



Е.О. Остапчук, Ю.А. Скиба, С.М. Мамадалиев

Филиал РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» КН МОН РК в г. Алматы, Казахстан

ПРОБЛЕМЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА

Клещевой боррелиоз (болезнь Лайма) – это полиорганный болезнь, вызываемая спирохетой *Borrelia burgdorferi*, являющаяся самым распространенным заболеванием, передаваемым клещами, в Северном полушарии. Диагностика клещевого боррелиоза осложнена наличием широкого полиморфизма клинических проявлений, а также отсутствием чувствительных и надежных, и в то же время простых и быстрых методов прямой идентификации *B. burgdorferi*. Доступные на сегодняшний день лабораторные методы диагностики болезни Лайма делятся на две категории: прямые методы обнаружения *B. burgdorferi* и косвенные методы, главным образом основанные на обнаружении антител против *B. burgdorferi*. Диагностическая ценность выявления антител неудовлетворительна на ранних стадиях заболевания из-за низкой чувствительности, серологических перекрестных реакций и неспособности отличить активную и неактивную формы инфекции, обусловленные персистенцией антител после терапии. Патоген также может быть обнаружен в ходе культивирования образцов на питательных средах, однако чувствительность этого метода низкая – от 30 до 70% - и не может быть использована рутинно из-за длительности проведения анализа. Выявление *B. burgdorferi* методом ПЦР у пациентов может быть достаточно информативным только в случае использования в анализе синовиальной жидкости, и также имеет некоторые ограничения. Целью данного обзора является обобщение современных данных о клинической диагностике болезни Лайма.

Ключевые слова: клещевой боррелиоз, диагностика, иммуноферментный анализ, ПЦР

Введение. Клещевой боррелиоз, или болезнь Лайма, является полиорганный болезнью животных и людей, вызываемой бактериями - спирохетами *Borrelia*, изначально классифицированных как *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Это наиболее распространенное инфекционное заболевание, передающееся клещами в Северном полушарии [1].

В данное время род *Borrelia* включает не менее 20 геновидов, но не все из них считаются патогенными. Пять из них – *Borrelia afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. burgdorferi sensu stricto* и *B. spielmanii* – описаны в качестве возбудителей боррелиоза человека. Другие виды боррелий (например, *Borrelia lusitaniae*, *B. bissettii*, *B. valaisiana*) редко либо никогда не ассоциировались с боррелиозом человека и их патогенность неясна [2, 3]. Виды боррелий также проявляют географическую приуроченность. Так, в Евразии обнаружены геновиды *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*, *B. japonica*, *B. tanukii* и *B. turdae* (последние три встречаются в основном в Японии), а в Америке - группы *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. andersonii*. Среди патогенных для человека наиболее распространенными являются *B. burgdorferi sensu stricto*, являющиеся основной причиной болезни в Северной Америке и Европе, а также распространенные в Евразии *B. garinii* и *B. afzelii*, являющиеся этиологическими агентами практически всех случаев болезни в Российской Федерации. Генотип *B. miyamotoi*, еще недавно считавшийся безопасным для здоровья людей, также был признан агентом, вызывающим Лайм-подобную болезнь с рецидивирующей лихорадкой [4].

Болезнь Лайма делится на раннюю локализованную, раннюю диссеминированную и позднюю стадии. Зачастую болезнь Лайма начинается с характерного поражения кожи – мигрирующей эритемы – в месте укуса клеща, однако данный признак может и отсутствовать. Через несколько дней или недель спирохета распространяется и у пациентов развиваются неврологическое, сердечное или ревматологическое поражение. Инфекция характеризуется низким количеством бактерий в богатых коллагеном тканях. Антибиотикотерапия является единственным способом борьбы с инфекцией, однако известны случаи, когда проявления заболевания спонтанно регрессируют без антибиотикотерапии [2].

Классические формы болезни Лайма, как правило, легко выявляются симптоматически и легко лечатся антибиотиками, но боррелиозы с плеоморфными неспецифическими симптомами зачастую диагностируются неправильно. Болезнь Лайма может имитировать хронические воспалительные или дегенеративные заболевания, включая широкий спектр аутоиммунных заболеваний. Хотя практикующие врачи многих медицинских специальностей, вероятно, сталкивались со случаями болезни Лайма, они, возможно, не могли распознать ее, независимо от того, насколько они

квалифицированы. Основным препятствием является то, что только 30% пациентов сообщают об истории укуса клеща и только 70-80% имеют первичную мигрирующую эритему, патогномичное первичное поражение. Это поражение может остаться нераспознанным или быть ошибочно принято за «укус насекомого» или «аллергическую сыпь». Пациенты с мини-эритемой диагностируются еще с меньшей вероятностью. К тому же, вторичные мигрирующие эритемы наблюдаются только примерно в 50% случаев [5].

