBE-book* (5th edition). – Singapore: Global Health Press. – 2022. – P. 78-92.
414. *Borrelia burgdorferi* gene expression in vivo and spirochete pathogenicity / Anguita J., Samanta S., Revilla B. [et al.]. // *Journal of Infection and Immunity*. – 2000. – Vol. 27. – P. 493-504.
415. *Borrelia burgdorferi* in rodents (*Apodemus flavicollis* and *A. sylvaticus*): duration and enhancement of infectivity for *Ixodes ricinus* ticks / Gern L., Siegenthaler M., Hu C. M. [et al.]. // *European Journal of Epidemiology*. – 1994. – Vol. 10. – P. 75-80.
416. *Borrelia burgdorferi* in tick culture modulates expression of outer surface proteins A and C in response to temperature / Obonyo M., Munderloh U. G., Fingerle V. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1999. – Vol. 37. – P. 2137-2141.
417. *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in patients with peripheral facial palsy / Rojko T., Bogovič P., Lotrič-Furlan S. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2019. – Vol. 10. – P. 398-406.
418. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agent of Lyme disease / Johnson R. C., Schmid G. P., Hyde F. W. [et al.]. // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 1984. – Vol. 34. – P. 496-497.

419. Borrelia diversity and Co-infection with other tick-borne pathogens in ticks / Raileanu C., Moutailler S., Pavel I. [et al.]. // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2017. – Vol. 7. – P. 36.
420. *Borrelia lonestari* DNA in adult *Amblyomma americanum* ticks, Alabama / Burkot T. R., Mullen G. R., Anderson R. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2001. – Vol. 7 (3). – P. 471-473.
421. Borrelia miyamotoi: a widespread tick-borne relapsing fever spirochete / A. Wagemakers, P. Staarink, H. Sprong, J. Hovius // *Trends in Parasitology*. – 2015. – Vol. 31 (6). – P. 260-269.
422. Borrelia miyamotoi disease in the Northeastern United States: a case series / Molloy P. J., Telford S. R., Chowdri H. R. [et al.]. // *Annals of Internal Medicine*. – 2015. – Vol. 163 (2). – P. 91-96.
423. Borrelia miyamotoi disease: neither lyme disease nor relapsing fever / Telford S. R., Goethert H. K., Molloy P. J. [et al.]. // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. – 2015. – Vol. 35 (4). – P. 867-882.
424. Borrelia miyamotoi infection in nature and in humans / P. Krause, D. Fish, S. Narasimhan, A. Barbour // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2015. – Vol. 21 (7). – P. 631-639.
425. *Borrelia miyamotoi* meningoencephalitis in an immunocompetent patient / Gandhi S., Narasimhan S., Workineh A. [et al.]. // *Open Forum Infectious Diseases*. – 2022. – Vol. 9 (7). – P. 295.
426. Borrelia miyamotoi presenting as human granulocytic anaplasmosis. A case report / Chowdri H. R., Gugliotta J. L., Berardi V. P. [et al.] // *Annals of Internal Medicine*. – 2013. – Vol. 159 (1). – P. 21-27.
427. Bothamley, G. Drug treatment for tuberculosis during pregnancy: safety considerations / G. Bothamley // *Drug Safety*. – 2001. – Vol. 24. – P. 553-565.
428. Brady, R. C. Renal, hepatic, and marrow dysfunction in a patient with chronic renal insufficiency / R. C. Brady, J. J. Bissler // *Pediatric Nephrology*. – 2003. – Vol. 18. – P. 293-296.
429. Brachial plexopathy associated with human granulocytic ehrlichiosis / Horowitz H. W., Marks S. J., Weintraub M. [et al.]. // *Neurology*. – 1996. – Vol. 46. – P. 1026-1029.
430. Bridging of cryptic Borrelia cycles in European songbirds / Heylen D., Krawczyk A., Lopes de Carvalho I. [et al.]. // *Environmental Microbiology*. – 2017. – Vol. 19. – P. 1857-1867.
431. Brisson, D. A modest model explains the distribution and abundance of Borrelia burgdorferi strains / D. Brisson, D. E. Dykhuizen // *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. – 2006. – Vol. 74. – P. 615-622.

432. Brisson, D. Conspicuous impacts of inconspicuous hosts on the Lyme disease epidemic / D. Brisson, D. E. Dykhuizen, R. S. Ostfeld // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2008. – Vol. 275. – P. 227-235.
433. Broadly protective multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis, developed based on surface shaping of the C-terminal fragment / Nayak A., Schüller W., Seidel S. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 2020. – Vol. 88 (4). – P. e00917-19.
434. Bröker, M. After a tick bite in a tick-borne encephalitis virus-endemic area: current positions about post-exposure treatment / M. Bröker, H. Kollaritsch // *Vaccine*. – 2008. – Vol. 26 (7). – P. 863-868.
435. Brouqui, P. In vitro antibiotic susceptibility of the newly recognized agent of ehrlichiosis in humans, *Ehrlichia chaffeensis* / P. Brouqui, D. Raoult // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 1992. – Vol. 36. – P. 2799-2803.
436. Brown, R. N. Sylvatic maintenance of *Borrelia burgdorferi* (Spirochaetales) in northern California: untangling the web of transmission / R. N. Brown, M. A. Peot, R. S. Lane // *Journal of Medical Entomology*. – 2006. – Vol. 43. – P. 743-751.
437. Broz, P. Molecular mechanisms of inflammasome activation during microbial infections / P. Broz, D. M. Monack // *Immunological Reviews*. – 2011. – Vol. 243. – P. 174-190.
438. Bujak, D. I. Clinical and neurocognitive features of the post Lyme syndrome / D. I. Bujak, A. Weinstein, R. L. Dornbush // *Journal of Rheumatology*. – 1996. – Vol. 23 (8). – P. 1392-1397.
439. Bunikis, J. Laboratory testing for suspected Lyme disease / J. Bunikis, A. G. Barbour // *Medical Clinics of North America*. – 2002. – Vol. 86. – P. 311-339.
440. Burgdorfer, W. Erythema chronicum migrans – a tickborne spirochetosis / W. Burgdorfer, A. G. Barbour, S. F. Hayes // *Acta Tropica*. – 1983. – Vol. 40 (1). – P. 79-83.
441. Burkot, T. R. Use of a sentinel host system to study the questing behavior of *Ixodes spinipalpis* and its role in the transmission of *Borrelia bissettii*, human granulocytic ehrlichiosis, and *Babesia microti* / T. R. Burkot, G. O. Maupin, B. S. Schneider // *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. – 2001. – Vol. 65. – P. 293-299.
442. Cadavid, D. Neuroborreliosis during relapsing fever: review of the clinical manifestations, pathology, and treatment of infections in humans and experimental animals / D. Cadavid, A. G. Barbour // *Clinical Infectious Diseases*. – 1998. – Vol. 26 (1). – P. 151-164.
443. Cadavid, D. Coinfection with *Borrelia turicatae* serotype 2 prevents the severe vestibular dysfunction and earlier mortality caused by serotype 1 / D. Cadavid, E. Garcia, H. Gelderblom // *Journal of Infectious Diseases*. – 2007. – Vol. 195. – P. 1686-1693.
444. Can ELISPOT be applied to a clinical setting as a diagnostic utility for neuroborreliosis? / Nordberg M., Forsberg P., Nyman D. [et al.]. // *Cell*. – 2012. – Vol. 1 (4). – P. 153-167.

445. Candidatus *Neoehrlichia mikurensis*' in Europe / Portillo A., Santibáñez P., Palomar A. M. [et al.]. // *New Microbes and New Infections*. – 2018. – Vol. 22. – P. 30-36.
446. Carriveau, A. Lyme disease / A. Carriveau, H. Poole, A. Thomas // *Nursing Clinics of North America*. – 2019. – Vol. 54 (2). – P. 261-275.
447. Casjens, S. *Borrelia* genomes in the year 2000 / S. Casjens // *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. – 2000. – Vol. 2. – P. 401-410.
448. Casjens, S. R. Genome stability of Lyme disease spirochetes: comparative genomics of *Borrelia burgdorferi* plasmids / S. R. Casjens, E. F. Mongodin, W. G. Qiu // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7 (3). – P. e33280.
449. Castellaw, A. H. Tick-borne disease agents in various wildlife from Mississippi / A. H. Castellaw, E. F. Cheney, A. S. Varela-Stokes // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. – 2011. – Vol. 11 (4). – P. 439-442.
450. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Concerns regarding a new culture method for *Borrelia burgdorferi* not approved for the diagnosis of Lyme disease / Nelson C., Hojvat S., Johnson B. [et al.]. // *Morbidity and Mortality Weekly Report*. – 2014. – Vol. 63 (15). – P. 33.
451. Central nervous system manifestations of human ehrlichiosis / Ratnasamy N., Everett E. D., Roland W. E. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 1996. – Vol. 23. – P. 314-319.
452. Chan, K. Sensitive multiplex PCR assay to differentiate Lyme spirochetes and emerging pathogens *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* / K. Chan, S. A. Marras, N. Parveen // *BMC Microbiology*. – 2013. – Vol. 13. – P. 295.
453. Characterization of a siberian virus isolated from a patient with progressive chronic tick-borne encephalitis / T. S. Gritsun, T. V. Frolova, A. I. Zhankov [et al.]. // *Journal of Virology*. – 2003. – Vol. 77 (1). – P. 25-36.
454. Characterisation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato strains isolated from patients with skin manifestations of Lyme borreliosis residing in Slovenia / Ruzic-Sabljić E, Strle F, Cimperman J. [et al.]. // *Journal of Medical Microbiology*. – 2000. – Vol. 49. – P. 47-53.
455. Characterization of *Borrelia burgdorferi* strains in Lyme arthritis / H. Eiffert, A. Karsten, R. Thomssen, H. Christen // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. – 1998. – Vol. 30. – P. 265-268.
456. Characterization of ehrlichial organisms isolated from a wild mouse / Kawachara M., Suto C., Rikihisa Y. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1993. – Vol. 31. – P. 89-96.
457. Characterization of Lyme borreliosis isolates from patients with erythema migrans and neuroborreliosis in southern Sweden / Ornstein K., Berglund J., Nilsson I. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2001. – Vol. 39 (4). – P. 1294-1298.

458. Characterization of tick-borne encephalitis virus from Estonia / Golovljova I., Vene S., Sjolander K. B. [et al.]. // *Journal of Medical Virology*. – 2004. – Vol. 74. – P. 580-588.
459. Chemokine signatures in the skin disorders of Lyme borreliosis in Europe: predominance of CXCL9 and CXCL10 in erythema migrans and acrodermatitis and CXCL13 in lymphocytoma / Mullegger R. R., Means T. K., Shin J. J. [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2007. – Vol. 75. – P. 4621-4628.
460. Chen, S. M. Western immunoblotting analysis of the antibody responses of patients with human monocytotropic ehrlichiosis to different strains of *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia canis* / S. M. Chen, L. C. Cullman, D. H. Walker // *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. – 1997. – Vol. 4. – P. 731-735.
461. Chidumayo, N. N. Evaluation of the European tick-borne encephalitis vaccine against Omsk hemorrhagic fever virus / N. N. Chidumayo, K. Yoshii, H. Kariwa // *Medical Microbiology and Immunology*. – 2014. – Vol. 58 (2). – P. 112-118.
462. Chimita-Dobler, L. Transmission / Natural cycle (Chapter 3) / L. Chimita-Dobler, U. Mackenstedt, O. Kahl. // *The TBE-book (5th edition)*. – Singapore: Global Health Press, 2022. – P. 48-64.
463. Choi, K. S. Msp2 variation in *Anaplasma phagocytophilum* in vivo does not stimulate Tcell immune responses or interferon-gamma production / K. S. Choi, D.G. Scorpio, N.C. Barat // *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. – 2007. – Vol. 49. – P. 374-386.
464. Christova, I. S. Human granulocytic ehrlichiosis in Bulgaria / I. S. Christova, J. S. Dumler // *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. – 1999. – Vol. 60. – P. 58-61.
465. Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis / Bakken J. S., Krueth J., Wilson-Nordskog C. [et al.] // *Journal of the American Medical Association*. – 1996. – Vol. 275. – P. 199-205.
466. Clinical findings for patients with Lyme borreliosis caused by *Borrelia burgdorferi sensu lato* with genotypic and phenotypic similarities to strain 25015 / Strle F., Picken R. N., Cheng Y. [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 1997. – Vol. 25. – P. 273-280.
467. Clinical manifestations, epidemiology, and laboratory diagnosis of human monocytotropic ehrlichiosis in a commercial laboratory setting / Olano J. P., Hogrefe W., Seaton B. [et al.]. // *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. – 2003. – Vol. 10. – P. 891-896.
468. Cloning and characterization of multigenes encoding the immunodominant 30-kilodalton major outer membrane proteins of *Ehrlichia canis* and application of the recombinant protein for serodiagnosis / Ohashi N., Unver A., Zhi N. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1998. – Vol. 36. – P. 2671-2680.

469. Coinfections acquired from Ixodes ticks / Swanson S., Neitzel D., Reed K., Belongia E. // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2006. – Vol. 19 (4). – P. 708-727.
470. Co-infections in persons with early Lyme disease, New York, USA / Wormser G. P., McKenna D., Scavarda C. [et al.]. // *Emerging Infection Diseases*. – 2019. – Vol. 25 (4). – P.748-752.
471. Co-infections with *Borrelia* species, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in patients with tick-borne encephalitis / Moniuszko A., Dunaj J., Swiecicka I. [et al.]. // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 33. – P. 1835-1841.
472. Colorimetric in vitro susceptibility testing of penicillins, cephalosporins, macrolides, streptogramins, tetracyclines, and aminoglycosides against *Borrelia burgdorferi* isolates / Hunfeld K. P., Kraiczy P., Wichelhaus T. A. [et al.]. // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2000. – Vol. 15. – P. 11-17.
473. Comparative analysis of complete genome sequences of European subtype tick-borne encephalitis virus strains isolated from *Ixodes persulcatus* ticks, long-tailed ground squirrel (*Spermophilus undulatus*), and human blood in the Asian part of Russia / Demina T. V., Tkachev S. E., Kozlova I. V. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2017. – Vol. 8. – P. 547-553.
474. Comparison of *Ehrlichia muris* strains isolated from wild mice and ticks and serologic survey of humans and animals with *E. muris* as antigen / Kawachara M., Ito T., Suto C. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1999. – Vol. 37 (4). – P. 1123-1129.
475. Comparison of findings for patients with *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* isolated from cerebrospinal fluid / Strle F., Ruzic-Sabljić E., Cimperman J. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 43. – P. 704-710.
476. Comparison of immunogenicity and safety between two paediatric TBE vaccines / Pöllabauer E. M., Pavlova B. G., Löw-Baselli A. [et al.]. // *Vaccine*. – 2010. – Vol. 28 (29). – P. 4680-4685.
477. Complete genome sequence analysis of tick-borne encephalitis viruses isolated in northeastern China / Si B-Y., Jiang T., Zhang Y. [et al.]. // *Archives of Virology*. – 2011. – Vol. 156. – P. 1485-1488.
478. Complete genome sequence of *Ehrlichia muris* strain AS145T, a model monocytotropic *Ehrlichia* strain / N. Thirumalapura, X. Qin, J. Kuriakose, D. Walker // *Genome Announcements*. – 2014. – Vol. 2 (1). – P. e01234-13.
479. Complete Genome Sequences of Four European Subtype Strains of Tick-Borne Encephalitis Virus from Eastern Siberia, Russia / Adelshin R.V., Melnikova O.V., Karan L.S. [et al.]. // *Genome Announcements*. 2015. – Vol. 3. – P. e00609-15.

480. Complete sequence of two tick-borne flavivirus isolated from Siberia and the UK: analysis and signification of the 5' and 3'-UTRs / Gritsun T. S., Venugopal K., Zanotto P. M. [et al.]. // *Virus Research*. – 1997. – Vol. 49. – P. 27-39.
481. Comprehensive assessment of the genetics and virulence of tick-borne encephalitis virus strains isolated from patients with inapparent and clinical forms of the infection in the Russian Far East / G. Leonova, S. Belikov, I. Kondratov, I. Takashima // *Virology*. – 2013. – Vol. 443. – P. 89-98.
482. Concurrent Lyme disease and babesioses. Evidence for increased severity and duration of illness / Krause P. J., Telford S. R., Spielman A. [et al.]. // *Journal of the American Medical Association*. – 1996. – Vol. 275 (21). – P. 1657-1660.
483. Course and outcome of early European Lyme neuroborreliosis (Bannwarth's syndrome) – clinical and laboratory findings / Ogrinc K., Lusa L., Lotric-Furlan S. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 63. – P. 346-53.
484. Course of *Borrelia burgdorferi* DNA shedding in urine after treatment / E. Aberer, A. Bergmann, A. Derler, B. Schmidt // *Acta Dermato-Venereologica*. – 2007. – Vol. 87 (1). – P. 39-42.
485. Critical evaluation of urine-based PCR assay for diagnosis of Lyme Borreliosis Rauter C., Mueller M., Diterich I. [et al.]. // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2005. – Vol. 12 (8). – P. 910-917.
486. Cross-neutralisation of viruses of the tick-borne encephalitis complex following tick-borne encephalitis vaccination and/or infection / McAuley A. J., Sawatsky B., Ksiazek T. [et al.]. // *NPJ Vaccines*. – 2017. – Vol. 2. – P. 5.
487. Cross-reacting antibodies enhance Dengue virus infection in humans / Dejnattisai W., Jumnainsong A., Onsirisakul N. [et al.]. // *Science*. – 2010. – Vol. 328. – P. 745-748.
488. Cultivation and characterization of spirochetes from cerebrospinal fluid of patients with Lyme borreliosis / M. Karlsson, K. Hovind-Hougen, B. Svenungsson, G. Stiernstedt // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1990. – Vol. 28 (3). – P. 473-479.
489. Culture-confirmed reinfection of a person with different strains of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* / Golde W. T., Robinson-Dunn B., Stobierski M. G. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1998. – Vol. 36. – P. 1015-1019.
490. Current Guidelines, Common Clinical Pitfalls, and Future Directions for Laboratory Diagnosis of Lyme Disease, United States / Moor A., Nelson C., Molins C. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 22 (7). – P. 1169-1177.
491. Current Status of Tick-Borne Diseases in South Korea / Im J. H., Baek J., Durey A. [et al.]. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. – 2019. – Vol. 19 (4). – P. 225-233.

