

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Рудаков Н. В.^{1,2}, Штрек С. В.^{1,2}, Блох А. И.^{1,2}, Пеньевская Н. А.^{1,2}, Щучинова Л. Д.³

ВОЗМОЖНОСТИ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ВЕРИФИКАЦИИ СИБИРСКОГО КЛЕЩЕВОГО ТИФА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К *RICKETTSIA CONORII*

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, 644080, г. Омск, Россия;

²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 644099, Омск, Россия;

³Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Алтай, 649002, Горно-Алтайск, Россия

Реальная эпидемиологическая значимость риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ), включая сибирский клещевой тиф (СКТ), в России недостаточно изучена. Одна из причин – фактическое отсутствие сертифицированных отечественных диагностических и доказательной базы использования зарубежных тест-наборов для лабораторной верификации этой группы клещевых трансмиссивных инфекций в условиях медицинской практики. Цель работы: изучение диагностической информативности применения тест-системы ИФА на основе антигенов *R. conorii* для серологической верификации СКТ.

По результатам обследования двух сопоставимых по полу и возрасту групп пациентов (34 больных с патогномичными признаками СКТ и 76 здоровых) проведен ROC-анализ и рассчитаны операционные характеристики (чувствительность, специфичность, точность, отношения правдоподобия положительного и отрицательного результатов) теста серологической верификации СКТ по выявлению IgM к риккетсиям в разные сроки от начала заболевания с применением тест-системы для выявления антител к *Rickettsia conorii*. Показано, что выявление IgM-антител к риккетсиям с помощью тест-системы «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» (Vircell) позволяет осуществить верификацию заболевания на 10-14 день от начала появления клинических симптомов у 72% (56-88%) больных СКТ.

Обоснованы рекомендации по интерпретации результатов ИФА при использовании тест-системы «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» для серологической верификации СКТ, отличающиеся от рекомендаций производителя в отношении верификации средиземноморской лихорадки, вызываемой *R. conorii*: При индексе IgM-антител (ИАТ), превышающем 8,0, можно считать диагноз СКТ лабораторно подтвержденным. Если ИАТ меньше 5,0, необходимо повторное обследование больного через 10-14 дней. При ИАТ в пределах 5,0-8,0 следует повторно исследовать образец и/или обследовать пациента через 10-14 дней.

Использование тест-системы «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» (Vircell) перспективно для лабораторной диагностики и сероэпидемиологического изучения клещевых риккетсиозов группы КПЛ на территории России.

Ключевые слова: риккетсии и риккетсиозы, группа клещевой пятнистой лихорадки, иммуноферментный анализ, лабораторная диагностика, *Rickettsia sibirica*, *Rickettsia conorii*.

Для цитирования: Рудаков Н. В., Штрек С. В., Блох А. И., Пеньевская Н. А., Щучинова Л. Д. Возможности серологической верификации сибирского клещевого тифа с использованием тест-системы для выявления антител к *Rickettsia conorii*. Клиническая лабораторная диагностика. 2019;64(9): 553-559. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-9-553-559>

Rudakov N. V.^{1,2}, Shtrek S. V.^{1,2}, Blokh A. I.^{1,2}, Penjevskaya N. A.^{1,2}, Shchuchinova L. D.³

POSSIBILITY OF SEROLOGICAL VERIFICATION OF SIBERIAN TICK TYPHUS WITH THE TEST SYSTEM FOR IDENTIFICATION OF *RICKETTSIA CONORII* ANTIBODIES

¹Omsk Research Institute of natural focal Infections, 644080, Omsk, Russia;

²Omsk State Medical University, 644050, Omsk, Russia;

³Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Altai Republic, 649002, Gorno-Altai, Russia

The real epidemiological impact of Spotted Fever Group rickettsioses including Siberian tick-borne typhus (STT) in Russia is not sufficiently studied. One of the reasons is the actual absence of either certified domestic diagnostic kits or the evidence for using foreign test kits for laboratory verification of this group of tick-borne infections in medical practice. Objective of our study was to study the diagnostic accuracy of the ELISA test system based on *Rickettsia conorii* antigens for serological verification of STT.

The ROC analysis was performed and operational characteristics (sensitivity, specificity, accuracy, likelihood ratio of positive and negative results) of the STT serological verification test to identify IgM to rickettsia at different times from the onset of the disease using a test system to detect antibodies to *Rickettsia conorii* were calculated based on the results of a survey of two groups of patients comparable by gender and age (34 patients with pathognomonic signs of STT and 76 clinically healthy people). It was found that the detection of IgM antibodies to rickettsia using the *Rickettsia conorii* IgM/IgG ELISA test system (Vircell) allows the disease to be verified 10-14 days after the onset of clinical symptoms in 72% (56-88%) of STT patients.

We recommend the interpretation of results of the test system “*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG” for serological verification of STT which differ from the manufacturer’s recommendations regarding verification of Mediterranean fever caused by *R. conorii* in the following way: the diagnosis of STT should be considered laboratory confirmed when the index of IgM antibodies (IAT) exceeds 8.0; if the IAT is less than 5.0 then a repeated examination of the patient after 10-14 days will be necessary; if the IAT is

in the range of 5.0-8.0 then the sample should be re-examined and / or the patient should be examined after 10-14 days. The use of the test system "Rickettsia conorii ELISA IgM / IgG" is promising for laboratory diagnosis and seroepidemiological studies of Spotted Fever Group rickettsioses in Russia.