Как уже было отмечено, для боррелиоза характерен широкий полиморфизм клинических проявлений, таких как лихорадка, кожные поражения в виде различных эритем, патологии нервной системы, включая серозные менингиты, патологии сердца, ревматоидный артрит и другие поражения суставов [6]. При этом существуют некоторые различия в клинической картине в зависимости от заражающего генотипа. Так, *B. garinii* с большей вероятностью вызывает нейроборрелиоз, *B. burgdorferi sensu stricto* и *B. afzelii* вызывают атрофический хронический акродерматит с выраженными клиническими признаками артрита, а *B. afzelii* к тому же ассоциирован с хроническими кожными проявлениями. Даже в пределах одного и того же генотипа существуют различия в клинической картине и путях распространения инфекции [3].

Боррелии передаются через укус зараженных клещей семейства Иксодовые, в частности *B. burgdorferi* передается клещами вида собачий клещ (*Ixodes ricinus*) и черноногий клещ (*Ixodes scapularis*) [7], а *B. miyamotoi* были обнаружены в клещах вида таежный клещ (*Ixodes persulcatus*). Спирохеты также были выделены от комаров, блох и мух, но передачи инфекции людям данными насекомыми обнаружено не было. В США и Европе была зафиксирована передача патогенных штаммов боррелий клещами *I. ricinus* грызунам и оленям, которые являются их ключевым резервуаром [4].

Распространение патогенных генотипов боррелий в Республике Казахстан остается малоизученным [8]. Однако ранее сообщалось, что у клещей *I. persulcatus*, отобранных в Восточно-Казахстанской области в период 2012-2014 гг., была выявлена ДНК *B. burgdorferi* (40,9%) и *B. miyamotoi* (2,1%). Анализ *I. persulcatus*, собранных в природных очагах энцефалита Алматинской области, показал наличие ДНК *B. burgdorferi* (36,8%) и *B. miyamotoi* (5,7%). При этом у людей, укушенных клещами и не имеющих лихорадки, в Восточно-Казахстанской области (Усть-Каменогорск, Зырянск, Риддер) и Алматинской области были обнаружены антитела к боррелиям *B. burgdorferi*, *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. miyamotoi* (IgM (37,8%) и IgG (31,1%)) [9].

Учитывая разнообразие клинических проявлений, возможность длительного латентного персистирования возбудителя в организме с последующим развитием уже хронического течения, и высокий уровень зараженности



клещей в Казахстане, качество лабораторного диагностирования боррелиоза является важным аспектом в выявлении и лечении данного заболевания. В настоящем обзоре рассматриваются современные лабораторные методы, применяемые для выявления болезни Лайма, а также обсуждаются текущие проблемы данных подходов и новые разработки в этой области.

Прямые методы выявления клещевого боррелиоза. Прямые лабораторные методы обнаружения *B. burgdorferi* не нашли широкого применения в практике в связи с затратностью таких методов и недостаточной диагностической значимостью, связанной с низким содержанием спирохет в клинических образцах, и в настоящее время не рекомендуются для диагностики болезни Лайма. Несмотря на это, такие методы могут быть полезны в некоторых отдельных случаях.

Основными методами прямого анализа являются культивирование на питательных средах и ПЦР. Ранее предложенный гистопатологический метод имеет ограниченную информативность и используется в основном для исключения других заболеваний, а также при оценке подозреваемых случаев боррелиальной лимфоцитомы и хронического атродерматита. Также ранее использовались методы микропирования с использованием иммунофлуоресцентных антител против антигенов *B. burgdorferi*, но их сложно интерпретировать и они требуют особой требующей большого опыта и широкого спектра контролей и большого спектра контролей [2].

Культивирование на питательных средах. Культивирование на питательных средах обычно не является доступным диагностическим методом для выявления болезни Лайма в клинической практике из-за его относительно низкой чувствительности, длительности и необходимости наличия специальных дорогостоящих сред и опыта лабораторного персонала. Тем не менее, способность выделять и культивировать *B. burgdorferi* имеет важное значение в диагностике болезни Лайма и остается золотым стандартом для подтверждения диагноза.