492. Cutaneous Lyme borreliosis: guideline of the German Dermatology Society / Hofmann H., Fingerle V., Hunfeld K. [et al.]. // German Medical Science. – 2017. – Vol. 15. – doi: 10.3205/000255.
493. Cytokine Gene Expression by Peripheral Blood Leukocytes in Horses Experimentally Infected with *Anaplasma phagocytophila* / H. Y. Kim, J. Mott, N. Zhi [et al.] // Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. – 2002. – Vol. 9 (5). – P. 1079-1084.
494. Dana, A. N. Diagnosis and treatment of tick infestation and tick-borne diseases with cutaneous manifestations / A. N. Dana // Dermatologic Therapy. – 2009. – Vol. 22. – P. 293-326.
495. Dawson, J. E. Clinical Spectrum of Disease Due to *Ehrlichia chaffeensis*: Case Reports and Review / J. E. Dawson, A. M. Marty // Pathology of Emerging Infections. – Washington, DC: ASM PRESS, 1995. – P. 49-59.
496. Decorin-binding protein A (DbpA) of *Borrelia burgdorferi* is not protective when immunized mice are challenged via tick infestation and correlates with the lack of DbpA expression by *B. burgdorferi* in ticks / Hagman K., Yang X., Wikel S. [et al.]. // Infection and Immunity. – 2000. – Vol. 68 (8). – P. 4759-4764.
497. Deer ticks (*Ixodes scapularis*) and the agents of Lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in a New York City park / Daniels T. J., Falco R. C., Schwartz I. [et al.]. // Emerging Infectious Diseases. – 1997. – Vol. 3. – P. 353-355.
498. Dennis, D. T. Relapsing fever / D. T. Dennis, E. B. Hayes // Harrison's Principles of Internal Medicine (16th edition). – New York: McGraw-Hill, 2005. – P. 991-995.
499. Derdakova, M. Interaction and transmission of two *Borrelia burgdorferi* sensu stricto strains in a tick-rodent maintenance system / M. Derdakova, V. Dudioak, B. Brei // Journal of Applied and Environmental Microbiology. – 2004. – Vol. 70. – P. 6783-6788.
500. Des Vignes, F. Transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis by host seeking *Ixodes scapularis* in southern New York State / F. Des Vignes, D. Fish // Journal of Medical Entomology. – 1997. – Vol. 34. – P. 379-382.
501. Detection and characterization of tick-borne encephalitis virus in Baltic countries and eastern Poland / Katargina O., Russakova S., Geller J. [et al.]. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8 (5). – P. e61374.
502. Detection and genetic characterization of a wide range of infectious agents in *Ixodes pavlovskyi* ticks in Western Siberia, Russia / Rar V., Livanova N., Tkachev S. [et al.]. // Parasites and Vectors. – 2017. – Vol. 10 (1). – P. 258.
503. Detection of a rickettsia closely related to *Rickettsia aeschlimannii*, "*Rickettsia heilongjiangensis*," *Rickettsia* sp. strain RpA4, and *Ehrlichia muris* in ticks collected in Russia

- and Kazakhstan / Shpynov S., Fournier P.E., Rudakov N. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2004. – Vol. 42 (5). – P. 2221-2223.
504. Detection of *Borrelia burgdorferi* nucleic acids after antibiotic treatment does not confirm viability / Iyer R., Mukherjee P., Wang K. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2013. – Vol. 51(3). – P.857-862.
505. Detection of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* by reverse line blot in the joints of Dutch patients with Lyme arthritis / van der Heijden I. M., Wilbrink B., Rijpkema S. G. [et al.]. // *Arthritis Rheumatoid*. – 1999. – Vol. 42. – P. 1473-1480.
506. Detection of causative agents in *Ixodes persulcatus* in the Komi Republic / Glushakova L., Korabel'nikov I. V., Ternovoi V. A. [et al.]. // *Journal of Siberian Medical Sciences*. – 2012. – Vol. 111. – P. 88-91.
507. Detection of *Ehrlichia muris* DNA from sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in Hokkaido, Japan / Tamamoto C., Seino N., Suzuki M. [et al.]. // *Veterinary Parasitology*. – 2007. – Vol. 25. – P. 370-373.
508. Detection of human pathogenic *Ehrlichia muris*-like agent in *Peromyscus leucopus* / Castillo C. G., Eremeeva M. E., Paskewitz S. M. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2015. – Vol. 6. – P. 155-157.
509. Detection of medically important *Ehrlichia* by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the *dsb* gene / Doyle C. K., Labruna M. B., Breitschwerdt E. B. [et al.]. // *Journal of Molecular Diagnostics*. – 2005. – Vol. 7. – P. 504-510.
510. Detection of natural foci of babesiosis and granulocytic ehrlichiosis in Russia / Telford S. R., Korenberg E.I., Goethert H.K. [et al.]. // *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii*. – 2002. – Vol. 6. – P. 21-25.
511. Detection of plasma tumor necrosis factor, interleukins 6, and 8 during the Jarisch-Herxheimer Reaction of relapsing fever. / Negussie Y., Remick D. G., DeForge L. E. [et al.]. // *Journal of Experimental Medicine*. – 1992. – Vol. 175. – P. 1207-1212.
512. Detection of tick-borne pathogens in ticks collected in the suburban area of Monte Romano, Lazio Region, Central Italy / Mancini F., Vescio M. F., Toma L. [et al.]. // *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*. – 2019. – Vol. 55 (2). – P. 143-150.
513. Development and optimization of an in vitro cultivation protocol allows for isolation of *Borrelia miyamotoi* from patients with hard tick-borne relapsing fever / Koetsveld J., Kolyasnikova N. M., Wagemakers A. [et al.]. // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2017. – Vol. 23 (7). – P. 480-484.
514. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis – United States: a practical guide for physicians and other

- health-care and public health professionals / Chapman A. S., Bakken J. S., Folk S. M. [et al.]. // *Morbidity and Mortality Weekly Report*. – 2006. – Vol. 55 (RR-4). – P. 1-27.
515. Diagnosis of early Lyme disease by polymerase chain reaction amplification and culture of skin biopsy from erythema migrans lesions / Schwartz I., Wormser G. P., Schwartz J. J. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1992. – Vol. 30 (2). – P. 3082-3088.
516. Diagnosis of Lyme borreliosis / M. Aguero-Rosenfeld, G. Wang, I. Schwartz, G. Wormser // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2005. – Vol. 18 (3). – P. 484-509.
517. Diagnostic value of PCR for detection of *Borrelia burgdorferi* in skin biopsy and urine samples from patients with skin borreliosis / S. Brettschneider, H. Bruckbauer, N. Klugbauer, H. Hofmann // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1998. – Vol. 36 (9). – P. 2658-2665.
518. Diagnostik und Therapie der Lyme-Arthritis. Empfehlungen der Kommission Pharmakotherapie der DGRh / Gaubitz M., Dressler F., Huppertz H., Krause A. // *Zeitschrift für Rheumatologie*. – 2014. – Vol. 73 (5). – P. 469-474.
519. Dierberg, K. L. Lymph node hemophagocytosis in rickettsial diseases: a pathogenetic role for CD8 T lymphocytes in human monocytic ehrlichiosis (HME)? / K. L. Dierberg, J. S. Dumler // *BMC Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 6. – P. 121.
520. Differential expression of outer surface proteins A and C by individual *Borrelia burgdorferi* in different genospecies / Fingerle V., Laux H., Munderloh U. G. [et al.]. // *Medical Microbiology and Immunology*. – 2000. – Vol. 189 (2). – P. 59-66.
521. Differential role of passerine birds in distribution of *Borrelia spirochetes*, based on data from ticks collected from birds during the postbreeding migration period in Central Europe / Dubska L., Literak I., Kocianova E. [et al.]. // *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. – 2009. – Vol. 75. – P. 596-602.
522. Differential transmission of the genospecies of *Borrelia burgdorferi sensu lato* by game birds and small rodents in England / Kurtenbach K., Peacey M., Rijpkema S. G. [et al.]. // *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. – 1998. – Vol. 64. – P. 1169-1174.
523. Diminished hematopoietic activity associated with alterations in innate and adaptive immunity in a mouse model of human monocytic ehrlichiosis / MacNamara K. C., Racine R., Chatterjee M. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 2009. – Vol. 77. – P. 4061-4069.
524. Direct molecular typing of *Borrelia burgdorferi sensu lato* species in synovial samples from patients with Lyme arthritis / Jaulhac B., Heller R., Limbach F. X. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2000. – Vol. 38. – P. 1895-900.
525. Disease-specific diagnosis of coinfecting tickborne zoonoses: babesiosis, human granulocytic ehrlichiosis, and Lyme disease / Krause P., McKay K., Thompson C. A. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2002. – Vol. 34. – P. 1184-1191.

526. Dissociation between inhibition and killing by levofloxacin in human granulocytic anaplasmosis / Wormser G. P., Filozov A., Telford S. R. [et al.]. // *Vector-borne and Zoonotic Diseases*. – 2006. – Vol. 6. – P. 388-394.
527. Dissociation of infectivity and pathogenicity in *Borrelia burgdorferi* / Thomas V., Anguita J., Samanta S. [et al.]. // *Journal of Infection and Immunity*. – 2001. – Vol. 69. – P. 3507-3509.
528. Distribution of *Ixodes ricinus*-like ticks of eastern North America / Rich S. M., Caporale D. A., Telford S. R. [et al.]. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1995. – Vol. 92. – P. 6284-6288.
529. Distribution of *Ixodes ricinus* ticks and prevalence of tick-borne encephalitis virus among questing ticks in the Arctic Circle region of northern Norway / Soleng A., Edgar K. S., Paulsen K. M. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2018. – Vol. 9 (1). – P. 97-103.
530. DNA persistence after treatment of Lyme borreliosis / Pícha D., Moravcová L., Vaňousová D. [et al.]. // *Folia Microbiologica*. – 2014. – Vol. 59 (2). – P. 115-125.
531. Dobler, G. General epidemiology of TBE (Chapter 11) / G. Dobler, S. Tkachev // *The TBE-book* (5th edition). – Singapore: Global Health Press, 2022. – P. 142-154.
532. Donoso-Mantke, O. Tick-Borne Encephalitis Virus: A General Overview / O. Donoso-Mantke, L. S. Karan, D. Růžek // *Flavivirus Encephalitis*. – Czech Republic: 2011. – P. 133-156.
533. Dumler, J. S. Ehrlichial diseases of humans: emerging tick-borne infections / J. S. Dumler, J. S. Bakken // *Clinical Infectious Diseases*. – 1995. – Vol. 20. – P. 1102-1110.
534. Dumler, J. S. Tick-borne ehrlichioses / J. S. Dumler, D. H. Walker // *Lancet Infectious Diseases*. – 2001. – Vol. 1. – P. 21-28.
535. Dumler, J. S. Anaplasma and ehrlichia infection / J. S. Dumler // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2005. – Vol. 1063. – P. 361-373.
536. Dumpis, U. Tick-borne encephalitis / U. Dumpis, D. Crook, J. Oksi // *Clinical Infectious Diseases*. – 1999. – Vol. 28 (4). – P. 882-890.
537. Dunphy, P. S. Ehrlichia moonlighting effectors and interking-dom interactions with the mononuclear phagocyte / P. S. Dunphy, T. Luo, J. W. McBride // *Microbes and Infection*. – 2013. – Vol. 15. – P. 1005-1016.
538. Duration of antibiotic therapy for early Lyme disease. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial / Wormster G. P., Ramanathan R., Nowakowski J. [et al.]. // *Annals of Internal Medicine*. – 2003. – Vol. 138 (9). – P. 697-704.
539. Dynamics, co-infections and characteristics of zoonotic tick-borne pathogens in Hokkaido small mammals, Japan / Mohamed Moustafa M. A., Taylor K., Nakao R. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne diseases*. – 2016. – Vol. 7. – P. 922-928.

540. Dynamics of spirochetemia and early PCR detection of *Borrelia miyamotoi* / Karan L., Makenov M., Kolyasnikova N. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2018. – Vol. 24 (5). – P. 860-867.
541. EAN consensus review on prevention, diagnosis and management of tick-borne encephalitis / Taba P., Schmutzhard E., Forsberg P. [et al.]. // *European Journal of Neurology*. – 2017. – Vol. 24 (10). – P. 1214-e61.
542. Ecological research on *Borrelia burgdorferi* sensu lato: terminology and some methodological pitfalls / O. Kahl, L. Gern, L. Eisen, R. Lane // *Lyme borreliosis: biology, epidemiology and control*. – Wallingford, UK: CABI Publishing, 2002. – P. 29-46.
543. Ecology and molecular epidemiology of tick-borne rickettsioses and anaplasmoses with natural foci in Russia and Kazakhstan / Shpynov S., Fournier P. E., Rudakov N. [et al.]. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 1078. – P. 299-304.
544. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe: transmission dynamics in multi-host systems, influence of molecular processes and effects of climate change / A. Mannelli, L. Bertolotti, L. Gern, J. Gray // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2012. – Vol. 36. – P. 837-861.
545. EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis / Mygland Å., Ljøstad U., Fingerle V. [et al.]. // *European Journal of Neurology*. – 2010. – Vol. 17 (1). – P. 8-16.
546. Efficacy of *Borrelia burgdorferi* vaccine in dogs in North America: A systematic review and meta-analysis / N. Vogt, J. Sargeant, M. MacKinnon, A. Versluis // *Journal of Veterinary Internal Medicine*. – 2018. – Vol. 33. – P. 23-36.
547. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen / Paddock C. D., Childs J. E. [et al.]. // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2003. – Vol. 16. – P. 37-64.
548. *Ehrlichia chaffeensis* seroprevalence among children in the southeast and south-central regions of the United States / Marshall G. S., Jacobs R. F., Schutze G. E. [et al.] // *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*. – 2002. – Vol. 156. – P. 166-170.
549. *Ehrlichia* infection in Italy / Nuti M., Serafini D. A., Basetti D. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 1998. – Vol. 4. – P. 663-665.
550. *Ehrlichia minasensis* sp. nov., a new species within the genus *Ehrlichia* isolated from the tick *Rhipicephalus microplus* / Cabezas-Cruz A., Zwegarth E., Vancova M., [et al.]. // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2016. – Vol. 66 (3). – P. 1426-1430.
551. *Ehrlichia muris* sp. nov., identified on the basis of 16S rRNA base sequences and serological, morphological, and biological characteristics / Wen B., Rikihisa Y., Mott J. [et al.].

- // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 1995. – Vol. 45. – P. 250-254.
552. Ehrlichia phagocytophila genogroup rickettsia in Ixodid ticks from California collected in 1995 and 1996 / Barlough J. E., Madigan J. E., Kramer V. L. [et al.]. // Journal of Clinical Microbiology. – 1997. – Vol. 35. – P. 2018-2021.
553. Ehrlichia sennetsu groE operon and antigenic properties of the GroEL homolog / Zhang Y., Ohashi N., Lee E. H. [et al.]. // FEMS Immunology and Medical Microbiology. – 1997. – Vol. 18. – P. 39-46.
554. Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment / J. Dumler, J. Madigan, N. Pusterla, J. Bakken // Clinical Infectious Diseases. – 2007. – Vol. 45 (Suppl 1). – P. 45-51.
555. Eliasson, I. Does human ehrlichiosis exist in Sweden? / I. Eliasson, A. Björnsdorff // Lakartidningen. – 1997. – Vol. 94. – P. 3487-3488.
556. Embers, M. E. Vaccination against Lyme disease: past, present, and future / M. E. Embers, S. Narasimhan // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2013. – Vol. 3. – P. 6.
557. Emergence of a new pathogenic Ehrlichia species, Wisconsin and Minnesota 2009 / Pritt B. S., Sloan L. M., Johnson D. K. [et al.]. // New England Journal of Medicine. – 2011. – Vol. 365. – P. 422-429.
558. Emergence of tick-borne encephalitis in new endemic areas in Austria: 42 years of surveillance / Heinz F. X., Stiasny K., Holzmann H. [et al.]. // Eurosurveillance. – 2015. – Vol. 20 (13). – P. 9-16.
559. Emergence of Lyme arthritis after autologous chondrocyte transplantation / Marlovits S., Khanakah G., Striessnig G. [et al.]. // Arthritis Rheumatoid. – 2004. – Vol. 50. – P. 259-264.
560. Emerging pathogens: challenges and successes of molecular diagnostics / Dong J., Olano J. P., McBride J. W. [et al.]. // Journal of Molecular Diagnostics. – 2008. – Vol. 10. – P. 185-197.
561. Emerging Tick-Borne Diseases / S. Madison-Antenucci, L. Kramer, L. Gebhardt, E. Kauffman // Clinical Microbiology Reviews. – 2020. – Vol. 33 (2). – P. e00083-18.
562. Epidemic spread of Lyme borreliosis, northeastern United States / Hanincova K., Kurtenbach K., Diuk-Wasser M. [et al.]. // Emerging Infectious Diseases. – 2006. – Vol. 12. – P. 604-611.
563. Epidemiological survey of tick-borne encephalitis virus and Anaplasma phagocytophilum co-infections in patients from regions of the Czech Republic endemic for tick-borne diseases /

- Zeman P., Pazdiora P., Chmelik V. [et al.]. // Wiener klinische Wochenschrift. – 2007. – Vol. 119 (17-18). – P. 538-543.
564. Epidemiology and distribution of tick-borne encephalitis / G. Dobler, D. Gniel, R. Petermann, M. Pfeffer // Wiener Medizinische Wochenschrift. – 2012. – Vol. 162. – P. 230-238.
565. Epidemiology of human ehrlichiosis and anaplasmosis in the United States, 2001-2002 / Demma L. J, Holman R. C, McQuiston J. H. [et al.]. // American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. – 2005. – Vol. 73. – P. 400-409.
566. Epidemiology of tick-borne encephalitis (TBE) in Europe and its prevention by available vaccines / Amicizia D., Domnich A., Panatto D. [et al.]. // Human Vaccines and Immunotherapeutics. – 2013. – Vol. 9 (5). – P. 1163-1171.
567. Erber, W. Self-reported tick-borne encephalitis (TBE) vaccination coverage in Europe: Results from a cross-sectional study / W. Erber, H. J. Schmitt // Ticks and Tick-borne Diseases. – 2018. – Vol. 9 (4). – P. 768-777.
568. Erber, W. TBE-epidemiology by country – an overview (Chapter 12a) / W. Erber, H-J. Schmitt, T. Vuković-Janković // The TBE Book (5th edition). – Singapore: Global Health Press, 2022. – P. 155-173.
569. Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis. The enlarging clinical spectrum / Steere A., Malawista S., Hardin A. [et al.]. // Annals of Internal Medicine. – 1977. – Vol. 86. – P. 685-698.
570. Epidemiology of Lyme Disease in a Highly Endemic European Zone / Petrulionienė A., Radzišauskienė D., Ambrozaitis A., [et al.]. // Medicina. – 2020. – Vol. 56 (3). – P. 115.
571. Esemu, S. N. Ehrlichia species, probable emerging human pathogens in sub-Saharan Africa: environmental exacerbation / S. N. Esemu, L. M. Ndip, R. N. Ndip // Reviews on Environmental Health. – 2011. – Vol. 26. – P. 269-279.
572. European Centre for Disease Prevention and Control (Current and future burden of communicable diseases in the European Union and EEA/EFTA countries – Methodology Protocol): сайт. – 2011. URL: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/1106_ter_burden_of_disease.pdf (дата обращения: 14.04.2013).
573. European reservoir hosts of *Borrelia burgdorferi* sensu lato / Gern L., Estrada-Pena A., Frandsen F. [et al.]. // Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene. – 1998. – Vol. 287. – P. 196-204.

574. European subtype tick-borne encephalitis virus in *Ixodes persulcatus* ticks / Jääskeläinen A. E., Tonteri E., Sironen T. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 17 (2). – P. 323-325.
575. Evaluation of an internally controlled real-time PCR targeting the *ospA* gene for detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* DNA in cerebrospinal fluid / J. Gooskens, K. Templeton, E. Claas, A. van Dam. // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2006. – Vol. 12 (9). – P. 894-900.
576. Evaluation of immune response and protective effect of four vaccines against the tick-borne encephalitis virus / Morozova O. V., Bakhvalova V. N., Potapova O. F. [et al.]. // *Vaccine*. – 2014. – Vol. 32 (25). – P. 3101-3106.
577. Evolution, epidemiology, and dispersal of flaviviruses revealed by molecular phylogenies / Gould E. A., de Lamballerie X., Zanotto P. M. [et al.]. // *Advances in Virus Research*. – 2001. – Vol. 57. – P. 71-103.
578. Experimental Evaluation of the Protective Efficacy of Tick-Borne Encephalitis (TBE) Vaccines Based on European and Far-Eastern TBEV Strains in Mice and *in Vitro* / Chernokhaeva L. L., Rogova Y. V., Kozlovskaya L. I. [et al.]. // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1487.
579. Expression of *Borrelia burgdorferi* OspC and DbpA is controlled by a RpoN-RpoS regulatory pathway / Hubner A., Yang X., Nolen D. M. [et al.]. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2001. – Vol. 98. – P. 12724-12729.
580. Fatal outcome of tick-borne encephalitis – a case series / Zajkowska J., Czupryna P., Pancewicz S. [et al.]. // *Neurologica i neurochirurgia polska*. – 2011. – Vol. 45 (4). – P. 402-406.
581. Fatal spotted fever rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil / Galvao M. A., Dumler J. S., Mafra C. L. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2003. – Vol. 9. – P. 1402-1405.
582. Felek, S. Transcriptional analysis of p30 major outer membrane protein genes of *Ehrlichia canis* in naturally infected ticks and sequence analysis of p30-10 of *E. canis* from diverse geographic regions / S. Felek, R. Greene, Y. Rikihisa // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2003. – Vol. 41. – P. 886-888.
583. Felsenstein, J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap / J. Felsenstein // *Evolution*. – 1985. – Vol. 39. – P. 783-791.
584. Fichtenbaum, C. J. Ehrlichiosis presenting as a lifethreatening illness with features of the toxic shock syndrome / C. J. Fichtenbaum, L. R. Peterson, G. J. Weil // *American Journal of Medicine*. – 1993. – Vol. 95. – P. 351-357.
585. Field effectiveness of vaccination against tick-borne encephalitis / Heinz F. X., Holzmann H., Essl A. [et al.]. // *Vaccine*. – 2007. – Vol. 25 (43). – P. 7559-7567.

586. First complete genomic characterization of two tick-borne encephalitis virus isolates obtained from wild rodents in South Korea / Yun S-M., Kim S. Y., Ju Y. R. [et al.]. // *Virus Genes*. – 2011. – Vol. 42 (3). – P. 307-316.
587. First reported case of Ehrlichia ewingii involving human bone marrow / Allen M. B., Pritt B. S., Sloan L. M. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2014. – Vol. 52. – P. 4102-4104.
588. Fitness variation of Borrelia burgdorferi sensu stricto strains in mice / Hanincova K, Ogden NH, Diuk-Wasser M. [et al.]. // *Journal of Applied and Environmental Microbiology*. – 2008. – Vol. 74. – P. 153-157.
589. Fraenkel, C. J. Determination of novel Borrelia genospecies in Swedish Ixodes ricinus ticks / C. J. Fraenkel, U. Garpmo, J. Berglund // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2002. – Vol. 40 (9). – P. 3308-3312.
590. From Q Fever to Coxiella burnetii Infection: a Paradigm Change / C. Eldin, Mélenotte C., Mediannikov O. [et al.]. // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2017. – Vol. 30 (1). – P. 115-190.
591. Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis / Kurtenbach K., Hanincova K, Tsao J. I. [et al.]. // *Nature Reviews Microbiology*. – 2006. – Vol. 4. – P. 660-669.
592. Gabello, F. C. Hidden in plain sight: Borrelia burgdorferi and the extracellular matrix / F. C. Gabello, H. P. Godfrey, S. A. Newman // *Trends in Microbiology*. – 2007. – Vol. 15 (8). – P. 350-354.
593. Garin, C. Paralysis by ticks / C. Garin, A. Bujadoux // *Clinical Infectious Diseases*. – 1993. – Vol. 16 (1). – P. 168-169.
594. Gender disparity between cutaneous and non-cutaneous manifestations of Lyme borreliosis / Strle F., Wormser G. P., Mead P. [et al.]. // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8 (5). – P. e64110.
595. Genetic and Biological Properties of Original TBEV Strains Group Circulating in Eastern Siberia / Kozlova I. V., Verkhzina M. M., Demina T. V. [et al.]. // *Encephalitis*. – InTech, 2013. – Vol. 95-112.
596. Genetic and phenotypic analysis of Borrelia miyamotoi sp. nov., isolated from the ixodid tick Ixodes persulcatus, the vector for Lyme disease in Japan / Fukunaga M., Takahashi Y., Tsuruta Y. [et al.]. // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 1995. – Vol. 45 (4). – P. 804-810.
597. Genetic characterisation of Powassan virus (POWV) isolated from Haemophysalis longicornis ticks in Primorye and two strains of Tick-borne encephalitis virus (TBEV) (Flaviviridae, Flavivirus): Alma-Arasan virus (AAV) isolated from Ixodes persulcatus ticks in Kazakhstan and Malyshevo virus isolated from Aedes vexans nipponii mosquitoes in

- Khabarovsk kray / L'vov D. K., Al'khovskii S. V., Shchelkanov M. [et al.]. // *Voprosy Virusologii*. – 2014. – Vol. 59. – P. 18-22.
598. Genetic diversity and geographical distribution of the Siberian subtype of the tick-borne encephalitis virus / Tkachev S. E., Babkin I. V., Chicherina G. S. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2020. – Vol. 11 (2). – P. 101327.
599. Genetic studies of tick-borne encephalitis virus strains from Western and Eastern Siberia / Tkachev S. E., Demina T. V., Dzhioev Y. P. [et al.]. // *Flavivirus Encephalitis*. – InTech, 2011. – P. 235-254.
600. Genomic sequence of a Lyme diseases spirochaete, *Borrelia burgdorferi* / Fraser C. M., Casjens S., Huang W. M., Sutton G. G. [et al.]. // *Nature*. – 1997. – Vol. 390. – P. 580-586.
601. Genotyping and characterization of the geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants with a set of molecular probes / Demina T. V., Dzhioev Y. P., Verkhozina M. M. [et al.]. // *Journal of Medical Virology*. – 2010. – Vol. 82. – P. 965-976.
602. Gern, L. Natural history of *Borrelia burgdorferi sensu lato* / L. Gern, P. F. Humair // *Wiener klinische Wochenschrift*. – 1998. – Vol. 110. – P. 856-858.
603. Gern, L. Ecology of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Europe / L. Gern, P. F. Humair // *Lyme borreliosis: biology, epidemiology and control*. – Wallingford: CABI Publishing, 2002. – P. 149-174.
604. Gern, L. Life cycle of *borrelia buegdorferi sensu lato* and transmission to humans / L. Gern // *Current problems in dermatology*. – 2009. – Vol. 37. – P. 18-30.
605. Glaser, C. Rickettsial and ehrlichial infections / C. Glaser, L. Christie, K. C. Bloch // *Handbook of Clinical Neurology*. – 2010. – Vol. 96. – P. 143-158.
606. Global proteomic analysis of two tick-borne emerging zoonotic agents: *Anaplasma phagocytophilum* and *ehrlichia chaffeensis* / Lin M., Kikuchi T., Brewer H. M. [et al.]. // *Frontiers in Microbiology*. – 2011. – Vol. 2. – P. 24.
607. Godzeski, C. Bacterial L-forms and clinical disease / C. Godzeski // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 1968. – Vol. 40. – P. 218-220.
608. Gould, E. A. Antibody-dependent enhancement of yellow fever and Japanese encephalitis virus neurovirulence / E. A. Gould, A. Buckley // *Journal of General Virology*. – 1989. – Vol. 70 (6). – P. 1605-1608.
609. Grab, D. J. Fibronectin-binding activity in *Borrelia burgdorferi* / D. J. Grab, C. Givens, R. Kennedy // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1998. – Vol. 1407. – P. 135-145.
610. Gritsun, T. S. Tick-borne encephalitis / T. S. Gritsun, V. A. Lashkevich, E. A. Gould // *Antiviral Research*. – 2003. – Vol. 57 (1-2). – P. 129-146.

611. Gritsun, T. S. Tick-borne flaviviruses / T. S. Gritsun, P. A. Nuttall, E. A. Gould // *Advances in virus research.* – 2003. – Vol. 61. – P. 317-371.
612. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy / Klionsky D. J., Abdalla F. C., Abeliovich H. [et al.]. // *Autophagy.* – 2012. – Vol. 8. – P. 445-544.
613. Gusman, M. G. The complexity of antibody-dependent enhancement of Denge virus infection / M. G. Gusman, S. Vazquez // *Viruses.* – 2010. – Vol. 2. – P. 2649-2662.
614. Haditsch, M. Tick-borne encephalitis: A disease neglected by travel medicine / M. Haditsch, U. Kunze // *Travel Medicine and Infectious Disease.* – 2013. – Vol. 11 (5). – P. 295-300.
615. Haglund, M. Tick-borne encephalitis—pathogenesis, clinical course and long-term follow-up / M. Haglund, G. Günther // *Vaccine.* – 2003. – Vol. 21. – Suppl 1. – P. 11-18.
616. Harkes, J. R. Ehrlichiosis / J. R. Harkes // *Infectious Disease Clinics of North America.* – 1991. – Vol. 5 (1). – P. 37-51.
617. Hawman, D. W. Recent advances in understanding Crimean-Congo hemorrhagic fever virus / D. W. Hawman, H. Feldmann // *Faculty Reviews.* – 2018. – Vol. 7. – P. 1-10.
618. Heinz, F. X. The Antigenic Structure of Zika Virus and Its Relation to Other Flaviviruses: Implications for Infection and Immunoprophylaxis / F. X. Heinz, K. Stiasny // *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* – 2017. – Vol. 81 (1). – P. e00055-16.
619. Hemocytic Rickettsia-like organisms in ticks: serologic reactivity with antisera to Ehrlichia and detection of DNA of agent of human granulocytic ehrlichiosis by PCR / L. A. Magnarelli, K. C. Stafford, T. N. Mather [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology.* – 1995. – Vol. 33. – P. 2710-2714.
620. Heroldova, M. Growth parameters of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto at various temperatures / M. Heroldova, M. Nemeč, Z. Hubalek // *Arcives of Dermatology.* – 1998. – Vol. 288. – P. 451-455.
621. Herxheimer, K. Uber Acrodermatitis chronica atrophicans / K. Herxheimer, K. Hartmann // *Archives of Dermatology.* – 1902. – Vol. 61. – P. 57-76.
622. Heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato demonstrated by an OspA-type-specific PCR in synovial fluid from patients with Lyme arthritis / Vasiliu V., Herzer P., Rossler D. [et al.]. // *Medical Microbiology and Immunology.* – 1998. – Vol. 187. – P. 97-102.
623. Hilton, E. Seroprevalence and seroconversion for tick-borne diseases in a high-risk population in the northeast United States / E. Hilton, J. DeVoti, J. L. Benach // *American Journal of Medicine.* – 1999. – Vol. 106. – P. 404-409.
624. Holzmann, H. Diagnosis of tick-borne encephalitis / H. Holzmann // *Vaccine.* – 2003. – Vol. 21. – Suppl 1. – P. 36-40.

625. Hombach, J. Tick-borne encephalitis vaccines / J. Hombach, A. Barrett, H. Kollaritsch // Plotkin's Vaccines (7th edition). – Philadelphia, PA: Elsevier, 2017. – P. 1080-1094.
626. Hongo, I. Ehrlichia infection of the central nervous system / I. Hongo, K. C. Bloch // Current Treatment Options in Neurology. – 2006. – Vol. 8. – P. 179-184.
627. Horton, J. M. Relapsing fever caused by Borrelia species (Chapter 240) / J. M. Horton // Infectious diseases and their etiologic agents (Part III). – Elsevier, 2019. – P. 2906-2911.
628. Host association of Borrelia burgdorferi sensu lato-the key role of host complement / Kurtenbach K., De Michelis S., Etti S. [et al.]. // Trends in Microbiology. – 2002. – Vol. 10. – P. 74-79.
629. Host competence: an organismal trait to integrate immunology and epidemiology / L. Martin, S. Burgan, J. Adelman, S. Gervasi // Integrative and Comparative Biology. – 2016. – Vol. 56. – P. 1225-1237.
630. Host dispersal shapes the population structure of a tick-borne bacterial pathogen / Norte A. C., Margos G., Becker N. S. [et al.]. // Molecular Ecology. – 2020. – Vol. 29. – P. 485-501.
631. Hubálek, Z. Tick-borne viruses in Europe / Z. Hubálek, I. Rudolf // Parasitology Research. – 2012. – Vol. 111. – P. 9-36
632. Human disease in Europe caused by a granulocytic Ehrlichia species / Petrovec M., Lotric F. S., Zupanc T. A. [et al.]. // Journal of Clinical Microbiology. – 1997. – Vol. 35. – P. 1556-1559.
633. Human ehrlichiosis in transplant recipients / Thomas L. D., Hongo I., Bloch K. C. [et al.]. // American Journal of Transplantation. – 2007. – Vol. 7. – P. 1641-1647.
634. Human granulocytic anaplasmosis and Anaplasma phagocytophilum / Dumler J. S., Choi K. S., Garcia-Garcia J. C. [et al.]. // Emerging Infectious Diseases. – 2005. – Vol. 11. – P. 1828-1834.
635. Human granulocytic anaplasmosis and macrophage activation / Dumler J. S., Barat N. C., Barat C. E. [et al.]. // Clinical Infectious Diseases. – 2007. – Vol. 45. – P. 199-204.
636. Human granulocytic anaplasmosis during pregnancy: case series and literature review / Dhand A., Nadelman R. B., Agüero-Rosenfeld M. [et al.]. // Clinical Infectious Diseases. – 2007. – Vol. 45. – P. 589-593.
637. Human granulocytic anaplasmosis in eastern France: clinical presentation and laboratory diagnosis / Koebel C., Kern A., Edouard S. [et al.]. // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. – 2012. – Vol. 72. – P. 214-218.
638. Human granulocytic ehrlichiosis: a case series from a single medical center in New York State / Agüero-Rosenfeld M. E., Horowitz H. W., Wormser G. P. [et al.]. // Annals of Internal Medicine. – 1996. – Vol. 125. – P. 904-908.

639. Human granulocytic ehrlichiosis during pregnancy treated successfully with rifampin / Buitrago M. I., Ijdo J. W., Rinaudo P. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 1998. – Vol. 27. – P. 213-215.
640. Human monocytic ehrlichiosis in children / Schutze G. E., Buckingham S. C., Marshall G. S. [et al.]. // *Pediatric Infectious Disease Journal*. – 2007. – Vol. 26. – P. 475-479.
641. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe / Brouqui P., Dumler J. S., Lienhard R. [et al.]. // *Lancet*. – 1995. – Vol. 346. – P. 782-783.
642. Human granulocytic ehrlichiosis in New York / Wallace B. J., Brady G., Ackman D. M. [et al.]. // *Archives of Internal Medicine*. – 1998. – Vol. 158. – P. 769-773.
643. Human monocytotropic ehrlichiosis, Missouri / Olano J. P., Masters E., Hogrefe W. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2003. – Vol. 9. – P. 1579-1586.
644. Humans infected with relapsing fever spirochete *Borrelia miyamotoi* / Platonov A. E., Karan L. S., Kolyasnikova N. M. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 17 (10). – P. 1816-1822.
645. Hunfeld, K. P. Antimicrobial susceptibility of *Borrelia burgdorferi sensu lato*: what we know, what we don't know, and what we need to know / K. P. Hunfeld, V. Brade // *Wiener klinische Wochenschrift*. – 2006. – Vol. 118 (21-22). – P. 659-668.
646. Hunfeld, K. P. When is the best time to order a Western blot and how should it be interpreted? / K. P. Hunfeld, P. Kraiczky // *Current problems in dermatology*. – 2009. – Vol. 37. – P. 167-177.
647. Hunfeld, K. P. Borreliosis / K. P. Hunfeld, T. A. Wichelhaus, V. Brade // *Clinical laboratory diagnostics*. – English Edition, 2016. – P. 1955-1965.
648. Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease // S. Chen, J. Dumler, J. Bakken, D. Walker. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1994. – Vol. 32 (3). – P. 589-595.
649. Identification, characterization, and expression of three new members of the *Borrelia burgdorferi* Mlp (2.9) lipoprotein gene family / Yang X., Popova T. G., Hagman K. E. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 1999. – Vol. 67. – P. 6008-6018.
650. Identification of conserved antigens for early serodiagnosis of relapsing fever *Borrelia* / Lopez J. E., Porcella S. F., Schrupf M. E. [et al.]. // *Microbiology*. – 2009. – Vol. 155 (8). – P. 2641-2651.
651. Identification of Ehrlichia ruminantium proteins that activate cellular immune responses using a reverse vaccinology strategy / Liebenberg J., Pretorius A., Faber F. E. [et al.]. // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. – 2012. – Vol. 145. – P. 340-349.