Возможность культивирования *B. burgdorferi* зависит от образца, стадии заболевания и опыта персонала. Это также может зависеть от генотипа спирохет. Культура биопсии кожи от мигрирующей эритемы имеет чувствительность от 40 до 60%. Метод культивирования на питательных средах умеренно успешен при биопсии кожи при хроническом атрофическом поражении [10]. Культура образцов плазмы, полученной из периферической крови нелеченных пациентов с ранней диссеминированной инфекцией, имеет чувствительность около 40%, которую можно увеличить до 75% путем дополнительного тестирования аликвот культуры методом ПЦР [11]. Также сообщалось, что культуры, полученные из образцов крови, дают положительный результат диагностики у пациентов с множественными мигрирующими эритемами. При этом *B. burgdorferi* не выращиваются в культурах, полученных из образцов крови больных болезнью Лайма на более поздних стадиях. Культуры, высеваемые из сыворотки крови, спинномозговой и синовиальной жидкости не дают положительных результатов [12-14].

B. burgdorferi обладают низким уровнем пролиферации и ограниченной метаболической способностью, поэтому культуры должны инкубироваться как минимум 8-12 недель, прежде чем они могут быть признаны отрицательными. Антибиотикотерапия препаратами, эффективными против *B. burgdorferi* (даже однократная доза), существенно влияет на длительность теста [11]. Среды, используемые для культивирования *B. burgdorferi*, включают вариации среды Barbour-Stoenner-Kelly (BSK) и модифицированной среды Kelly-Pettenkofer (MKP). Культуры исследуют с использованием темнопольной микроскопии или флуоресцентной микроскопии после окрашивания аликвот акридиновым оранжевым [15, 16].

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). В целом чувствительность ПЦР-анализов для выявления ДНК *B. burgdorferi* сопоставима с чувствительностью метода культивирования на питательных средах, но существуют

некоторые отличия, связанные с используемыми генными мишенями, наборами праймеров и типами клинического материала. Одним из основных факторов, ограничивающих чувствительность ПЦР-диагностики клещевого боррелиоза, также является низкое количество спирохет в образцах. Так, в зараженных клещах может содержаться до 4500 спирохет, тогда как в 1 мл мочи или плазмы инфицированных пациентов их обычно около 50, а в цереброспинальной жидкости число боррелий может быть еще ниже [17].

На сегодняшний день применение ПЦР-метода рекомендовано только для выявления боррелий в клещах, укусивших людей, и для оценки образцов синовиальной жидкости у пациентов с симптомами, схожими с артритом («артрит Лайма»). У таких пациентов ДНК *B. burgdorferi* может быть обнаружена в 70-85% случаев, при этом положительный результат не обязательно означает, что заболевание находится в активной стадии. Чувствительность ПЦР в образцах спинномозговой жидкости пациентов с ранним нейроборрелиозом низкая (10-30%) и еще снижается на поздних стадиях заболевания [2]. Чувствительность ПЦР образцов биопсии кожи от пациентов с мигрирующей эритемой достаточно высока, но так как процедура сбора материала инвазивна, данный подход не может использоваться рутинно. Как и бактериемия при большинстве других инфекций, спирохетемия в крови кратковременна и выявить боррелии методом ПЦР можно только в течение короткого периода времени после инфицирования. Из-за способности *B. burgdorferi* связываться с активированными тромбоцитами количество боррелий в плазме выше, чем в сыворотке крови. Относительно недавно была показана высокая чувствительность ПЦР при выявлении *B. burgdorferi* в моче. Каким образом спирохеты проникают в мочу, неизвестно, но их наличие в моче было подтверждено в опытах на инфицированных мышцах [18].

На протяжении последнего десятилетия работы многих исследователей были направлены на повышение специфичности ПЦР-метода для выявления *B. burgdorferi*. Специфичность ПЦР-метода главным образом повышают путем модификаций подходов выделения ДНК из образца, выбором специфических праймеров к генетически стабильным мишеням, характерным для всех патогенных подтипов боррелий, и применением высокоспецифичных зондов. Также было показано, что специфичность ПЦР может быть повышена путем изменения концентрации реагентов смеси ПЦР (дезоксинуклеозидтрифосфатов, Таq-полимеразы, праймеров, хлорида магния) и подходов постановки ПЦР (например, применением вложенного ПЦР или «горячего старта») [18]. Так как такие подходы были разработаны и апробированы в исследовательских центрах, с применением сложных методов выделения ДНК, радиоактивно-меченных зондов и т.д., эти методы не могут быть легко адаптированы к рутинной диагностики [18]. Таким образом, не смотря на большое количество опубликованных работ, до сих пор отсутствуют стандарты пробоподготовки, списка праймеров для выявления целевых генов и методов их обнаружения для диагностики болезни Лайма [19].