652. Identification of Ehrlichia spp. and Borrelia burgdorferi in Ixodes Ticks in the Baltic region of Russian / A. Alekseev, H. Dubinina, I. Van De Pol, L. Schouls // Journal of Clinical Microbiology. – 2001. – Vol. 39 (6). – P. 2237-2242.
653. Identification of three species of Borrelia burgdorferi sensu lato (B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii, and B. garinii) among isolates from acrodermatitis chronica atrophicans lesions / Picken R. N., Strle F., Picken M. M. [et al.]. // Journal of Investigative Dermatology. – 1998. – Vol. 110 (3). – P. 211-214.
654. Immune mediators of protective and pathogenic immune responses in patients with mild and fatal human monocytotropic ehrlichiosis / Ismail N., Walker D. H., Ghose P. [et al.]. // BMC Immunology. – 2012. – Vol. 13. – P. 26.
655. Immunogenicity against Far Eastern and Siberian subtypes of tick-borne encephalitis (TBE) virus elicited by the currently available vaccines based on the European subtype: systematic review and meta-analysis / Domnich A., Panatto D., Arbuzova E. K. [et al.]. // Human Vaccines and Immunotherapeutics. – 2014. – Vol. 10 (10). – P. 2819-2833.
656. Immunization with Ehrlichia P28 outer membrane proteins confers protection in a mouse model of ehrlichiosis / Crocquet-Valdes P. A., Thirumalapura N. R., Ismail N. [et al.]. // Clinical and Vaccine Immunology. – 2011. – Vol. 18. – P. 2018-2025.
657. Immunodominant major outer membrane proteins of Ehrlichia chaffeensis are encoded by a polymorphic multigene family / Ohashi N., Zhi N., Zhang Y. [et al.]. // Infection and Immunity. – 1998. – Vol. 66. – P. 132-139.
658. Improved sensitivity of PCR for diagnosis of human granulocytic ehrlichiosis using epankl genes of Ehrlichia phagocytophila - group ehrlichiae / Walls J. J., Caturegli P., Bakken J. S. [et al.]. // Journal of Clinical Microbiology. – 2000. – Vol. 38 (1). – P. 354-356.
659. Inactivation of the fibronectin-binding adhesin gene BBK32 significantly attenuates the infectivity potential of Borrelia burgdorferi / Seshu J., Esteve-Gassent M. D., Labandeira-Rey M. [et al.]. // Molecular Microbiology. – 2006. – Vol. 59 (5). – P. 1591-601.
660. Incidence of notified Lyme borreliosis in Germany, 2013-2017 / Enkelmann J., Böhmer M., Fingerle V. [et al.]. // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 14976.
661. Incidence of various tick-borne microorganisms in rodents and ticks of central Slovakia / Spitalska E., Boklis V., Konstanova Z. [et al.]. // Acta virologica. – 2008. – Vol. 52. – P. 175-179.
662. Induction of an outer surface protein on Borrelia burgdorferi during tick feeding / Schwan T. G., Peisman J., Golde W. T. [et al.]. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1995. – Vol. 92. – P. 2909-2913.

663. Infections with Ehrlichia chaffeensis and Ehrlichia ewingii in persons coinfecting with human immunodeficiency virus / Paddock C. D., Folk S. M., Shore G. M. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2001. – Vol. 33. – P. 1586-1594.
664. Inhibition of Borrelia burgdorferi-Tick interactions in vivo by outer surface protein A antibody / Pal U., Montgomery R. R., Lusitani D. [et al.]. // *Journal of Immunology*. – 2001. – Vol. 166. – P. 7398-7403.
665. Initial attachment of Borrelia burgdorferi spirochets to Vero cells / K. Schwarzova, I. Ciznar, V. Svihrova, H. Hudeckova // *Bratislavske lekarske listy*. – 2019. – Vol. 120 (11). – P. 872-875.
666. Insights into the Host Range, Genetic Diversity, and Geographical Distribution of Jingmenviruses / Temmam S., Bigot T., Chrétien D. [et al.]. // *mSphere*. – 2019. – Vol. 4 (6). – P. e00645-19.
667. In vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of Borrelia miyamotoi / Koetsveld J., Manger A., Hoornstra D. [et al.]. // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2018. – Vol. 62 (7). – P. e00419-18.
668. In vitro susceptibility of European human Borrelia burgdorferi sensu stricto strains to antimicrobial agents / Veinovic G., Cerar T., Strle F. [et al.]. // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2013. – Vol. 41 (3). – P. 288-291.
669. In vitro susceptibility of the relapsing-fever spirochete Borrelia miyamotoi to antimicrobial agents / Koetsveld J., Draga R. O. P., Wagemakers A. [et al.]. // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2017. – Vol. 61 (9). – P. e00535-17.
670. In vitro susceptibility testing of Borrelia burgdorferi sensu lato isolates cultured from patients with erythema migrans before and after antimicrobial chemotherapy / Hunfeld K., Ruzic-Sabljić E., Norris D. E. [et al.]. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2005. – Vol. 49 (4). – P. 1294-1301.
671. Involvement of birds in the epidemiology of the Lyme disease agent Borrelia burgdorferi / Anderson J. F., Johnson R. C., Magnarelli L. A. [et al.]. // *Journal of Infection and Immunity*. – 1986. – Vol. 51. – P. 394-396.
672. Ismail, N. Role of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and interleukin-10 in the pathogenesis of severe murine monocytotropic ehrlichiosis: increased resistance of TNF receptor p55- and p75-deficient mice to fatal ehrlichial infection / N. Ismail, H. L. Stevenson, D. H. Walker // *Infection and Immunity*. – 2006. – Vol. 74. – P. 1846-1856.
673. Ismail, N. Human ehrlichiosis and anaplasmosis / N. Ismail, K. C. Bloch, J. W. McBride // *Clinics in Laboratory Medicine*. – 2010. – Vol. 1. – P. 261-292.

674. Ismail, N. Tick-Borne Emerging Infections: Ehrlichiosis and Anaplasmosis / N. Ismail, J. W. McBride // *Clinics in Laboratory Medicine*. – 2017. – Vol. 37 (2). – P. 317-340.
675. Isolation and Characterisation of Alongshan Virus in Russia / Kholodilov I.S., Litov A.G., Klimentov A.S. [et al.]. // *Viruses*. – 2020. – Vol. 12 (4). – P. 362.
676. Isolation of tick-borne encephalitis virus from *Ixodes ovatus* (Acari: Ixodidae) in Japan / Takeda T., Ito T., Chiba M. [et al.] // *Journal of Medical Entomology*. – 1998. – Vol. 35. – P. 227-231.
677. Isolation of tick-borne encephalitis virus from wild rodents and a seroepizootologic survey in Hokkaido, Japan / Takeda T., Ito T., Osada M. [et al.] // *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*. – 1999. – Vol. 60 (2). – P. 287-291.
678. Isolation of tick-borne encephalitis viruses from wild rodents, South Korea / Kim S. Y., Yun S. M., Han M. G. [et al.]. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. – 2008. – Vol. 8. – P. 7-13.
679. Isolation, preliminary characterization, and full-genome analyses of tick-borne encephalitis virus from Mongolia / Frey S., Mossbrugger I., Altantuul D. [et al.]. // *Virus Genes*. – 2012. – Vol. 45. – P. 413-425.
680. Isolement, en Alsace, du virus de l'encephalite à tiques (Arbovirus, groupe B) / Hannoun C., Chatelain J., Krams S. [et al.]. // *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. – 1971. – Vol. 272. – P. 766-768.
681. *Ixodes pacificus* as a vector of *Ehrlichia equi* / Richter P. J., Kimsey R. B., Madigan J. E. [et al.]. // *Journal of Medical Entomology*. – 1996. – Vol. 33. – P. 1-5.
682. Jarisch-Herxheimer reaction associated with ciprofloxacin administration for tick-borne relapsing fever / Webster G., Schiffman J., Dosanjh A. [et al.]. // *Pediatric Infectious Disease Journal*. – 2002. – Vol. 21. – P. 571-573.
683. Kaiser, R. The clinical and epidemiological profile of tick-borne encephalitis in southern Germany 1994-98: a prospective study of 656 patients / R. Kaiser // *Brain*. – 1999. – Vol. 122. – P. 2067-2078.
684. Kaiser, R. Tick-borne encephalitis / R. Kaiser // *Infectious Disease Clinics of North America*. – 2008. – Vol. 22. – P. 561-575.
685. Kaiser, R. Tick-borne encephalitis: clinical findings and prognosis in adults / R. Kaiser // *Wiener klinische Wochenschrift*. – 2012. – Vol. 162 (11-12). – P. 239-243.
686. Karatolios, K. Suspected inflammatory cardiomyopathy: Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in endomyocardial biopsy with positive serological evidence / K. Karatolios, B. Maish, S. Pankuweit // *Herz*. – 2014. – Vol. 40. – S.1. – P. 91-95.

687. Krause, P. J. Successful treatment of human granulocytic ehrlichiosis in children using rifampin / P. J. Krause, C. L. Corrow, J. S. Bakken // *Pediatrics*. – 2003. – Vol. 112. – P. 252-253.
688. Kemenesi, G. Tick-Borne Flaviviruses, with a Focus on Powassan / G. Kemenesi, K. Bányai // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2019. – Vol. 32 (1). – P. e00106-17.
689. Kennedy, P. G. Viral encephalitis: causes, differential diagnosis, and management / P. G. Kennedy // *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. – 2004. – Vol. 75 (Suppl 1). – P. 10-15.
690. Khasnatinov, M. A. Characterization of tick-borne encephalitis virus that caused the lethal meningoencephalitis human in Mongolia / M. A. Khasnatinov, G. A. Danchinova, U. Unursaikhan [et al.]. // *International Conference Zoonotic Infections Disease and Tourism: materials of scientific conference*. – Ulaanbaatar: New Polygraph Co., Ltd., 2009. – P. 88-93.
691. Kim, H. Y. Expression of interleukin-1 β , tumor necrosis factor, and interleukin-6 in human peripheral blood leukocytes exposed to human granulocytic ehrlichiosis agent or recombinant major surface protein P44 / H. Y. Kim, Y. Rikihisa // *Infect. Immun.* – 2000. – Vol. 68. – P. 3394-3402.
692. Kim, H. Y. Roles of p38 mitogen-activated protein kinase, NF-B, and protein kinase C in proinflammatory cytokine mRNA expression by human peripheral blood leukocytes in response to *Anaplasma phagocytophila* / H. Y. Kim, Y. Rikihisa // *Infection and Immunity*. – 2002. – Vol. 70. – P. 4132-4141.
693. Klein, M. B. Antibiotic susceptibility of the newly cultivated agent of human granulocytic ehrlichiosis: promising activity of quinolones and rifamycins / M. B. Klein, C. M. Nelson, J. L. Goodman // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 1997. – Vol. 41. – P. 76-79.
694. Klieneberger-Nobel, E. Origin, development and significance of L-forms in bacterial cultures / E. Klieneberger-Nobel // *Journal General Microbiology*. – 1949. – Vol. 3. – P. 434-443.
695. Kolyasnikova, N. M. Monitoring of tick-borne infection natural foci / N.M. Kolyasnikova, L. S. Karan, V. V. Pogodina [et al.]. // *12th SAC Seminar Combating Global Infections: materials of conference*. – Irkutsk, 2009. – P. 40.
696. Kolyasnikova, N. M. Insights from experience in the treatment of tick-borne bacterial coinfections with tick-borne encephalitis (Chapter 4) / N. M. Kolyasnikova, J. P. Sanchez-Pimentel, N. B. Pestov // *Annual reports in Medicinal Chemistry. Medicinal chemistry of tick-borne encephalitis*. – United States: Academic press, 2022. – Vol. 58. – P. 157-242.

697. Korenberg, E. I. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Russia / E. I. Korenberg, N. B. Gorelova, Yu. V. Kovalevskii // *Lyme Borreliosis: biology, epidemiology and control*. – CAB International, 2002. – P. 175-200.
698. Korenberg, E. I. Problems in the study and prophylaxis of mixed infections transmitted by ixodid ticks / E. I. Korenberg // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2003. – Vol. 293 (Suppl 37). – P. 80-85.
699. Korenberg, E. I. *Ixodes persulcatus* tick is a vector of different agents in the Cisural region, Russia / E. I. Korenberg, V. V. Nefedova, Yu. V. Kovalevskii [et al.]. // *Proceedings of 12th International Congress of Acarology: materials of conference*. – Amsterdam: 2006. – P. 99-100.
700. Kreil, T. R. Pre- and postexposure protection by passive immunoglobulin but no enhancement of infection with a flavivirus in a mouse model / T. R. Kreil, M. M. Eibl // *Journal of Virology*. – 1997. – Vol. 71 (4). – P. 2921-2927.
701. Kristoferitsch, W. Double infection with early summer meningoencephalitis virus and *Borrelia burgdorferi* / W. Kristoferitsch, G. Stanek, Ch. Kunz // *Deutsche Medizinische Wochenschrift*. – 1986. – Vol. 111 (22). – P. 861-864.
702. Kumagai, Y. Expression and porin activity of P28 and OMP-1F during intracellular *Ehrlichia chaffeensis* development / Y. Kumagai, H. Huang, Y. Rikihisa // *Journal of Bacteriology*. – 2008. – Vol. 190. – P. 3597-3605.
703. Kunz, C. TBE vaccination and the Austrian experience / C. Kunz // *Vaccine*. – 2003. – Vol. 21 (Suppl 1). – P. 50-55.
704. Kunze, U. Tick-borne encephalitis as a notifiable disease – Status quo and the way forward. Report of the 17th annual meeting of the International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW-TBE) / U. Kunze // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2015. – Vol. 6 (5). – P. 545-548.
705. Labeaud, A. D. Measuring the burden of arboviral diseases: the spectrum of morbidity and mortality from four prevalent infections / A. D. Labeaud, F. Bashir, C. H. King // *Population Health Metrics*. – 2011. – Vol. 9 (1). – P. 1.
706. Laboratory acquired tick-borne meningoencephalitis: characterisation of virus strains / Avšič-Županc T., Poljak M., Matičič M. [et al.]. // *Clinical and Diagnostic Virology*. – 1995. – Vol. 4 (1). – P.51-59.
707. Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis: Current state of the art and future perspectives / B. Lohr, V. Fingerle, D. Norris, K. Hunfeld // *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. – 2018. – Vol. 55 (4). – P. 219-245.

708. Lane, R. S. Wood rats and kangaroo rats: potential reservoirs of the Lyme disease spirochete in California / R. S. Lane, R. N. Brown // *Journal of Medical Entomology*. – 1991. – Vol. 28. – P. 299-302.
709. Lane, R. S. Lyme disease in California: interrelationship of ixodid ticks (Acari), rodents, and *Borrelia burgdorferi* / Lane R. S., Loye J. E. // *Journal of Medical Entomology*. – 1991. – Vol. 28. – P. 719-725.
710. Lane, R. S. Borreliacidal factor in the blood of the western fence lizard (*Sceloporus occidentalis*) / R. S. Lane, G. B. Quistad // *Journal of Parasitology*. – 1998. – Vol. 84. – P. 29-34.
711. Langat virus encephalitis in mice. I. The effect of the administration of specific antiserum / H. Webb, D. Wight, G. Platt, C. Smith // *Jornal of Hygiene*. – 1968. – Vol. 66 (3). – P. 343-354.
712. Lantos, P. M. A systematic review of *Borrelia burgdorferi* morphologic variants does not support a role in chronic lyme disease / P. M. Lantos, P. G. Auwaerter, G. P. Wormser // *Clinical Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 58 (5). – P. 663-671.
713. Larsson, C. A novel and simple method for laboratory diagnosis of relapsing fever Borreliosis / C. Larsson, S. A. Bergström // *The Open Microbiology Journal*. – 2008. – Vol. 2. – P. 10-12.
714. Lebech, A. M. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in urine samples and cerebrospinal fluid samples from patients with early and late Lyme neuroborreliosis by polymerase chain reaction / A. M. Lebech, K. Hansen // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1992. – Vol. 30 (7). – P. 1646-1653.
715. Lebech, A. M. Polymerase chain reaction in diagnosis of *Borrelia burgdorferi* infections and studies on taxonomic classification / A. M. Lebech // *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica Supplementum*. – 2002. – Vol. 105. – P. 1-40.
716. Leonova, G. N. Characterization of neutralization antibodies to Far Eastern of Tick-borne encephalitis subtype and the avidity for four tick-borne encephalitis vaccines in human / G. N. Leonova, E. V. Pavlenko // *Vaccine*. – 2009. – Vol. 27 (21). – P. 2899-2904.
717. Levin, M. L. Immunity reduces reservoir host competence of *Peromyscus leucopus* for *Ehrlichia phagocytophila* / M. L. Levin, D. Fish // *Infection and Immunity*. – 2000. – Vol. 68 (3). – P. 1514-1518.
718. Liang, F. T. C-terminal invariable domain of VlsE may not serve as target for protective immune response against *Borrelia burgdorferi* / F. T. Liang, M. B. Jacobs, M. T. Philipp // *Infection and Immunity*. – 2001. – Vol. 69. – P. 1337-1343.

719. Libikova, H. Biologische Eigenschaften der in Mitteleuropa vorkommenden Virusstämme der Zeckenzephalitis in Zeckenzephalitis in Europa / H. Libikova. – Berlin: Acad. Verlag., 1961. – 83 p.
720. Lim, L.L. *Borrelia hermsii* causing relapsing fever and uveitis / L. L. Lim, J. T. Rosenbaum // *American Journal of Ophthalmology*. – 2006. – Vol. 142. – P. 348-349.
721. Lin, M. Ehrlichia chaffeensis and Anaplasma phagocytophilum lack genes for lipid A biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival / M. Lin, Y. Rikihisa // *Infection and Immunity*. – 2003. – Vol. 71. – P. 5324-5331.
722. Lindquist, L. Tick-borne encephalitis / L. Lindquist, O. Vapalahti // *Lancet*. – 2008. – Vol. 371 (9627). – P. 1861-1871.
723. Lindquist, L. Tick-borne encephalitis / L. Lindquist // *Handbook of Clinical Neurology Neurobiology* (1st edition). – Amsterdam: Elsevier, 2014. – Vol. 123. – P. 531-559.
724. Lipsker, D. Lyme Borreliosis. Biological and Clinical Aspects / D. Lipsker, B. Jaulhac // *Current problems of dermatology*. – 2009. – Vol. 37. – P. 167-177.
725. Live imaging reveals a biphasic mode of dissemination of *Borrelia burgdorferi* within ticks / Dunham-Ems S. M., Caimano M. J., Pal U. [et al.]. // *Journal of Clinical Investigation*. – 2009. – Vol. 119 (12). – P. 3652-3665.
726. Loewen, P. S. Systemic review of the treatment of early Lyme disease / P. S. Loewen, C. A. Marra, F. Marra // *Drugs*. – 1999. – Vol. 57. – P. 157-173.
727. Logigian, E. L. Chronic neurologic manifestations of Lyme disease / E. L. Logigian, R. F. Kaplan, A. C. Steere // *New England Medical Review*. – 1990. – Vol. 323 (21). – P. 1438-1444.
728. Long-term in vitro cultivation of *Borrelia miyamotoi* / Margos G., Stockmeier S., Hizo-Teufel C., Hepner S. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2015. – Vol. 6. – P.181-184.
729. Louse-borne relapsing fever: a clinical and laboratory study of 62 cases in Ethiopia and a reconsideration of the literature / Bryceson A. D., Parry E. H., Perine P. L. [et al.] // *Quarterly Journal of Medicine*. – 1970. – Vol. 39. – P. 129-149.
730. Lukan, M. Climate warming and tick-borne encephalitis, Slovakia / M. Lukan, E. Bullova, B. Petko // *Emerging Infectious Diseases*. – 2010. – Vol. 16 (3). – P. 524-526.
731. Lupfer, C. The expanding role of NLRs in antiviral immunity / C. Lupfer, T. D. Kanneganti // *Immunological Reviews*. – 2013. – Vol. 255. – P. 13-24.
732. Lyme borreliosis / Steere A. S., Strle F., Wormser G. P. [et al.]. // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2016. – Vol. 2. – P. 16090.
733. Lyme Borreliosis / [K-P. Hunfeld et al.]; Ed. K-P. Hunfeld, J. Gray. – Switzerland: Springer Int. Pub, 2022. – 234 p.

734. Lyme borreliosis and other tick-borne diseases. Guidelines from the French scientific societies / Gocko X., Lenormand C., Lemogne C. [et al.]. // *Médecine et maladies infectieuses*. – 2019. – Vol. 49. – P. 296-317.
735. Lyme borreliosis and tick-borne encephalitis / P. Oschmann, P. Kraiczy, J. Halperin [et al.]. – Bremen: UNI-MED Verlag AG, 1999. – 144 p.
736. Lyme borreliosis: clinical case definitions for diagnosis and management in Europe / Stanek G., Fingerle V., Hunfeld K. P. [et al.]. // *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 17 (1). – P. 69-79.
737. Lyme borreliosis: diagnosis and management / B. Kullberg, H. Vrijmoeth, F. van de Schoor, J. Hovius // *British Medical Journal*. – 2020. – Vol. 369. – P. m1041.
738. Lyme borreliosis incidence in Lombardy, Italy (2000-2015): Spatiotemporal analysis and environmental risk factors / Zanzani S., Rimoldi S.G., Manfredi M. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2019. – Vol. 10 (6). – P. 101257.
739. Lyme borreliosis in Europe / Rizzoli A., Hauffe H., Carpi G., [et al.]. // *Eurosurveillance*. – 2011. – Vol. 16 (27). – P. 19906.
740. Lyme Borreliosis in Finland, 1995-2014 / Sajanti E., Virtanen M., Helve O. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 23. – P. 1282-1288.
741. Lyme disease pathogenesis / Coburn J., Garcia B., Hu L. T. [et al.]. // *Current Issues in Molecular Biology*. – 2021. – Vol. 42. – P. 473-518.
742. Lyme meningoradiculitis: prospective evaluation of biological diagnosis methods / Roux F., Boyer E., Jaulhac B. [et al.]. // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2007. – Vol. 26 (10). – P. 685-693.
743. Lymphocytosis of gamma/delta T cells in human ehrlichiosis / Caldwell C. W., Everett E. D., McDonald G. [et al.]. // *American Journal of Clinical Pathology*. – 1995. – Vol. 103. – P. 761-756.
744. Macrophage activation syndrome secondary to human monocytic ehrlichiosis / Kumar N., Goyal J., Goel A. [et al.]. // *Indian Journal of Hematology Blood Transfusion*. – 2014. – Vol. 30. – P. 145-147.
745. Mapping the distribution of tick-borne encephalitis in mainland China / Ruo-XiSun, Sheng-Jie Lai, YangYang. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2017. – Vol. 8. – P. 631-639.
746. Margos, G. *Borrelia bavariensis*: vector switch, niche invasion, and geographical spread of a tick-borne bacterial parasite / G. Margos, V. Fingerle, S. E. Reynolds // *Frontiers in Ecology and Evolution*. – 2019. – Vol. 7 (401). – P. 1-20.

747. Martin, M. E. Pathology, immunohistology, and cytokine responses in early phases of human granulocytic ehrlichiosis in a murine model / M. E. Martin, J. E. Bunnell, J. S. Dumler // *Journal of Infectious Diseases*. – 2000. – Vol. 181. – P. 374-378.
748. Masuzawa, T. Terrestrial distribution of the Lyme borreliosis agent *Borrelia burgdorferi* sensu lato in East Asia / T. Masuzawa // *Japanese Journal of Infectious Diseases*. – 2004. – Vol. 57. – P. 229-35.
749. Maurin, M. DNA gyrase-mediated natural resistance to fluoroquinolones in *Ehrlichia* spp / M. Maurin, C. Abergel, D. Raoult // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2001. – Vol. 45. – P. 2098-2105.
750. Maurin, M. Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma* (*Ehrlichia*) *phagocytophilum* strains from various geographic areas in the United States / M. Maurin, J. S. Bakken, J. S. Dumler // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2003. – Vol. 47. – P. 413-415.
751. Mayne, P. J. Clinical determinants of Lyme borreliosis, babesiosis, bartonellosis, anaplasmosis, and ehrlichiosis in an Australian cohort / P. J. Mayne // *International Journal of General Medicine*. – 2015. – Vol. 8. – P. 15-26.
752. McBride, J. W. Progress and obstacles in vaccine development for the ehrlichioses / J. W. McBride, D. H. Walker // *Expert Review of Vaccines*. – 2010. – Vol. 9. – P. 1071-1082.
753. McGinley-Smith, D. E. Dermatoses from ticks / D. E. McGinley-Smith, S. S. Tsao // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2003. – Vol. 49. – P. 363-392.
754. Mead, P. S. Epidemiology of Lyme Disease / P. S. Mead // *Infectious Disease Clinics of North America*. – 2015. – Vol. 29. – P. 187-210.
755. Meningoencephalitis complicating relapsing fever in traveler returning from Senegal / Bottieau E., Verbruggen E., Aubry C. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2012. – Vol. 18. – P. 697-698.
756. Meningoencephalitis from *Borrelia miyamotoi* in an immunocompromised patient / Gugliotta J. L., Goethert H. K., Berardi V. P. [et al.]. // *New England Journal of Medicine*. – 2013. – Vol. 368 (3). – P. 240-245.
757. Meningoencephaloradiculomyelitis after tick-borne encephalitis virus infection: a case series / Ponfick M., Hacker S., Gdynia H. J. [et al.]. // *European Journal of Neurology*. – 2012. – Vol. 19 (5). – P. 776-782.
758. Metrics: Disability-Adjusted Life Year (DALY). Quantifying the burden of disease from mortality and morbidity. World Health Organization: сайт. – URL: http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/metrics_daly/en/ (дата обращения: 05.06.2013).

759. Miyamoto, K. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Japan and East Asia / K. Miyamoto, T. Masuzawa // *Lyme Borreliosis: biology, epidemiology and control*. – Wallingford: CABI Publishing, 2002. – P. 201-222.
760. MoH Advisory committee report Ireland: сайт. – URL: <https://www.hpsc.ie/a-z/vectorborne/publications/File/15592/en.pdf> (дата обращения: 13.04.2020).
761. Molecular basis of the divergent immunogenicity of two pediatric tick-borne encephalitis virus vaccines / Beck Y., Fritz R., Orlinger K. [et al.]. // *Journal of Virology*. – 2016. – Vol. 90. – P. 1964-1972.
762. Molecular characterization of antibody epitopes of *Ehrlichia chaffeensis* ankyrin protein 200 and tandem repeat protein 47 and evaluation of synthetic immunodeterminants for serodiagnosis of human monocytotropic ehrlichiosis / Luo T., Zhang X., Nicholson W. L. [et al.]. // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2010. – Vol. 17. – P. 87-97.
763. Molecular characterization of the interaction of *Borrelia parkeri* and *Borrelia turicatae* with human complement regulators / Shott M., Grosskinsky S., Brenner C. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 2010. – Vol. 78 (5). – P. 2199-2208.
764. Molecular detection of tick-borne pathogens in humans with tick bites and erythema migrans, in the Netherlands / Jahfari S., Hofhius A., Fonville M. [et al.]. // *PLOS Neglected tropical diseases*. – 2016. – Vol. 10 (10). – P. e0005042.
765. Molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* ticks in Lithuania / Han X., Juceviciene A., Uzcategui N. Y. [et al.]. // *Journal of Medical Virology*. – 2005. – Vol. 77. – P. 249-256.
766. Molecular mechanisms involved in vascular interactions of the Lyme disease pathogen in a living host / Norman M. U., Moriarty T. J., Dresser A. R. [et al.]. // *PLoS Pathogens*. – 2008. – Vol. 4 (10). – P. e1000169.
767. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological and clinical implications / G. Wang, A. van Dam, I. Schwartz, J. Dankeri // *Clinical Microbiology Reviews*. – 1999. – Vol. 12. – P. 633-653.
768. Monocytic *Ehrlichia* in *Ixodes persulcatus* ticks from Perm, Russia / Ravyn M. D., Korenberg E. I., Oeding J. A. [et al.]. // *Lancet*. – 1999. – Vol. 353 (9154). – P. 722-723.
769. Mullegger, R. R. Dermatological manifestations of Lyme borreliosis / R. R. Mullegger // *European Journal of Dermatology*. – 2004. – Vol. 14. – P. 296-309.
770. Nadelman, R. B. Lyme borreliosis / R. B. Nadelman, G. P. Wormser // *Lancet*. – 1998. – Vol. 352. – P. 557-565.

771. Nathanson, N. Immunological aspects of viral infection / N. Nathanson, H. Panich // *Hand-book of clinical Neurology*. – Amsterdam-New York: Oxford, 1978. – Vol. 34 (II) – P. 39-62.
772. Natural infection of small mammal species in Minnesota with the agent of human granulocytic ehrlichiosis / Walls J. J., Greig B., Neitzel D. F. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1997. – Vol. 35. – P. 853-855.
773. Nei M. *Molecular Evolution and Phylogenetics* / M. Nei, S. Kumar. – New York: University Press, 2000. – 348 p.
774. Neurologic syndromes in Lyme disease / J. Zajkowska, T. Hermanowska-Szpakowicz, M. Kondrusik, S. Pancewicz // *Polski merkurusz lekarski*. – 2000. – Vol. 9. – P. 584-588.
775. New genetic lineage within the Siberian subtype of tick-borne encephalitis virus found in Western Siberia, Russia / Tkachev S. E., Chicherina G. S., Golovljova I. [et al.]. // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2017. – Vol. 56. – P. 36-43.
776. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses / King A. M. Q., Adams M. J., Carstens E. J. [et al.] // *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses*. – San Diego: Elsevier Academic Press, 2012. – 23 p.
777. Non-hemagglutinating flaviviruses: molecular mechanisms for the emergence of new strains via adaptation to european ticks / Khasnatinov M. A., Gritsun T. S., Ustanikova K. [et al.]. // *PLoS ONE*. – 2009. – Vol. 4 (10). – P. e7295.
778. Nucleotide and amino-acid sequence of the envelope glycoprotein of the Vasilchenko strain of the virus comparison with other flaviviruses / Gritsun T. S., Frolova T. V., Pogodina V. V. [et al.]. // *Virus Research*. – 1992. – Vol. 29. – P. 201-209.
779. Occurrence and genetic variability of Kemerovo virus in Ixodes ticks from different regions of Western Siberia, Russia and Kazakhstan / Tkachev S. E., Tikunov A. Y., Babkin I. V. [et al.]. // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2017. – Vol. 47. – P. 56-63.
780. Ohnishi, J. Antigenic and genetic heterogeneity of *Borrelia burgdorferi* populations transmitted by ticks / J. Ohnishi, L. Piesman, A. M. Silva // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2001. – Vol. 98. – P. 670-675.
781. Olano, J. P. Diagnosing emerging and reemerging infectious diseases: the pivotal role of the pathologist / J. P. Olano, D. H. Walker // *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. – 2011. – Vol. 135. – P. 83-91.
782. Omsk haemorrhagic fever / D. Růžek, V. Yakimenko, L. Karan, S. Tkachev // *Lancet*. – 2010. – Vol. 376 (9758). – P. 2104-2113.

783. Origin and distribution of tick-borne encephalitis virus strains of the Siberian subtype in the Middle Urals, the north-west of Russia and the Baltic countries / Kovalev S. Y., Chernykh D. N., Kokorev V. S. [et al.]. // *Journal of General Virology*. – 2009. – Vol. 90. – P. 2884-2892.
784. Paget, G. E. *Toxicity Tests* / G. E. Paget, G. M. Braners // *Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics*. – London: Academic Press, 1964. – Vol. 1. – P. 135-167.
785. Partial Characterization of Tick-Borne Encephalitis Virus Isolates from Ticks of Southern Ukraine / O. Yurchenko, D. Dubina, N. Vynograd, J. Gonzalez // *Vector-borne and Zoonotic Diseases*. – 2017. – Vol. 17 (8). – P. 550-557.
786. Pathogen escape from host immunity by a genome program for antigenic variation / Barbour A. G., Dai Q., Restrepo B. I. [et al.]. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2006. – Vol. 103 (48). – P. 18290-18295.
787. Pathogenetic implications of the age at time of diagnosis and skin location for acrodermatitis chronica atrophicans / Ogrinc K., Wormser G. P., Visintainer P. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2017. – Vol. 8. – P. 266-269.
788. Patterns of tick infestation and their *Borrelia burgdorferi* s.l. infection in wild birds in Portugal / Norte A. C., da Silva L. P., Tenreiro P. J. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2015. – Vol. 6. – P. 743-750.
789. Phillipotts, R. G. Antibody-dependent enhancement of the Tick-borne encephalitis virus infectivity / R. G. Phillipotts, J. R. Stephenson, J. S. PorterField // *Journal of General Virology*. – 1985. – Vol. 66. – P. 1831-1837.
790. Phylogenetic analysis of *Borrelia* species based on flagellin gene sequences and its application for molecular typing of Lyme disease borreliae / Fukunaga M., Okada K., Nakao M. [et al.]. // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 1996. – Vol. 46 (4). – P. 898-905.
791. Phylogenetic and virulence analysis of tick-borne encephalitis viruses from Japan and far-Eastern Russia / Hayasaka D., Suzuki Y., Kariwa H. [et al.]. // *Journal of General Virology*. – 1999. – Vol. 80 (Pt 12). – P. 3127-3135.
792. Pechere, J.-C. *Intercellular bacterial infections* / J.-C. Pechere. – First edition. – 1996. – 187 p.
793. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (30th edition). CLSI supplement M100 / [M. P. Weinstein et al.]; Ed. M. P. Weinstein et al. – Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020. – 294 p.
794. Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle / Telford S. R., Dawson J. E., Katavolos P. [et al.]. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1996. – Vol. 93 (12). – P. 6209-6214.

795. Petrovec, M. Identity of ehrlichial DNA sequences derived from *Ixodes ricinus* ticks with those obtained from patients with human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia / Petrovec M., Sumner W., Nicholson W. L. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1999. – Vol. 37. – P. 209-210.
796. Piesman, J. Lyme borreliosis in Europe and North America / J. Piesman, L. Gern // *Parasitology*. – 2004. – Vol. 129 (Suppl). – P. 191-220.
797. Pletnev, A. G. Nucleotide sequence of the genome and complete amino acid sequence of the polyprotein of tick-borne encephalitis virus / A. G. Pletnev, V. F. Yamshchikov, V. M. Blinov // *Virology*. – 1990. – Vol. 174 (1). – P. 250-263.
798. Pogodina V. V. Persistence of Tick-borne encephalitis virus in monkey VII Some features of immune response / V. V. Pogodina, N. G. Bochkova, L. S. Levina // *Acta Virol*. – 1984. – Vol. 28. – P. 407-15.
799. Polymerase chain reaction evidence of *Ehrlichia chaffeensis*, an etiologic agent of human ehrlichiosis, in dogs from southeast Virginia / Dawson J. E., Biggie K. L., Warner C. K. [et al.] // *American Journal of Veterinary Research*. – 1996. – Vol. 57. – P. 1175-1779.
800. Polymerase chain reaction with the 30-kb circular plasmid of *Borrelia burgdorferi* B31 as a target for detection of the Lyme borreliosis agents in cerebrospinal fluid / Amouriaux P., Assous M., Margarita D. [et al.]. // *Research in Microbiology*. – 1993. – Vol. 144 (3). – P. 211-219.
801. Polymorphisms in chemokine receptor 5 and Toll-like receptor 3 genes are risk factors for clinical tick-borne encephalitis in the Lithuanian population / Mickienė A., Pakalnienė J., Nordgren J., [et al.]. // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9(9). – P. e106798.
802. Poponnikova, T. V. Specific clinical and epidemiological features of tick-borne encephalitis in Western Siberia / T. V. Poponnikova // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2006. – Vol. 296 (Suppl 40). – P. 59-62.
803. Poponnikova, T. V. The clinical picture of chronic tick-borne encephalitis in children. / T. V. Poponnikova // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2008. – Vol. 298 (Suppl 1). – P. 351-355.
804. Population biology of Lyme Borreliosis spirochetes (Chapter 12) / Kurtenbach K., Hoen A. G., Bent S. J. [et al.]. // *Bacterial population genetics in infectious disease* (1st edition). – Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2010. – 448 p.
805. Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of *Borrelia burgdorferi sensu lato* / G. Margos, S. Vollmer, N. Ogden, D. Fish // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2011. – Vol. 11. – P. 1545-1563.

806. Population structure of the relapsing fever spirochete *Borrelia hermsii* as indicated by polymorphism of two multigene families that encode immunogenic outer surface lipoproteins / B. Hinnebusch, A. Barbour, B. Restrepo, T. Schwan // *Infection and Immunity*. – 1998. – Vol. 66. – P. 432-440.
807. Presence of a novel *Ehrlichia* sp. in *Ixodes granulatus* found in Okinawa, Japan / Takano A., Ando S., Kishimoto T. [et al.]. // *Medical Microbiology and Immunology*. – 2009. – Vol. 53. – P. 101-106.
808. Press Release: CDC Provides Estimate of Americans Diagnosed with Lyme Disease Each Year // CDC: site, 2013. – URL: <https://www.cdc.gov/media/releases/2013/p0819-lyme-disease.html> (дата обращения: 01.02.2015).
809. Prevalence of infections and co-infections with 6 pathogens in *Dermacentor reticulatus* ticks collected in eastern Poland / Zajac V., Wojcik-Fatla A., Sawczyn A. [et al.]. // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2017. – Vol. 24 (1). – P. 26-32.
810. Prevalence of Kemerovo virus in ixodid ticks from the Russian Federation / Dedkov V. G., Markelov M. L., Gridneva K. A. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2014. – Vol. 5 (6). – P. 651-655.
811. Prevalence of pathogens in ticks collected from humans through citizen science in Belgium / Lernout T., De Regge N., Tersago K. [et al.]. // *Parasites and Vectors*. – 2019. – Vol. 12 (1). – P. 550.
812. Prevalence of the emerging novel Alongshan virus infection in sheep and cattle in Inner Mongolia, northeastern China / Wang Z-D., Wang W., Wang N., [et al.]. // *Parasites and Vectors*. – 2019. – Vol. 12 (1). – P. 450.
813. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks collected from the Lublin region (eastern Poland) / Wojcik-Fatla A., Cisak E., Zajac V. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2011. – Vol. 2 (1). – P. 16-19.
814. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in ticks from southern Korea / Ko S., Kang J.G., Kim S.Y. [et al.]. // *Journal of Veterinary Science*. – 2010. – Vol. 11. – P. 197-203.
815. Prevention of tick-borne encephalitis by FSME-IMMUN vaccines: review of a clinical development programme / Loew-Baselli A., Poellabauer E. M., Pavlova B. G., [et al.]. // *Vaccine*. – 2011. – Vol. 29 (43). – P. 7307-7319.
816. Protective heterologous immunity against fatal ehrlichiosis and lack of protection following homologous challenge / Thirumalapura N. R., Stevenson H. L., Walker D. H. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 2008. – Vol. 76. – P. 1920-1930.