Непрямые методы выявления клещевого боррелиоза. Непрямыми методами выявляют иммунный ответ хозяина на боррелии и большинство таких лабораторных методов основано на обнаружении антител против *B. burgdorferi* в сыворотке. Следует отметить, что тесты, основанные на выявлении антител, являются единственными методами диагностики болезни Лайма, одобренными Управлением по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами США (FDA).

В 1995 г. Центры по контролю и профилактике заболеваний США (англ. Centers for Disease Control and Prevention, CDC) рекомендовали двухуровневый подход для повышения специфичности серологического диагностирования на болезнь Лайма. Так, на первом этапе используется чувствительный иммуноферментный анализ (ИФА) или, реже, косвенный иммунофлуоресцентный анализ. Если тест отрицательный, дальнейшее тестирование не проводится.



Если тест является пограничным или положительным, образец повторно тестируется с использованием вестерн-блот метода, выявляющего IgM (в случае продолжительности болезни менее 4 недель) и IgG против *B. burgdorferi*. При этом результаты вестерн-блот анализа интерпретируются с использованием стандартизированных критериев, требующих как минимум 2 из 3 и 5 из 10 полос сигнатуры в качестве положительных контролей присутствия IgM и IgG, соответственно.

Большинство ИФА тест-систем основано на использовании антигенов, полученных из разрушенных ультразвуком культур клеток *B. burgdorferi* (whole cell sonicate (WCS)). Однако анализы на основе WCS могут иметь значительную долю ложноположительных результатов из-за наличия перекрестно-реактивных антигенов, также экспрессируемых другими патогенами или непатогенными генотипами боррелий. Помимо этого, антигены, экспрессируемые в условиях культивирования *in vitro*, могут отличаться от экспрессируемых в естественных условиях полевыми генотипами *B. burgdorferi*. Так, ранее сообщалось, что липопротеин VlsE, который вызывает быстрый и сильный гуморальный ответ во время болезни Лайма, практически не экспрессируется культурами *B. burgdorferi*. При этом добавление рекомбинантного VlsE или пептида C6 (выделенного из инвариантной области VlsE) в качестве антигена в ИФА или вестерн-блот тест-системе значительно повышало специфичность диагностики [20].

В последнее время было получено и охарактеризовано большое количество рекомбинантных антигенов *B. burgdorferi*, таких как p37, p41-G, OspB, OspC, OspE, and OspF. При этом сообщается, что тест-системы с рекомбинантными антигенами характеризуются более высокой специфичностью и диагностической ценностью по сравнению с тест-системами на основе WCS и рекомендуются к применению в диагностической практике [21].

Двухуровневый алгоритм серологической диагностики, при условии применения методов в соответствии со всеми рекомендациями, обладает достаточно высокой чувствительностью и специфичностью. Однако существуют некоторые недостатки подхода, включающие низкую чувствительность в период раннего инфицирования, субъективную интерпретацию результатов вестерн-блота и путаницу со стороны медицинских работников и пациентов относительно того, как интерпретировать результаты. Современные тесты также не различают активную и неактивную формы инфекции, и пациенты могут оставаться серопозитивными в течение многих лет, включая детекцию IgM в сыворотке даже после адекватного лечения антибиотиками [22].

Чувствительность серологических тестов на основе выявления антител увеличивается с продолжительностью инфекции. Так, менее 50% пациентов с острой формой болезни Лайма и с единичными мигрирующими эритемами имеют положительные результаты; такие пациенты должны получать лечение на основании клинического диагноза. Напротив, уровень выявления серопозитивности в группах больных с множественными мигрирующими эритемами, артрит-подобной болезнью Лайма и нейроборрелиозом, а также у пациентов, находящихся в фазе выздоровления, достаточно высокий [2]. При использовании двухуровневого алгоритма серологической диагностики только 14% пациентов с мигрирующими эритемами в течение первой недели после инфицирования были серопозитивными, при этом чувствительность теста увеличивалась с каждой последующей неделей диагностики [23].