817. Proteomic analysis of and immune responses to Ehrlichia chaffeensis lipoproteins / Huang H., Lin M., Wang X. [et al.]. // Infection and Immunity. – 2008. – Vol. 76. – P. 3405-3414.
818. Proteomic analysis of three Borrelia burgdorferi sensu lato native species and disseminating clones: relevance for Lyme vaccine design / Schnell G., Boeuf A., Jaulhac B. [et al.]. // Proteomics. – 2014. – Vol. 15 (7). – P. 1280-1290.
819. Quantitative comparison of the cross-protection induced by tick-borne encephalitis virus vaccines based on European and Far Eastern virus subtypes / Fritz R., Orlinger K. K., Hofmeister Y. [et al.]. // Vaccine. – 2012. – Vol. 30 (6). – P. 1165-1169.
820. Ramamoorthy, R. Differential expression of Borrelia burgdorferi proteins during growth in vitro / R. Ramamoorthy, M. T. Philipp // Infection and Immunity. – 1998. – Vol. 66. – P. 5119-5124.
821. Rampas, J. The isolation of encephalitis virus from Ixodes ricinus / J. Rampas, F. Gallia // Casopis lekar ů Ceskyh. – 1949. – Vol. 88. – P. 1179-1180.
822. Rapid clearance of Lyme disease spirochetes lacking OspC from skin / K. Illy, A. Bestor, M. Jewett, P. Rosa // Infection and Immunity. – 2007. – Vol. 75 (3). – P. 1517-1519.
823. Rar, V. Genetic diversity of Anaplasma bacteria: Twenty years later / V. Rar, S. Tkachev, N. Tikunova // Infection, Genetics and Evolution. – 2021. – Vol. 91. – P. 104833.
824. PCR-detection and molecular-genetic analysis of tick-transmitted pathogens in patients of Novosibirsk region, Russia / Tkachev S. E., Fomenko N. V., Rar V. A. [et al.]. // International Journal of Medical Microbiology. – 2008. – Vol. 298 (S1). – P. 365-367.
825. Real-time high resolution 3D imaging of the Lyme disease spirochete adhering to and escaping from the vasculature of a living host / Moriarty T. J., Norman M. U., Colarusso P. [et al.]. // PLoS Pathogens. – 2008. – Vol. 4 (6). – P. e1000090.
826. Real-time monitoring of disease progression in Rhesus macaques infected with Borrelia turicatae by tick bite / Lopez J. E., Vinet-Oliphant H., Wilder H. K. [et al.]. // Journal of Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 210 (10). – P. 1639-1648.
827. Recommendations for tick-borne encephalitis vaccination from the Central European Vaccination Awareness Group (CEVAG) / Zavadská D., Anca I., André F., [et al.]. // Human Vaccines and Immunotherapeutics. – 2013. – Vol. 9 (2). – P. 362-374.
828. Recommended procedure of the Czech Vaccinology Society for prevention and vaccination against tick-borne encephalitis: сайт. – 2016. – URL: <http://www.vakcinace.eu/doporuceni-a-stanoviska> (дата обращения: 17.01.2018).

829. Recurrent evolution of host-specialized races in a globally distributed parasite. / McCoy K. D., Chapuis E., Tirard C. [et al.]. // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2005. – Vol. 272. – P. 2389-2395.
830. Reed, L. J. A simple method of estimating fifty percent endpoints / L. J. Reed, H. A. Muench // *American Journal of Epidemiology*. – 1938. – Vol. 27. – P. 493-497.
831. Relative importance of T-cell subsets in monocytotropic ehrlichiosis: a novel effector mechanism involved in Ehrlichia-induced immunopathology in murine ehrlichiosis / Ismail N., Crossley E. C., Stevenson H. L. [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2007. – Vol. 75. – P. 4608-4020.
832. Renvoisé, A. Old and new tick-borne rickettsioses / A. Renvoisé, O. Mediannikov, D. Raoult // *International Health*. – 2009. – Vol. 1 (1). – P. 17-25.
833. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila / Dumler J. S., Barbet A. F., Bekker C. P. [et al.]. // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2001. – Vol. 51. – P. 2145-2165.
834. Reservoir role of lizard *Psammotromus algirus* in transmission cycle of *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Spirochaetaceae) in Tunisia / Dsouli N., Younsi-Kabachii H., Postic D. [et al.]. // *Journal of Medical Entomology*. – 2006. – Vol. 43. – P. 737-742.
835. Response to tick-borne encephalitis (TBE) booster vaccination after prolonged time intervals to primary immunization with the rapid schedule / Schöndorf I., Schönfeld C., Nicolay U. [et al.]. // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2006. – Vol. 296 (Suppl. 40). – P. 208-212.
836. Restrepo, B. I. Antigen diversity in the bacterium *B. hermsii* through "somatic" mutations in rearranged vmp genes / Restrepo B. I., Barbour A. G. // *Cell*. – 1994. – Vol. 78 (5). – P. 867-876.
837. Richardson, M. Interventions to prevent Lyme disease in humans: a systematic review / M. Richardson, C. Khouja, K. Sutcliffe // *Preventive Medicine Reports*. – 2018. – Vol. 13. – P. 16-22.
838. Richter D. Relapsing fever-like spirochetes infecting European vector tick of Lyme disease agent / D. Richter, D. B. Schlee, F. R. Matuschka // *Emerging Infectious Diseases*. – 2003. – Vol. 9 (6). – P. 697-701.
839. Rikihisa, Y. Ehrlichia subversion of host innate responses / Y. Rikihisa // *Current Opinion in Microbiology*. – 2006. – Vol. 9. – P. 95-101.

840. Rikihisa, Y. *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*: subversive manipulators of host cells / Y. Rikihisa // *Nature Reviews Microbiology*. – 2010. – Vol. 8. – P. 328-339.
841. Rikihisa, Y. Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum* / Y. Rikihisa // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2011. – Vol. 24. – P. 469-489.
842. Rodents as Sentinels for the Prevalence of Tick-Borne Encephalitis Virus / Achazi K., Růžek D., Donoso-Mantke O. [et al.]. // *Vector-borne and zoonotic diseases*. – 2011. – Vol. 11 (6). – P. 641-664.
843. Rollend, L. Transovarial transmission of *Borrelia spirochetes* by *Ixodes scapularis*: a summary of the literature and recent observations / L. Rollend, D. Fish, J. E. Childs // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2013. – Vol. 4 (1-2). – P. 46-51.
844. Roscoe, C. Tick-borne relapsing fever / Roscoe C., Epperly T. // *American Family Physician*. – 2005. – Vol. 72 (10). – P. 2039-2044.
845. Rumyantsev, S. N. The origin of individual differences in the course and severity of diseases / S. N. Rumyantsev // *Scientific World Journal*. – 2006. – Vol. 6. – P. 1674-1704.
846. Ruzek, D. May early intervention with dose intravenous immunoglobulin pose a potentially successful treatment for severe cases of Tick-borne encephalitis / D. Ruzek, G. Dobler, H. Niller // *BMC Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 13. – P. 306.
847. Ružić-Sabljić, E. Progress in the molecular diagnosis of Lyme disease / E. Ružić-Sabljić, T. Cerar // *Expert Reviews of Molecular Diagnostics*. – 2016. – Vol. 17 (1). – P. 19-30.
848. Safety and immunogenicity of a novel multivalent OspA vaccine against Lyme borreliosis in healthy adults: a double-blind, randomised, dose-escalation phase 1/2 trial / Wressnigg N., Pöllabauer E., Aichinger G. [et al.]. // *Lancet Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 13 (8). – P. 680-689.
849. Saito, T. B. A tick vector transmission model of monocytotropic ehrlichiosis / Saito T. B., Walker D. H. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2015. – Vol. 212 (6). – P. 968-977.
850. Schmidt, B. L. PCR in laboratory diagnosis of human *Borrelia burgdorferi* infections / B. L. Schmidt // *Clinical Microbiology Reviews*. – 1997. – Vol. 10 (1). – P. 185-201.
851. Schutze, G. E. Ehrlichiosis / G. E. Schutze // *Pediatric Infectious Disease Journal*. – 2006. – Vol. 25. – P. 71-72.
852. Schwarz, B. Health economics of early summer meningoencephalitis in Austria. Effects of a vaccination campaign 1981 to 1990 / B. Schwarz // *Wiener Medizinische Wochenschrift*. – 1993. – Vol. 143 (21). – P. 551-555.

853. Sennetsu neorickettsiosis: a probable fish-borne cause of fever rediscovered in Laos / Newton P. N., Rolain J. M., Rasachak B. [et al.]. // *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 2009. – Vol. 81 (2). – P. 190-194.
854. Sehdev, A. E. Hepatic pathology in human monocytic ehrlichiosis. *Ehrlichia chaffeensis* infection / A. E. Sehdev, J. S. Dumler // *American Journal of Clinical Pathology*. – 2003. – Vol. 119. – P. 859-865.
855. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia / Ecker M., Allison S. L., Meixner T. [et al.]. // *Journal of General Virology*. – 1999. – Vol. 80. – P. 179-185.
856. Serodiagnosis of human granulocytic ehrlichiosis by a recombinant HGE-44 - based enzyme-linked immunosorbent assay / J. Ijdo, C. Wu, L. Magnarelli, E. Fikrig // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1999. – Vol. 37 (11). – P. 3540-3544.
857. Serodiagnosis of louse-borne relapsing fever with glycerophosphodiester phosphodiesterase (GlpQ) from *Borrelia recurrentis* / Porcella S. F., Raffel S. J., Schrumph M. E. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2000. – Vol. 38 (10). – P. 3561-3571.
858. Seroepidemiology of infections due to spotted fever group rickettsiae and *Ehrlichia* species in military personnel exposed in areas of the United States where such infections are endemic / Yevich S. J., Sanchez J. L., DeFraitres R. F. [et al.]. // *Journal of Infectious Diseases*. – 1995. – Vol. 171. – P. 1266-1273.
859. Serologic and Molecular Detection of *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophila* (Human Granulocytic Ehrlichiosis Agent) in Korean Patients / Heo E. J., Park J. H., Koo J. R. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2002. – Vol. 8. – P. 3082-3085.
860. Serologic evidence of *Anaplasma phagocytophilum* infections in patients with a history of tick bite in central Slovakia / Kocianova E., Kost'anova Z., Stefanidesova K. [et al.]. // *Wiener Medizinische Wochenschrift*. – 2008. – Vol. 120. – P. 427-431.
861. Serologic evidence of human monocytic and granulocytic ehrlichiosis in Israel / Keysary A., Amram L., Keren G. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 1999. – Vol. 5. – P. 775-778.
862. Serologic evidence of infection with *Ehrlichia* spp. in wild rodents (Muridae: Sigmodontinae) in the United States / W. Nicholson, S. Muir, J. Sumner, J. Childs // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1998. – Vol. 36. – P. 695-700.
863. Seroprevalence of human granulocytic ehrlichiosis among permanent residents of northwestern Wisconsin / Bakken J. S., Goellner P., Van Etten M. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 1998. – Vol. 27. – P. 1491-1496.
864. Serum complement sensitivity as a key factor in Lyme disease ecology / Kurtenbach K., Sewell H. S., Ogden N. H. [et al.]. // *Infection and Immunity*. – 1998. – Vol. 66. – P. 1248-1251.

865. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus: a highly lethal bunyavirus / Li J., Li S., Yang L. [et al.]. // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2020. – Vol. 47 (1). – P. 112-125.
866. Severe tick-borne encephalitis following passive immunization / Waldvogel K., Bossart W., Huisman T. [et al.]. // *European Journal of Pediatrics*. – 1996. – Vol. 155 (9). – P. 775-779.
867. Sheep milkborne epidemic of tick-borne encephalitis in Slovakia / Gresíková M., Sekeyová M., Stúpalová S. [et al.]. // *Intervirology*. – 1975. – Vol. 5. – P. 57-61.
868. Siberian subtype tick-borne encephalitis virus, Finland / Jääskeläinen A. E., Tikkakoski T., Uzcategui N. Y. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 12 (10). – P. 1568-1571.
869. Siberian subtype tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* in a newly emerged focus, Finland / Jääskeläinen A. E., Tonteri E., Pieninkeroinen I. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2016. – Vol. 7 (1). – P. 216-223.
870. Sicklinger, M. In vitro susceptibility of four antibiotics against *Borrelia burgdorferi*: a comparison of results for the three genospecies *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, and *Borrelia burgdorferi sensu stricto* / M. Sicklinger, R. Wienecke, U. Neubert // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2003. – Vol. 41. – P. 1791-1793.
871. Simple objective detection of human Lyme disease infection using immune-PCR and a single recombinant hybrid antigen / M. Halpern, C. Molis, M. Schriefer, M. Jewett // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2014. – Vol. 21 (8). – P. 1094-1105.
872. Simultaneous human granulocytic ehrlichiosis and Lyme borreliosis / Nadelman R. B., Horowitz H. W., Hsieh T. C. [et al.]. // *New England Journal of Medicine*. – 1997. – Vol. 337. – P. 27-30.
873. Single nucleotide polymorphism in the promoter region of the CD209 gene is associated with human predisposition to severe forms of tick-borne encephalitis. / Barkhash A. V., Perelygin A. A., Babenko V. N. [et al.]. // *Antiviral Research*. – 2012. – Vol. 93 (1). – P. 64-68.
874. Sinnecker, H. Zeckenencephalitis in Deutschland / H. Sinnecker // *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie, und Hygiene Abteilung*. – 1960. – Vol. 180. – P. 12-18.
875. Skarpaas, T. First human cases of tick-borne encephalitis, Norway / T. Skarpaas, U. Ljøstad, A. Sundøy // *Emerging Infectious Diseases*. – 2004. – Vol. (10). – P. 2241-2243.
876. Smilack, J. D. The tetracyclines. / J. D. Smilack // *Mayo Clinic Proceedings*. – 1999. – Vol. 74. – P. 727-729.
877. Smit, R. Cost-effectiveness of tick-borne encephalitis vaccination in Slovenian adults / R. Smit // *Vaccine*. – 2012. – Vol. 30 (44). – P. 6301-6306.

878. Specific immune responses in Lyme borreliosis. Characterization of T cell and B cell responses to *Borrelia burgdorferi* / Dattwyler R. J., Volkman D. J., Halperin J. J. [et al.]. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1988. – Vol. 539. – P. 93-102.
879. Spirochete antigens persist near cartilage after murine Lyme borreliosis therapy / L. Bockenstedt, D. Gonzalez, A. Haberman, A. Belperron // *Journal of Clinical Investigation*. – 2012. – Vol. 122 (7). – P. 2652-2660.
880. Spirochetes in *Ixodes dammini* and mammals from Connecticut / Anderson J. F., Magnarelli W., Burgdorfer W. [et al.]. // *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 1983. – Vol. 32. – P. 818-824.
881. Solitary borrelial lymphocytoma in adult patients / Maraspin V., Cimperman J., Lotrič-Furlan S. [et al.]. // *Wiener Medizinische Wochenschrift*. – 2002. – Vol. 114 (13-14). – P. 515-523.
882. Songbirds as general transmitters but selective amplifiers of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genotypes in *Ixodes ricinus* ticks / D. Heylen, E. Matthysen, M. Fonville, H. Sprong // *Environmental Microbiology*. – 2014. – Vol. 16. – P. 2859-2868.
883. Southern, P. M. Relapsing fever: a clinical and microbiological review / P. M. Southern, J. P. Sanford // *Medicine (Baltimore)*. – 1969. – Vol. 48. – P. 129-149.
884. Stanek, G. Lyme borreliosis – from tick bite to diagnosis and treatment / G. Stanek, F. Strle // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2018. – Vol. 42. – P. 233-258.
885. Steere, A. C. Lyme disease / A. C. Steere // *New England Journal of Medicine*. – 2001. – Vol. 345. – P. 115-125.
886. Steere, A. C. Lyme disease (Lyme borreliosis) due to *Borrelia burgdorferi* (Chapter 241) / A. C. Steere // *Infectious Diseases and their etiologic agents (Part III)*. – Elsevier, 2019. – P. 2911-2922.
887. Steffen, R. Tick-borne encephalitis (TBE) in children in Europe: Epidemiology, clinical outcome and comparison of vaccination recommendations / R. Steffen // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2019. – Vol. 10 (1). – P. 100-110.
888. Stiasny, K. Characteristics of antibody responses in tick-borne encephalitis vaccination breakthroughs / K. Stiasny, H. Holzmann, F. X. Heinz // *Vaccine*. – 2009. – Vol. 27 (50). – P. 7021-7026.
889. Stone, B. L. Host immune evasion by Lyme and relapsing fever *Borreliae*: findings to lead future studies for *Borrelia miyamotoi* / B. L. Stone, C. A. Brissette // *Frontiers in Immunology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 12.
890. Stricker, R. B. Decreased CD57 lymphocyte subset in patients with chronic Lyme disease / R. B. Stricker, E. E. Winger // *Immunology Letters*. – 2001. – Vol. 76 (1). – P. 43-48.