Известно, что наибольшей специфичностью при двухуровневом алгоритме серологической диагностики болезни Лайма обладает ИФА по сравнению с вестерн-блот анализом, в частности, при выявлении IgM. Как было показано во многих исследованиях, на ранних стадиях болезни Лайма ложноположительное выявление IgM против

B. burgdorferi методом вестерн-блот может встречаться более чем у 40% носителей парвовирусных инфекций, а также у пациентов с гранулоцитарным анаплазмозом, носителей вируса Эпштейна-Барра и у пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Кроме того, существует высокий уровень ложноотрицательных результатов у пациентов с характерными симптомами болезни Лайма, инфицированных на протяжении более чем четырех недель, зачастую по причине неправильного толкования результатов вестерн-блот анализа на IgM [2]. Таким образом, CDC в 2011 г. было рекомендовано исключить применение вестерн-блот анализа на IgM против *B. burgdorferi*, при этом сохранив двухуровневый алгоритм диагностики с использованием ИФА на определении IgM и IgG с последующим тестированием положительных образцов на IgG вестерн-блот анализом [24]. Помимо этого, было рекомендовано применять ИФА с разрушенными ультразвуком культурами клеток (WCS) с последующим тестированием проб в ИФА, основанных на C6 и VlsE антигенах или мультиантигенных ИФА, содержащих разнообразные рекомбинантные антигены [2].

Клиническая значимость таких непрямых методов, как тест на пролиферацию лимфоцитов, ELISPOT-анализ, анализ уровня цитокинов или тест на долю естественных клеток-киллеров (CD57⁺), продуктов расщепления комплемента и тесты на трансформацию лимфоцитов, не была установлена и эти тесты не должны применяться для диагностики болезни Лайма [25]. Также ранее было выдвинуто предложение определения уровня CXCL13 в спинномозговой жидкости пациентов с острым нейроборрелиозом, т.к. ранее было установлено, что хемокин CXCL13, экспрессируемый В-лимфоцитами, повышается при данном заболевании, однако его диагностическая значимость еще не доказана [26].

Другие методы. Согласно опубликованным экспериментальным данным, ксенодиагностика с использованием естественного клещевого вектора (*Ixodes scapularis*) с последующим его ПЦР-анализом на наличие *B. burgdorferi* является достаточно информативной для выявления болезни Лайма. Хотя данный подход вряд ли будет использоваться в повседневной практике, он может быть использован для разработки новых подходов в диагностике данного заболевания [2].

Заключение. На сегодняшний день наиболее достоверным подходом диагностики болезни Лайма является распознавание клинических симптомов, осведомленность врачей об эндемичности инфекции и обнаружение повышения антител против *B. burgdorferi*. Однако встречаются случаи, когда данные критерии не могут однозначно свидетельствовать о наличии заболевания. Является актуальной разработка упрощенного стандартизированного алгоритма серологических анализов, обладающих большей чувствительностью и специфичностью. На наш взгляд, наиболее перспективным направлением в данной области является разработка комбинации антигенов, способных дифференцировать ранние и поздние стадии клещевого боррелиоза, а также отличать наличие активной инфекции от перенесенного заболевания в анамнезе. Также существует острая необходимость в совершенствовании прямых методов выявления *B. burgdorferi*, разработке точных, чувствительных и быстрых диагностических тестов для ранней диагностики болезни Лайма, предпочтительно тестов, которые могут быть использованы в местах оказания первой медицинской помощи, а также тесты, которые могут быть использованы для отслеживания эффективности антибиотикотерапии.

Работа выполнена в рамках гранта AP05132856 "Идентификация и молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Borrelia* sp., распространенных в различных регионах Казахстана, для усовершенствования системы эпидемиологического надзора за клещевым боррелиозом" Комитета Науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Steere A.C. Lyme disease // The New England Journal of Medicine. - 1989. - Vol. 321. - P. 586-596.
- 2 Cerar T., Strle F., Stupica D., et al. Differences in Genotype, Clinical Features, and Inflammatory Potential of Borrelia burgdorferi sensu stricto Strains from Europe and the United States // Emerg. Infect. Dis. - 2016. - Vol. 22, №5. - P. 818-827.
- 3 Murray T.S., Shapiro E.D. Lyme disease // Clinics in Laboratory Medicine. - 2010. - Vol. 30. - P. 311-328.
- 4 Telford S.R., Goethert H.K., Molloy P.J., et al. Borrelia miyamotoi disease (BMD): Neither Lyme disease nor relapsing fever // Clinics in laboratory medicine. - 2015. - Vol. 35, № 4. - P. 867-882.
- 5 Perronne C. Lyme and associated tick-borne diseases: global challenges in the context of a public health threat // Frontiers in cellular and infection microbiology. - 2014. - Vol. 4. - 74.
- 6 Деконенко Е.П., Уманский К.Г., Куприянова Л.В. и др. Полиморфизм клинических проявлений при Лайм-боррелиозе // Клини. мед. - М., 1991. - Т.69, № 4. - С.68-70.
- 7 Biesiada G., Czepiel J., Leśniak M.R., Garlicki A., Mach T. Lyme disease: review // Archives of Medical Science. - 2012. - Vol. 8, № 6. - P. 978-982.
- 8 Berger S. Infectious diseases of Kazakhstan. - L.A.: Gideon Informatics Inc, 2018. - 149 p.
- 9 Егембердиева Р., Дмитровский А., Ермуханова Н., и др. Эпидемиологическая характеристика некоторых клещевых трансмиссивных инфекций в Казахстане // Национальные приоритеты России. - 2013. - №2 (9). - С. 92-94.
- 10 Liveris D., Wang G., Giraou G., et al. Quantitative detection of Borrelia burgdorferi in 2-millimeter skin samples of erythema migrans lesions: correlation of results with clinical and laboratory findings // Journal of Clinical Microbiology. - 2002. - Vol. 40. - P. 1249-1253.
- 11 Liveris D., Schwartz I., Bittker S., et al. Improving the yield of blood cultures from patients with early Lyme disease // Journal of Clinical Microbiology. - 2011. - Vol. 49. - P. 2166-2168.
- 12 Cerar T., Ogrinc K., Cimperman J., et al. Validation of cultivation and PCR methods for diagnosis of Lyme neuroborreliosis // Journal of Clinical Microbiology. - 2008. - Vol. 46. - P. 3375-3379.
- 13 Wormser G.P., Nadelman R.B., Schwartz I. The amber theory of Lyme arthritis: initial description and clinical implications // Clinical Rheumatology. - 2012. - Vol. 31. - P. 989-994.
- 14 Johnson B.J., Pilgard M.A., Russell T.M. Assessment of new culture method for detection of Borrelia species from serum of lyme disease patients // Journal of Clinical Microbiology. - 2014. - Vol. 52. - P. 721-724.
- 15 Pollack R.J., Telford S.R. 3rd, Spielman A. Standardization of medium for culturing Lyme disease spirochetes // Journal of Clinical Microbiology. - 1993. - Vol. 31. - P. 1251-1255.
- 16 Ruzic-Sabljić E., Maraspin V., Cimperman J., et al. Comparison of isolation rate of Borrelia burgdorferi sensu lato in MKP and BSK-II medium // Clinical Microbiology and Infection. - 2006. - Vol. 296 (Suppl 40). - P. 267-273.
- 17 Lebech A.M., Hansen K. Detection of Borrelia burgdorferi DNA in urine samples and cerebrospinal fluid samples from patients with early and late Lyme neuroborreliosis by polymerase chain reaction // Journal of Clinical Microbiology. - 1992. - Vol. 30. - P. 1646-1653.
- 18 Schmidt B.L. PCR in Laboratory Diagnosis of Human Borrelia burgdorferi Infections // Clinical Microbiology Reviews. - 1997. - Vol. 10, № 1. - P. 185-201.
- 19 Nocton J.J., Dressler F., Rutledge B.J., et al. Detection of Borrelia burgdorferi DNA by polymerase chain reaction in synovial fluid from patients with Lyme arthritis // The New England Journal of Medicine. - 1994. - Vol. 330. - P. 229-234.
- 20 Branda J.A., Aguero-Rosenfeld M.E., Ferraro M.J., et al. 2-tiered antibody testing for early and late Lyme disease using only an immunoglobulin G blot with the addition of a VlsE band as the second-tier test // Clinical Infectious Diseases. - 2010. - Vol. 50. - P. 20-26.
- 21 Kodym P., Kurzová Z., Berenová D., et al. Serological Diagnostics of Lyme Borreliosis: Comparison of Universal and Borrelia Species-Specific Tests Based on Whole-Cell and Recombinant Antigens // Journal of clinical microbiology. - 2018. - Vol. 56, № 11. - e00601-18.
- 22 Branda J.A., Strle K., Nigrovic L.E., et al. Evaluation of Modified 2-Tiered Serodiagnostic Testing Algorithms for Early Lyme Disease // Clinical infectious diseases. - 2017. - Vol. 64, № 8. - P. 1074-1080.
- 23 Wormser G.P., Nowakowski J., Nadelman R.B., et al. Impact of clinical variables on Borrelia burgdorferi-specific antibody seropositivity in acute-phase sera from patients in North America with culture-confirmed early Lyme disease // Clinical and Vaccine Immunology. - 2008. - Vol. 15. - P. 1519-1522.
- 24 CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Media Relations. CDC Provides Estimate of Americans Diagnosed with Lyme Disease Each Year. - 2013.
- 25 Marques A., Brown M.R., Fleisher T.A. Natural killer cell counts are not different between patients with post-Lyme disease syndrome and controls // Clinical and Vaccine Immunology. - 2009. - Vol. 16. - P. 1249-1250.
- 26 Schmidt C., Plate A., Angele B., et al. A prospective study on the role of CXCL13 in Lyme neuroborreliosis // Neurology. - 2011. - Vol. 76. - P. 1051-1058.