891. Stricker. R. B. Lyme disease: the next decade / R. B. Stricker, L. Johnson // *Infection and Drug Resistance*. – 2011. – Vol. 4. – P. 1-9.
892. Strle F., Stanek G. Clinical manifestations and diagnosis of Lyme borreliosis / F. Strle, G. Stanek // *Current problems in dermatology*. – 2009. – Vol. 37. – P. 51-110.
893. Study on the trend of the epidemic of tick-borne encephalitis in Heilongjiang province / Zhang D. H., Zhang Z. X., Wang Y. M. [et al.]. // *Ji Bing Jian Ce*. – 2000. – Vol. 15. – P. 57-58.
894. Surveillance for *Borrelia* spp. in Upland Game Birds in Pennsylvania, USA / Cleveland C. A., Swanepoel L., Brown J. D. [et al.]. // *Journal of Veterinary Science*. – 2020. – Vol. 7 (3). – P. 82.
895. Surveillance perspective on Lyme borreliosis across the European Union and European Economic Area / van den Wijngaard C. C., Hofhuis A., Simoes M. [et al.]. // *Eurosurveillance*. – 2017. – Vol. 22 (27). – P. 30569.
896. Suspected early Lyme neuroborreliosis in patients with erythema migrans / Ogrinc K., Lotric-Furlan S., Maraspin-Carman V. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 57. – P. 501-509.
897. Suss, J. Tick-borne encephalitis in Europe and beyond - the epidemiological situation as of 2007 / J. Suss // *Eurosurveillance*. – 2008. – Vol. 13 (26). – P. 18916.
898. Sykes, R. A. An estimate of Lyme borreliosis incidence in Western Europe / R. A. Sykes, P. Makiello // *Journal of Public Health*. – 2017. – Vol. 39. – P. 74-81.
899. Tamura, K. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 / K. Tamura, G. Stecher, S. Kumar // *Molecular Biology and Evolution*. – 2021. – Vol. 38 (7). – P. 3022-3027.
900. Taylor, R. S. Review of treatment options for Lyme borreliosis / R. S. Taylor, I. N. Simpson // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2005. – Vol. 17 (Suppl 2). – P. 3-16.
901. Telford, S. R. Ecology of *Francisella tularensis* / S. R. Telford, H. K. Goethert // *Annual Review of Entomology*. – 2020. – Vol. 65. – P. 351-372.
902. The borrelial fibronectin-binding protein RevA is an early antigen of human Lyme disease / Brisette C. A., Rossmann E., Bowman A. [et al.]. // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2010. – Vol. 17 (2). – P. 274-280.
903. The clinical assessment, treatment, and prevention of Lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America / Wormser G. P., Dattwyler R. J., Shapiro E. D. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 43 (9). – P. 1089-1134.
904. The developmental cycle of *Ehrlichia chaffeensis* in vertebrate cells // Zhang J. Z., Popov V. L., Gao S., [et al.]. // *Cellular microbiology*. – 2007. – Vol. 9. – P. 610-618.

905. The epidemiology, prevention, investigation and treatment of Lyme borreliosis in United Kingdom patients: a position statement by the British Infection Association / British Infection Association // *Journal of Infection*. – 2011. – Vol. 62 (5). – P. 329-338.
906. The evolution of hard tick-borne relapsing fever borreliae is correlated with vector species rather than geographical distance / Nakao R., Kasamo K., Boldbaatar B. [et al.] // *BMC Ecology and Evolution*. – 2021. – Vol. 21 (1). – P. 105.
907. The human ehrlichioses in the United States / J. McQuiston, C. Paddock, R. Holman, J. Childs // *Emerging Infectious Diseases*. – 1999. – Vol. 5. – P. 635-642.
908. The human granulocytic ehrlichiosis agent in Swedish ticks/ Von Stedink L.V., Gürtelschmid M., Hanson H.S. [et al.]. // *Clinical Microbiology and Infection*. – 1997. – Vol. 3. – P. 573-574.
909. The importance of early treatment with doxycycline in human ehrlichiosis / Hamburg B. J., Storch G. A., Micek S.T. [et al.]. // *Medicine (Baltimore)*. – 2008. – Vol. 87. – P. 53-60.
910. The isolation of Central European encephalitis (Tick-borne encephalitis) virus from *Ixodes ricinus* (L.) ticks in southern Germany / Rehse-Küpper B., Danielová V., Klenk W. [et al.]. // *Zentralblatt für Bakteriologie Origin A*. – 1978. – Vol. 242. – P. 148-155.
911. The key roles of selection and migration in the ecology of Lyme borreliosis / Kurtenbach K., De Michelis S., Sewell H. S. [et al.]. // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2002. – Vol. 291 (Suppl 33). – P. 152-154.
912. The lymphocyte transformation test for the diagnosis of Lyme borreliosis has currently not been shown to be clinically useful / Dessau R., Fingerle V., Gray J. [et al.]. // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2014. – Vol. 20 (10). – P. O786-7.
913. The presence of eschars, but not greater severity, in Portuguese patients infected with Israeli spotted fever / de Sousa R., Ismail N., Doria-Nobrega S. [et al.]. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2005. – Vol. 1063. – P. 197-202.
914. The seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in global human populations: A systematic review and meta-analysis / Wang. F., Yan M., Liu, A., [et al.] // *Transboundary and Emerging Diseases*. – 2020. – doi: 10.1111/tbed.13548.
915. The TBE Book (5th edition) / [G. Dobler et al.]; G. Dobler et al. – Singapore: Global Health Press, 2022. – 387 p.
916. Thomas, R. J. Current management of human granulocytic anaplasmosis, human monocytic ehrlichiosis and *Ehrlichia ewingii* ehrlichiosis / R. J. Thomas, J. S. Dumler, J. A. Carlyon // *Expert Review of Anti-infective Therapy*. – 2009. – Vol. 6. – P. 709-722.

917. Thompson, Ch. Coinfesting deer-associated zoonoses: Lyme disease, babesiosis, and ehrlichiosis / Ch. Thompson, A. Spielman, P. Krause // *Clinical Infectious Diseases*. – 2001. – Vol. 33 (5). – P. 676-685.
918. Three major Lyme borrelia genospecies (*Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii* and *B. garinii*) identified by PCR in cerebrospinal fluid from patients with neuroborreliosis in Sweden / Ornstein K., Berglund J., Bergstrom S. [et al.]. // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. – 2002. – Vol. 34. – P. 341-346.
919. Three multiplex assays for detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Borrelia miyamotoi sensu lato* in field-collected *Ixodes* nymphs in North America / Ullmann A. J., Gabitzsh E. S., Shulze T. L. [et al.]. // *Journal of Medical Entomology*. – 2005. – Vol. 42 (6). – P. 1057-1062.
920. Three species of *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, and *B. garinii*) identified from cerebrospinal fluid isolates by pulsed-field gel electrophoresis and PCR / Bush U., Hizo-Teufel C., Boehmer R. [et al.]. // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1996. – Vol. 34 (5). – P. 1072-1078.
921. Tick-borne encephalitis. Annual Epidemiological Report for 2017. Surveillance report, ECDC: сайт. – 2017. – URL: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2017-tick-borne-encephalitis_0.pdf (дата обращения: 22.11.2019).
922. Tick-borne encephalitis associated with consumption of raw goat milk, Slovenia, 2012 / Hudopisk N., Korva M., Janet E. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 19 (5). – P. 806-808.
923. Tickborne encephalitis despite specific immunoglobulin prophylaxis / Kluger G., Schöttler A., Waldvogel K. [et al.]. // *Lancet*. – 1995. – Vol. 346 (8988). – P. 1502.
924. Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria / Holzmann H., Aberle S. W., Stiasny K. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2009. – Vol. 15 (10). – P. 1671-1673.
925. Tickborne encephalitis in an area of high endemicity in Lithuania: disease severity and long-term prognosis / Mickienė A., Laiškonis A., Günther G., [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 2002. – Vol. 35 (6). – P. 650-658.
926. Tick-borne encephalitis in Japan, Republic of Korea and China / Yoshii K., Song J. Y., Park S. B., [et al.]. // *Emerging Microbes and Infections*. – 2017. – Vol. 6 (9). – P. e82.
927. Tick-borne encephalitis in Poland in years 1993-2008 – epidemiology and clinical presentation. A retrospective study of 687 patients / Czupryna P., Moniuszko A., Pancewicz S. A. [et al.]. // *European Journal of Neurology*. – 2011. – Vol. 18. – P. 673-679.

928. Tick-borne encephalitis in Sweden in relation to aseptic meningoencephalitis of other etiology: a prospective study of clinical course and outcome / Günther G., Haglund M., Lindquist L. [et al.]. // *Journal of Neurology*. – 1997. – Vol. 244. – P. 230-238.
929. Tick-borne encephalitis (TBE)-vaccination coverage and analysis of variables associated with vaccination, Sweden / H. Askling, M. Insulander, M. Hergens, A. Leval // *Vaccine*. – 2015. – Vol. 33 (38). – P. 4962-4968.
930. Tick-borne encephalitis (TBE) vaccination in children: advantage of the rapid immunization schedule (i.e., days 0, 7, 21) / Schoendorf I., Ternak G., Oroszlan G. [et al.]. // *Human Vaccines*. – 2007. – Vol. 3 (2). – P. 42-47.
931. Tick-borne encephalitis virus-a review of an emerging zoonosis / Mansfield K. L., Johnson N., Phipps L. P. [et al.]. // *Journal of General Virology*. – 2009. – Vol. 90. – P. 1781-1794.
932. Tick-borne encephalitis virus and the immune response of the mammalian host / B. Dörrbecker, G. Dobler, M. Spiegel, F. Hufert // *Travel Medicine and Infectious Disease*. – 2010. – Vol. 8. – P. 213-222.
933. Tick-borne encephalitis virus in wild rodents in winter, Finland, 2008-2009 / Tonteri E., Jääskeläinen A., Tikkakoski T. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 17 (1). – P. 72-75.
934. Tick-borne encephalitis virus, Kyrgyzstan / Briggs B. J., Atkinson B., Czechowski D. M. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 17 (5). – P. 876-879.
935. Tick-Borne Encephalitis Virus, United Kingdom / Holding M., Dowall S. D., Medlock J. M. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 26 (1). – P. 90-96.
936. Tick-borne encephalitis virus strains of Western Siberia / Bakhvalova V. N, Rar V. A., Tkachev S. E. [et al.]. // *Virus Research*. – 2000. – Vol. 70. – P. 1-12.
937. Tick-borne encephalitis with hemorrhagic syndrome, Novosibirsk region, Russia, 1999 / Ternovoi V. A., Kurzhuikov G. P., Sokolov Y. V. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2003. – Vol. 9. – P. 743-736.
938. Tick-borne pathogens and associated co-infections in ticks collected from domestic animals in central China / Chen Z., Liu Q., Liu G-Q. [et al.]. // *Parasites and Vectors*. – 2014. – Vol. 7. – P. 237.
939. Tick-borne relapsing fever / M. Dworkin, T. Schwan, D. Anderson, S. Borchardt // *Infectious Disease Clinics of North America*. – 2008. – Vol. 22. – P. 449-468.
940. Tick-borne relapsing fever in the northwestern United States and southwestern Canada / Dworkin M. S., Anderson D. E. Jr., Schwan T. G. [et al.]. // *Clinical Infectious Diseases*. – 1998. – Vol. 26. – P. 122-131.

941. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines / Ruzek D., Avšič Županc T., Borde J. [et al.]. // *Antiviral Research.* – 2019. – Vol. 164. – P. 23-51.
942. Tick-borne encephalitis, southwestern France / Herpe B., Schuffenecker I., Pillot J. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases.* – 2007. – Vol. 13. – P. 1114-1116.
943. Tickborne pathogen detection, Western Siberia, Russia / Rar V. A., Fomenko N. V., Dobrotvorsky A. K. [et al.] // *Emerging Infectious Diseases.* – 2005. – Vol. 11. (11). – P. 1708-1715.
944. Tick-borne relapsing fever: polymerase chain reaction of tick-borne relapsing fever caused by *Borrelia hermsii* / Uhlmann E. J., Seed P. C., Schwan R. G. [et al.]. // *Pediatric Infectious Disease Journal.* – 2007. – Vol. 26 (3). – P. 267-269.
945. To test or not to test? Laboratory support for the diagnosis of Lyme borreliosis / Dessau R. B., van Dam A. P., Fingerle V. [et al.]. // *Clinical Microbiology and Infection.* – 2018. – Vol. 24 (2). – P. 118-124.
946. Transfusion-associated *Anaplasma phagocytophilum* infection in a pregnant patient with thalassemia trait: a case report / Shields K., Cumming M., Rios J. [et al.]. // *Transfusion.* – 2015. – Vol. 55. – P. 719-25.
947. Transient activation of hematopoietic stem and progenitor cells by IFN γ during acute bacterial infection / MacNamara K. C., Jones M., Martin O., [et al.]. // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6. – P. e28669.
948. Treatment of Lyme borreliosis in Europe: сайт. – URL: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/246167/Fact-sheet-Lyme-borreliosis-Eng.pdf (дата обращения: 10.11.2022).
949. Tsao, J. I. Reviewing molecular adaptations of Lyme borreliosis spirochetes in the context of reproductive fitness in natural transmission cycles / J. I. Tsao // *Veterinary Research.* – 2009. – Vol. 40 (2). – P. 36.
950. Typhus group *Rickettsiae* antibodies in rural Mexico / Alcantara V. E., Gallardo E. G., Hong C. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases.* – 2004. – Vol. 10. – P. 549-551.
951. Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus *Ehrlichia* / Popov V. L., Han V. C., Chen S. M. [et al.]. // *Journal of Medical Microbiology.* – 1998. – Vol. 47. – P. 235-251.
952. Ultrastructural evidence of the ehrlichial developmental cycle in naturally infected *Ixodes persulcatus* ticks in the course of coinfection with *Rickettsia*, *Borrelia*, and a flavivirus / Popov V. L., Korenberg E. I., Nefedova V. V. [et al.]. // *Vector-borne and Zoonotic Diseases*. – 2007. – Vol. 7. – P. 699-716.

953. Ultrastructural variation of cultured Ehrlichia chaffeensis / Popov V. L., Chen S. M., Feng H. M. [et al.]. // *Journal of Medical Microbiology*. – 1995. – Vol. 43. – P. 411-421.
954. Vaccination against Lyme disease with recombinant Borrelia burgdorferi outer-surface lipoprotein A with adjuvant. Lyme Disease Vaccine Study Group / Steere A. C., Sikand V. K., Meurice F. [et al.]. // *New England Journal of Medicine*. – 1998. – Vol. 339. – P. 209-215.
955. Vaccination and Tick-borne Encephalitis, Central Europe / Heinz F. X., Stiasny K., Holzmann H. [et al.]. // *Emerging Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 19 (1). – P. 69-76.
956. Vaccine failures after active immunisation against tick-borne encephalitis / Andersson C. R., Vene S., Insulander M. [et al.]. // *Vaccine*. – 2010. – Vol. 28 (16). – P. 2827-2831.
957. Vaccine-induced enhancement of viral infections / Huisman W., Martina B. E., Rimmelzwaan G. F. [et al.]. // *Vaccine*. – 2009. – Vol. 27 (4). – P. 505-512.
958. Vaccine schedules in all countries of the European Union: сайт. – URL: <https://vaccine-schedule.ecdc.europa.eu/> (дата обращения: 22.11.2019).
959. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper / *Weekly Epidemiology Record*. – 2011. – Vol. 86 (24). – P. 241-256.
960. Vaccines and vaccination against tick-borne encephalitis / Kollaritsch H, Paulke-Korinek M., Holzmann H. [et al.]. // *Expert Review of Vaccines*. – 2012. – Vol. 11 (9). – P. 1103-1119.
961. Vaisviliene, D. TBE in Lithuania / D. Vaisviliene // *Proceedings of the Fourth International Potsdam Symposium on Tick-Borne Diseases*. – Lengerich: Pabst Science Publishers, 1997. – P. 100-113.
962. Valentine-Thon, E. A novel lymphocyte transformation test (LTT-MELISA®) for Lyme borreliosis / E. Valentine-Thon, K. Ilsemann, M. Sandkamp // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. – 2007. – Vol. 57 (1). – P. 27-34.
963. Valneva. Valneva reports positive initial booster data and final phase 1 data for its Lyme disease vaccine candidate: сайт. – 2019. – URL: <https://valneva.com/press-release/valneva-reports-positive-initial-booster-data-and-final-phase-1-data-for-its-lyme-disease-vaccine-candidate/> (дата обращения: 12.02.2020).
964. Van Dobbenburgh, A. Human granulocytic ehrlichiosis in Western Europe / A. Van Dobbenburgh, A. P. Van Dam, E. Fikrig // *New England Journal of Medicine*. – 1999. – Vol. 340. – P. 1214-1216.
965. Vaňousova, D. Lyme borreliosis treatment / D. Vaňousova, J. Hercogová // *Dermatologic Therapy*. – 2008. – Vol. 21. – P. 101-109.
966. Variability in the 2'-5'-oligoadenylate synthetase gene cluster is associated with human predisposition to tick-borne encephalitis virus-induced disease / Barkhash A. V., Perelygin, A. A., Babenko V. N. [et al.]. // *Journal of Infectious Diseases*. – 2010. – Vol. 12. – P. 1813-1818.

967. Variability of the tick-borne encephalitis virus genome in the 5' noncoding region derived from ticks *Ixodes persulcatus* and *Ixodes pavlovskyi* in Western Siberia. / Chausov E. V., Ternovoi V. A., Protopopova E. V. [et al.]. // *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. – 2010. – Vol. 10. – P. 365-375.
968. Variable presentation and course in human granulocytic ehrlichiosis: twelve case reports of the new tick-borne zoonosis / Björnsdorff A., Berglund J., Kristiansen B. E. [et al.]. // *Lakartidningen*. – 1999. – Vol. 96. – P. 4200-4204.
969. Variation in adult vaccination policies across Europe: An overview from VENICE network on vaccine recommendations, funding and coverage / Kanitz E. E., Wu L. A., Giambi C. [et al.]. // *Vaccine*. – 2012. – Vol. 30. – P. 5222-5228.
970. Virome analysis of tick-borne viruses in Heilongjiang Province, China / Meng F., Ding M., Tan Z. [et al.]. // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2019. – Vol. 10 (2). – P. 412-420.
971. Von Baehr, V. The lymphocyte transformation test for *Borrelia* detects active Lyme borreliosis and verifies effective antibiotic treatment / V. Von Baehr // *Open Neurology Journal*. – 2012. – Vol. 6 (1). – P. 104-112.
972. Vorobyeva, N. N. Diagnostics of tick-borne diseases in the endemic region of Russia / N. N. Vorobyeva, E. I. Korenberg, Y. V. Grigoryan // *Wiener Medizinische Wochenschrift*. – 2002. – Vol. 114 (13-14). – P. 610-612.
973. Wahlberg, P. Tick-borne viral encephalitis in Finland. The clinical features of Kumlinge disease during 1959 - 1987 / P. Wahlberg, P. Saikku, M. Brummer- Korvenkontio // *Journal of Internal Medicine*. – 1989. – Vol. 225. – P. 173-177.
974. Walker, D. H. Tick-transmitted infectious diseases in the United States / D. H. Walker // *Annual Review of Public Health*. – 1998. – Vol. 19. – P. 237-269.
975. Walker, D. H. Ehrlichia under our noses and no one notices / D. H. Walker // *Archives of Virology Supplementum*. – 2005. – Vol. 19. – P. 147-156.
976. Walker, D. H. Emerging and re-emerging tick-transmitted rickettsial and ehrlichial infections / D. H. Walker, C. D. Paddock, J. S. Dumler // *Medical Clinics of North America*. – 2008. – Vol. 92. – P. 1345-1361.
977. Warner, R. D. An outbreak of tickbite-associated illness among military personnel subsequent to a field training exercise / R. D. Warner, E. D. Jemelka, A. E. Jessen // *Journal of the American Veterinary Medical Association*. – 1996. – Vol. 209. – P. 78-81.
978. Weber, K. History of Lyme borreliosis in Europe / K. Weber, W. Burgdorfer // *Aspects of Lyme borreliosis*. – Germany: Springer-Verlag KG, Berlin, 1993. – P. 1-20.
979. Weinstein A. Lyme arthritis and post-Lyme disease syndrome / A. Weinstein, M. Britchkov // *Current opinion in rheumatology*. – 2002. – Vol. 14 (4). – P. 383-387.

980. Whole-Genome Sequencing of Six *Borrelia miyamotoi* Clinical Strains Isolated in Russia / Kuleshov K. V., Koetsveld J., Goptar I. A. [et al.]. // *Genome Announcements*. – 2018. – Vol. 6 (1). – P. e01424-17.
981. Wiedermann, U. Tick borne encephalitis TBE – Vaccination in non-endemic countries / U. Wiedermann // *Travel Medicine and Infectious Disease*. – 2010. – Vol. 8 (4). – P. 251-256.
982. Wittermann, C. Long-term persistence of tick-borne encephalitis antibodies in children 5 years after first booster vaccination with Encepur Children / C. Wittermann, E. Petri, O. Zent // *Vaccine*. – 2009. – Vol. 27 (10). – P. 1585-1588.
983. Wittermann, C. Antibody response following administration of two paediatric tick-borne encephalitis vaccines using two different vaccination schedules / C. Wittermann, I. Schondorf, D. Gniel // *Vaccine*. – 2009. – Vol. 27 (10). – P. 1661-1666.
984. Xiong, Q. Cholesterol-dependent anaplasma phagocytophilum exploits the low-density lipoprotein uptake pathway / Q. Xiong, M. Lin, Y. Rikihisa // *PLoS Pathogens*. – 2009. – Vol. 5 (3). – P. e1000329.
985. Yuan, F. Entry of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus / F. Yuan, A. Zheng // *Virologica sinica*. – 2017. – Vol. 32(1). – P. 44-50.
986. Zajkowska, J. Tick-borne encephalitis – epidemiology, pathogenesis and clinical course, prophylaxis and treatment / J. Zajkowska, P. Czupryna // *Forum Zakazeń*. – 2013. – Vol. 4 (1). – P. 43-51.
987. Zhang, J. R. Genetic variation of the *Borrelia burgdorferi* gene vlsE involves cassette-specific, segmental gene conversion / J. R. Zhang, S. L. Norris // *Infection and Immunity*. – 1998. – Vol. 66. – P. 3698-3704.
988. Zhang, J. R. Kinetics and in vivo induction of genetic variation of vlsE in *Borrelia burgdorferi* / J. R. Zhang, S. L. Norris // *Infection and Immunity*. – 1998. – Vol. 66. – P. 3689-3697.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А. ФОРМУЛЫ ДЛЯ РАСЧЕТА ЗАТРАТ В МОДЕЛИ СОЦИАЛЬНО-
ЭКОНОМИЧЕСКОГО БРЕМЕНИ**

Таблица А – Формулы расчета

Показатель	Обозначение	Формула для расчета
Частота применения лечения в стационаре	$HS\%_{yyzz}$	-
Стоимость одного койко-дня в стационаре	$HSCost_{yy}$	-
Необходимое количество койко-дней	HSQ_{yyzz}	-
ИТОГО: средние затраты на лечение в стационаре в расчете на одного пациента	HS	$\sum_{yy \in YY} [yyAge \sum_{zz \in ZZ} [Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyHSCost \cdot yyHSQ_{zz}]]$
Частота применения амбулаторного лечения	$AM\%_{yyzz}$	-
Частота перехода на амбулаторное лечение после лечения в стационаре	$AMHS\%_{yyzz}$	-
Стоимость одного посещения врача	$AMCost_{yy}$	-
Необходимое количество посещений	AMQ_{yyzz}	-
ИТОГО: средние затраты на амбулаторное лечение одного пациента	AM	$\sum_{yy \in YY} [yyAge \sum_{zz \in ZZ} [Type_{zz} \cdot yyAM\%_{zz} \cdot yyAMCost \cdot yyAMQ_{zz}]] +$ $+ \sum_{yy \in YY} [yyAge \sum_{zz \in ZZ} [yyHS\%_{zz} \cdot yyAMHS\%_{zz} \cdot$ $\cdot yyAMCost \cdot yyAMQ_{zz} \cdot Type_{zz}]]$
ИТОГО: средние медицинские текущие затраты в расчете на одного пациента	$CurMed$	$AM + HS$
Частота хронизации заболевания	$Ch\%_{yyzz}$	-
Необходимое количество койко-дней в стационаре в год для больного в хронической стадии заболевания	$HSQCh$	-
Ежегодная стоимость пребывания в стационаре в расчете на одного хронического больного	$HSch_{yy}$	$yyHSCost \cdot HSQCh$
Необходимое количество посещений врача в год для больного в хронической стадии заболевания	$AMQCh$	-
Ежегодная стоимость амбулаторного лечения в расчете на одного больного в хронической стадии заболевания	$AMCh_{yy}$	$yyAMCost \cdot AMQCh$
ИТОГО: ежегодные медицинские затраты на одного больного в хронической стадии заболевания	$MedCh_{yy}$	$yyAMCh + yyHSch$

Продолжение Таблицы А

Средняя величина приведенной стоимости ежегодных медицинских затрат, связанных с развитием хронического заболевания, в расчете на одного пациента моложе трудоспособного возраста	$FutMedCh_{young}$	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = young}} Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyCh\%_{zz} \cdot$ $\left[\frac{1}{1+r} \cdot youngMedCh \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^8 - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} + \right.$ $\left. \left(\frac{1}{1+r}\right)^9 \cdot matureMedCh \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{youngLife-9} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} \right]$
Средняя величина приведенной стоимости ежегодных медицинских затрат, связанных с развитием хронического заболевания, в расчете на одного пациента трудоспособного возраста	$FutMedCh_{mature}$	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = mature}} Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyCh\%_{zz} \cdot$ $\frac{1}{1+r} \cdot matureMedCh \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{matureLife-1} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1}$
Средняя величина приведенной стоимости ежегодных медицинских затрат, связанных с развитием хронического заболевания, в расчете на одного пациента старше трудоспособного возраста	$FutMedCh_{old}$	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = old}} Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyCh\%_{zz} \cdot$ $\frac{1}{1+r} \cdot matureMedCh \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{oldLife-1} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1}$
ИТОГО: средняя величина приведенной стоимости медицинских затрат, связанных с развитием хронического заболевания, в расчете на одного пациента	$FutMedCh$	$\sum_{yy \in YY} yyAge \cdot yyFutMedCh$
Частота инвалидизации пациентов	$In\%_{yy,zz}$	-
Необходимое количество койко-дней для инвалидов в стационаре в год	$HSQIn$	-
Ежегодная стоимость пребывания в стационаре в расчете на одного инвалида	$HSIn_{yy}$	$yyHSCost \cdot HSQIn$
Необходимое количество посещений врача для инвалидов в год	$AMQIn$	-
Ежегодная стоимость амбулаторного лечения в расчете на одного инвалида	$AMIn_{yy}$	$yyAMCost \cdot AMQIn$
Ежегодная стоимость льготного лекарственного обеспечения в расчете на одного инвалида	$Medicine$	
ИТОГО: ежегодные медицинские затраты на одного инвалида	$MedIn_{yy}$	$yyAMIn + yyHSIn + Medicine$

Продолжение Таблицы А

Средняя величина приведенной стоимости ежегодных медицинских затрат, связанных с лечением инвалидов, в расчете на одного пациента моложе трудоспособного возраста	<i>FutMedIn</i> <i>young</i>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = young}} Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyIn\%_{zz} \cdot$ $\left[\frac{1}{1+r} \cdot youngMedIn \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^8 - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} + \right.$ $\left. \left(\frac{1}{1+r}\right)^9 \cdot matureMedIn \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{youngLife-9} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} \right]$
Средняя величина приведенной стоимости ежегодных медицинских затрат, связанных с лечением инвалидов, в расчете на одного пациента трудоспособного возраста	<i>FutMedIn</i> <i>mature</i>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = mature}} Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyIn\%_{zz} \cdot$ $\frac{1}{1+r} \cdot matureMedIn \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{matureLife-1} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1}$
Средняя величина приведенной стоимости ежегодных медицинских затрат, связанных с лечением инвалидов, в расчете на одного пациента старше трудоспособного возраста	<i>FutMedIn</i> <i>old</i>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = old}} Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyIn\%_{zz} \cdot$ $\frac{1}{1+r} \cdot matureMedIn \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{oldLife-1} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1}$
ИТОГО: средняя величина приведенной стоимости медицинских затрат, связанных с лечением инвалидов, в расчете на одного пациента	<i>FutMedIn</i>	$\sum_{yy \in YY} yyAge \cdot yyFutMedIn$
Длительность диспансерного наблюдения	<i>DispLen</i> <i>yy</i> <i>zz</i>	
Количество ежегодных посещений врача в рамках диспансерного наблюдения	<i>DispQ</i> <i>yy</i> <i>zz</i>	
Частота полного выздоровления в стационаре	<i>Rec%</i> <i>yy</i> <i>zz</i>	
ИТОГО: средняя приведенная стоимость диспансерного наблюдения в расчете на одного пациента	<i>FutMedDisp</i>	$\sum_{yy \in YY} [yyAge \sum_{zz \in ZZ} [(yyAM_{zz} + yyHS_{zz}(yyRec\%_{zz} + yyAMHS_{zz}) \cdot$ $\cdot \frac{1}{1+r} \cdot yyDispQ_{zz} \cdot yyAMCost \cdot$ $\frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{yyDispLen_{zz}} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} \cdot Type_{zz}]]$
ИТОГО: медицинские отложенные затраты в расчете на одного пациента	<i>FutMed</i>	<i>FutMedCh</i> + <i>FutMedIn</i> + <i>FutMedDisp</i>
Годовой ВРП РФ	<i>GDP</i>	-
Количество занятых в РФ	<i>E</i>	-
Длительность временной нетрудоспособности при амбулаторном наблюдении	<i>AmDays</i> <i>yy</i> <i>zz</i>	-

Продолжение Таблицы А

ИТОГО: средний упущенный выпуск продукции в связи с временной нетрудоспособностью одного пациента	<i>LostGDP</i>	$matureAge \cdot \sum_{zz \in ZZ} Type_{zz} \cdot (matureHS\%_{zz} \cdot (matureHSQ_{zz} +$ $+ matureAMHS\%_{zz} \cdot matureAmDays_{zz}) + matureAM\%_{zz} \cdot$ $\cdot matureAmDays_{zz}) \cdot \frac{GDP}{E} \cdot \frac{1}{365}$
Средняя ежемесячная з/п в РФ	<i>Wage</i>	
ИТОГО: средние затраты на выплату пособия по временной нетрудоспособности на одного пациента	<i>Compensation</i>	$matureAge \cdot \sum_{zz \in ZZ} Type_{zz} \cdot (matureHS\%_{zz} \cdot (matureHSQ_{zz} +$ $+ matureAMHS\%_{zz} \cdot matureAmDays_{zz}) + matureAM\%_{zz} \cdot$ $\cdot matureAmDays_{zz}) \cdot \frac{Wage}{30}$
ИТОГО: средние текущие немедицинские затраты на одного пациента	<i>CurIndir</i>	<i>LostGDP + Compensation</i>
Средняя величина приведенной стоимости ежегодных социальных затрат (пособие по временной нетрудоспособности + упущенный вклад в ВРП), связанных с хронизацией заболевания, в расчете на одного пациента моложе трудоспособного возраста	<i>FutIndirCh_{young}</i>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = young}} Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyCh\%_{zz} \cdot$ $\left(\frac{1}{1+r}\right)^9 \cdot \left(\frac{GDP}{E} \cdot \frac{1}{365} + \frac{Wage}{30}\right) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{42} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} \cdot$ $\cdot (AMQCh + HSQCh)$
Средняя величина приведенной стоимости ежегодных социальных затрат (пособие по временной нетрудоспособности + упущенный вклад в ВРП), связанных с хронизацией заболевания, в расчете на одного пациента трудоспособного возраста	<i>FutIndirCh_{mature}</i>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = mature}} Type_{zz} \cdot yyHS\%_{zz} \cdot yyCh\%_{zz} \cdot$ $\frac{1}{1+r} \cdot \left(\frac{GDP}{E} \cdot \frac{1}{365} + \frac{Wage}{30}\right) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{20} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} \cdot$ $\cdot (AMQCh + HSQCh)$
ИТОГО: средние приведенные немедицинские затраты (выплата пособия по временной нетрудоспособности и упущенный вклад в производство), связанные с хронизацией болезни в расчете на одного пациента	<i>FutIndirCh</i>	$\sum_{yy \in YY} yyAge \cdot yyFutIndirCh$
Ежемесячное пособие по инвалидности	<i>InvalidComp</i>	-

Продолжение Таблицы А

Средняя величина приведенной стоимости ежегодных социальных затрат (пособие по инвалидности + упущенный вклад в ВВП), связанных с инвалидизацией, в расчете на одного пациента моложе трудоспособного возраста	<i>FutIndirIn</i> <small>young</small>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = young}} Type_{zz} \cdot {}_{yy}HS\%_{zz} \cdot {}_{yy}In\%_{zz} \cdot$ $\left[\frac{1}{1+r} \cdot (InvalidComp) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^8 - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} + \right.$ $\left. \left(\frac{1}{1+r}\right)^9 \cdot \left(InvalidComp + \frac{GDP}{E}\right) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{42} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} + \right.$ $\left. \left(\frac{1}{1+r}\right)^{50} \cdot (InvalidComp) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{youngLife-50} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} \right]$
Средняя величина приведенной стоимости ежегодных социальных затрат (пособие по инвалидности + упущенный вклад в ВВП), связанных с инвалидизацией, в расчете на одного пациента трудоспособного возраста	<i>FutIndirIn</i> <small>mature</small>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = mature}} Type_{zz} \cdot {}_{yy}HS\%_{zz} \cdot {}_{yy}In\%_{zz} \cdot$ $\frac{1}{1+r} \cdot \left(InvalidComp + \frac{GDP}{E}\right) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{20} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1} +$ $\left(\frac{1}{1+r}\right)^{20} \cdot (InvalidComp) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{matureLife-20} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1}$
Средняя величина приведенной стоимости ежегодных социальных затрат (пособие по инвалидности), связанных с инвалидизацией, в расчете на одного пациента старше трудоспособного возраста	<i>FutIndirIn</i> <small>old</small>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = mature}} Type_{zz} \cdot {}_{yy}HS\%_{zz} \cdot {}_{yy}In\%_{zz} \cdot$ $\left(\frac{1}{1+r}\right) \cdot (InvalidComp) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{oldLife-1} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1}$
ИТОГО: средние приведенные немедицинские затраты (выплата пособия по временной нетрудоспособности и упущенный вклад в производство), связанные с хронизацией болезни в расчете на одного пациента	<i>FutIndirIn</i>	$\sum_{yy \in YY} {}_{yy}Age \cdot {}_{yy}FutIndirIn$
Летальность	<i>Death</i> <small>yy zz</small>	$1 - {}_{yy}Rec\%_{zz} - {}_{yy}AMHS\%_{zz} - {}_{yy}Ch\%_{zz} - {}_{yy}In\%_{zz}$
Средние приведенные немедицинские затраты (упущенный вклад в производство), связанные со смертью пациента в расчете на одного человека моложе трудоспособного возраста	<i>FutIndirDeath</i> <small>young</small>	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = young}} Type_{zz} \cdot {}_{yy}HS\%_{zz} \cdot {}_{yy}Death\%_{zz} \cdot$ $\left(\frac{1}{1+r}\right)^9 \cdot \left(\frac{GDP}{E}\right) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{42} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1}$

Продолжение Таблицы А

Средние приведенные немедицинские затраты (упущенный вклад в производство), связанные со смертью пациента в расчете на одного человека трудоспособного возраста	$FutIndirDeath_{mature}$	$\sum_{\substack{zz \in ZZ, \\ yy = mature}} Type_{zz} \cdot {}_{yy}HS\%_{zz} \cdot {}_{yy}Death\%_{zz} \cdot \frac{1}{1+r} \cdot \left(\frac{GDP}{E}\right) \cdot \frac{\left(\frac{1}{1+r}\right)^{20} - 1}{\frac{1}{1+r} - 1}$
ИТОГО: средние приведенные немедицинские затраты (упущенный вклад в производство), связанные со смертью пациента в расчете на одного человека	$FutIndirDeath$	$\sum_{yy \in YY} {}_{yy}Age \cdot {}_{yy}FutIndirDeath$
ИТОГО: средние отложенные немедицинские затраты на одного пациента	$FutIndir$	$FutIndirCh + FutIndirIn + FutIndirDeath$
ИТОГО: общие затраты в расчете на одного пациента	$AvCost$	$CurMed + FutMed + CurIndir + FutIndir$
ИТОГО: социально-экономическое бремя болезни	$TotalCost$	$AvCost \cdot Patients$
Среднегодовое количество больных	$Patients$	-
Ожидаемое количество лет последующей жизни	$Life_{yy}$	-
Распределение заболевания по возрастным группам	Age_{yy}	-
Распределение формы заболевания	$Type_{zz}$	-
Ставка дисконтирования	r	-

Примечание:

$yyXzz$ – значение показателя X для возрастной группы yy в случае формы заболевания zz.

yy может принимать значения young, mature, old для обозначения возрастных групп лиц моложе трудоспособного возраста, трудоспособного возраста и старше трудоспособного возраста, соответственно. YY означает множество всех возможных возрастных групп пациентов.

zz может принимать значения 01, 02, 03 для обозначения соответствующей формы заболевания (01 для лихорадочной, 02 для менингеальной и 03 для очаговых форм), ZZ означает множество всех возможных форм заболевания.

Отсутствие первого и/или второго индекса у переменной X указывает на то, что данная переменная относится ко всем возрастным группам и/или формам заболевания.