Е.О. Остапчук, Ю.А. Скиба, С.М. Мамадалиев

ҚР БҒМ ҒК ШЖҚ РМК "Ұлттық биотехнология орталығы" Алматы қаласындағы филиалы, Қазақстан

КЕНЕ БОРРЕЛИОЗЫНЫҢ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ДИАГНОСТИКАСЫНЫҢ МӘСЕЛЕРІ

Түйін: Кене боррелиозы (Лайм ауруы) Borrelia burgdorferi спирохетасы тудыратын, бірнеше дене мүшелерін зақымдайтын, Солтүстік жарты шарда ең кеңінен таралған ауру. Кене боррелиозы диагностикасы клиникалық көріністердің кең полиморфизмімен және сезімтал, сенімді, сонымен қоса қарайпайым және тез анықтау әдістерінің болмауымен қиындатылған. Лайм ауруының диагностикалық қол жетімді зертханалық әдістері екі санатқа бөлінеді: B.burgdorferi табудың тікелей әдістері және B. burgdorferi қарсы антиденелерді табуға негізделген жанама әдістері. Антиденелерді анықтау әдісінің сезімталдығының төмендігінен, серологиялық айқаспалы реакциялардан және терапиядан кейінгі антиденелердің персистенциясына байланысты инфекцияның белсенді және белсенді емес қалпын ажыратуға қабілетсіздігінен аурудың ерте басында оның диагностикалық құндылығы қанағаттанарлықсыз. Ауру қоздырғышын сынамаларды қоректік ортада өсіру арқылы табуға болады, бірақ бұл әдістің сезімталдығы төмен (30-дан 70% - ға дейін) және талдау жүргізу ұзақтығына байланысты күнделікті пайдаланыста ынғайсыз. Емделушілерден B.burgdorferi анықтаудың ПТР әдісі талдауда синовиальды сұйықтықты қолданған жағдайда ғана жеткілікті ақпараттық болуы мүмкін, бұл әдістің де біршама шектеулері бар. Бұл шолудың мақсаты Лайм ауруының клиникалық диагностикасының мәселелері туралы заманауи деректерді жинақтау.

Түйінді сөздер: кене боррелиозы, диагностика, иммуноферменттік талдау, ПТР



Y.O. Ostapchuk, Y.A. Skiba, S.M. Mamadaliev

Almaty Branch of National Center for Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

CHALLENGES OF LABORATORY DIAGNOSIS OF TICK-BORNE BORRELIOSIS

Resume: Tick-borne borreliosis (Lyme disease) is a multiorgan disease caused by the spirochaete *Borrelia burgdorferi*, which is the most common disease transmitted by ticks in the Northern Hemisphere. Tick-borne borreliosis is characterized by a wide polymorphism of clinical manifestations, and the absence of sensitive, relatively easy, fast, direct tests for *B. burgdorferi* is one of the main problems. Available laboratory methods for diagnosing Lyme disease are divided into two categories: direct detection of *B. burgdorferi* and indirect methods, mainly detecting antibodies against *B. burgdorferi*. The diagnostic value of detecting antibodies is unsatisfactory in the early stages of the disease due to low sensitivity, serological cross-reactions and the inability to distinguish between active and inactive forms of the infection due to the persistence of antibodies after therapy. The pathogen can also be detected during the cultivation of samples, but the sensitivity of this method is low: from 30 to 70%, and cannot be used routinely due to the duration of the analysis. Detection of *B. burgdorferi* by PCR in patients can be quite informative only in the case of using synovial fluid in the analysis and also has some limitations. The purpose of this review is to compile current data on the clinical diagnosis of Lyme disease.

Keywords: tick-borne borreliosis, diagnosis, enzyme-linked immunosorbent assay, PCR

УДК 616.9-097-022-08:578.28

А.Ж. Кусайнова, М.К. Кошимбеков, А.У. Ахметова

*Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова
Городской Центр СПИД г. Алматы*

ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ПРИВЕРЖЕННОСТИ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ СРЕДИ ЛЖВ

В обзорной статье представлены поведенческие особенности и сложности, связанные с приверженностью АРВТ среди различных групп ВИЧ-инфицированных пациентов. Также описываются методы и пути для улучшения и повышения приверженности АРВТ этих групп.

Ключевые слова: АРВТ, приверженность, ЛЖВ

Пандемия ВИЧ-инфекции является одной из главных проблем глобального здравоохранения. Благодаря появлению в 1996 году антиретровирусной терапии (АРВТ) изменилось течение этой инфекции, которая стала управляемой и хронической, были спасены миллионы жизней.

На сегодняшний день благодаря расширению доступа к АРВТ, более 17 млн. человек получают лечение против ВИЧ инфекции во всех странах, большинство из этих людей проживают в странах с низким и средним уровнем дохода. Новое поколение антиретровирусных препаратов и их комбинации позволили упростить схему лечения, включая прием лекарств один раз в день, тем самым уменьшая их побочные эффекты. Тем не менее, по результатам различных исследований приверженность АРВТ остается неудовлетворительной и варьируется от 27 до 80% среди разных групп ЛЖВ по сравнению с требуемым уровнем в 95%.

В настоящее время ЮНЭЙДС совместно с ВОЗ прилагают усилия для достижения цели, чтобы 90% ЛЖВ охватить лечением, соответственно у 90% пациентов, принимающих лечение, была достигнута вирусная супрессия. Согласно оценкам ЮНЭЙДС, достижение этих целей программы к 2020 году, может в конечном итоге остановить эпидемию ВИЧ к 2030 году (UNAIDS, 2015). Тем не менее, эту реальность следует критически рассматривать с точки зрения приверженности АРВТ. Достижение и поддержание вирусологической супрессии требует около 95% уровня приверженности (Paterson et al., 2000). Ввиду важности этого аспекта, ряд исследований указывают на трудности в поиске эффективных решений чтобы улучшить показатели приверженности АРТ среди пациентов с ВИЧ (Bartlett, 2002, Chaiyachati et al., 2014).

Существуют 4 основных фактора, которые могут влиять на различные этапы, связанные с приверженностью к АРВТ:

-Факторы, связанные с АРВ препаратами: выбранный АРВ препарат, который может привести к различным побочным эффектам и различным ограничениям, в конечном итоге

влияет на образ жизни пациента и возможность принимать другие необходимые лекарства;

-Факторы, связанные с медицинским персоналом: профессионализм врача, включая своевременное консультирование, информирование и установление доверительных отношений с пациентом;

-Факторы, связанные с пациентом: пациент может плохо понимать роль АРТ, нежелание бороться с ВИЧ и принимать АРТ, несмотря на его преимущества и недостатки

-Социальные условия и поддержка семьи - которые способны убедить пациента продолжать АРТ (поощрение, наблюдение) или, наоборот, отвергнуть или дискриминировать пациента.

Взаимодействие этих четырех ключевых факторов является крайне сложным процессом, и с течением времени оно еще больше усложняется. В связи с этим, проблемы приверженности ЛЖВ долгосрочному лечению являются общими и для других хронических заболеваний, таких как диабет, сердечные или психические заболевания.

Приверженность АРВТ специфических групп населения.

Уровень приверженности АРВТ разный в зависимости от группы населения. Проведенный в 2011 году метаанализ из 84 обсервационных исследований показал, что примерно только половина (62%) ЛЖВ достигли 90% уровня приверженности (Ortego et al., 2011). Существующая высокая диспропорция между различными группами, требует отдельного анализа.

Приверженность детей. Приверженность АРТ у детей довольно высокая. Согласно результатам исследования, проведенных в период с 2012 по 2014 год, уровень приверженности ВИЧ-инфицированных детей было 80,9% и 78,6% соответственно, (Azmeraw and Wasie, 2012; Arage et al., 2014). Тем не менее, дети остаются уязвимой группой, в зависимости от постоянной заботы взрослых и семейной поддержки, а также наличия удобных и эффективных АРВ препаратов.

Приверженность подростков. Результаты исследования среди подростков, проведенное в 2014 году (Kim et al., 2014),