Key words: *rickettsiae and rickettsioses; spotted fever group; laboratory diagnostics; enzyme-linked immunosorbent assay; Rickettsia sibirica; Rickettsia conorii.*

For citation: Rudakov N. V., Shtrek S. V., Blokh A. I., Penjevsкая N. A., Shchuchinova L. D. Possibilities of serological verification of siberian tick borne type with use of test system for identification of antibodies to *Rickettsia conorii*. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (9): 553-559 (in Russ.)

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-9-553-559>

For correspondence: Rudakov N.V., e-mail: rickettsia@mail.ru

Information about authors:

Rudakov N.V., <http://orcid.org/0000-0001-9566-9204>

Shtrek S.V., <http://orcid.org/0000-0002-4509-1212>

Penjevsкая N.A., <http://orcid.org/0000-0002-7220-4366>

Conflict of interests. *The authors declare the absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 15.08.2019

Accepted 22.08.2019

За последние 20 лет в России наметился тренд на снижение регистрируемой заболеваемости сибирским клещевым тифом (СКТ, этиологический агент – *Rickettsia sibirica*), несмотря на высокий лоймопотенциал природных очагов в большинстве эндемичных регионов. В ряде субъектов РФ, начиная с 2013 г. регистрация заболеваемости СКТ полностью прекратилась [1]. На территории РФ и Казахстана, кроме *R. sibirica*, циркулирует не менее семи других видов риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ), в том числе *R. conorii subs. Caspii* - этиологический агент Астраханской пятнистой лихорадки (Астраханская область и смежные территории России и Казахстана) и *R. conorii subs. conorii* – этиологический агент средиземноморской лихорадки (Крым). Реальная эпидемическая значимость клещевых риккетсиозов (КР) группы КПЛ в России, включая СКТ, недостаточно изучена. Одна из причин – отсутствие сертифицированных отечественных диагностикомов и доказательной базы использования зарубежных тест-наборов для лабораторной верификации этой группы клещевых трансмиссивных инфекций в условиях медицинской практики [2, 3].

В лабораторной диагностике инфекционных заболеваний существенное место занимают серологический (иммуноферментный анализ - ИФА) и молекулярно-биологический (полимерная цепная реакция - ПЦР) методы [4,5]. Лабораторная диагностика КР включает определение ДНК риккетсий и антител (АТ) к ним [6]. Среди методов выявления АТ наибольшей чувствительностью обладает ИФА [7,8], не позволяющий, однако, дифференцировать вид риккетсий, вызвавший заболевание [9]. Указанное связано с наличием группоспецифических антигенов у представителей группы КПЛ, обуславливающих наличие перекрестных серологических реакций, в том числе при выявлении АТ к риккетсиям в ИФА [10]. Более точная этиологическая верификация КР возможна с применением молекулярно-биологического метода (ПЦР-секвенирование), который в ряде случаев по диагностической эффективности уступает ИФА [11,12]. Это связано с различным, в зависимости от вида материала (цельная кровь, лейкоцитарная фракция крови, биоптат, смыв с первичного аффекта), и часто незначительным содержанием риккетсий в анализе; нарушением правил и поздними сроками забора материала; резким снижением

количества риккетсий в организме в результате приема химиотерапевтических препаратов и пр. [13, 14].

В РФ зарегистрирована тест-система ИФА для серологической диагностики КР, вызываемого *R. conorii*, «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» (Vircell, Spain, рег. уд. № ФСЗ 2009/05430), успешно апробированная для изучения серопревалентности *R. conorii* и лабораторной диагностики средиземноморской лихорадки в различных регионах мира [15-18]. Имеются отдельные публикации о применении указанной тест-системы в очагах Астраханской пятнистой лихорадки [19] и сибирского клещевого тифа [14,20,21], которые не содержат анализа эффективности применения данной тест-системы для лабораторной диагностики СКТ.

Цель работы - изучение клинической (диагностической) информативности применения тест-системы ИФА на основе антигенов *R. conorii* для серологической верификации сибирского клещевого тифа.

Материал и методы. В наборе для ИФА «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» используются антигены *R. conorii* (штамм Morocco, ATCCVR-141). В инструкции по применению указано, что относительно тест-наборов, выявляющих АТ к *R. conorii* методом непрямой иммунофлюоресценции, чувствительность ИФА для обнаружения IgM составляет 94%, специфичность - 95%, для IgG – 85% и 100% соответственно. Учитывая межвидовые антигенные различия, логично предположить, что эффективность применения данной тест-системы для серодиагностики других риккетсиозов может быть иной.

Проведено сопоставление результатов ИФА, полученных при исследовании сывороток крови двух групп пациентов. Первая группа состояла из 34 больных с патномоничными признаками СКТ, находившихся на лечении в инфекционных отделениях ЛПУ Республики Алтай в эпидемический сезон с марта по сентябрь 2017 г. По степени эпидемической опасности этот регион относится к территориям с очень высоким уровнем заболеваемости СКТ (82,7 на 100 тыс. населения). Кроме *R. sibirica*, классического возбудителя СКТ, в природных очагах в Республике Алтай циркулируют и другие виды риккетсий: *R. heilongjiangensis*, *R. raoultii* [22]. Клещевой риккетсиоз, этиологическим агентом которого является *R. heilongjiangensis*, имеет схожую симптоматику с рик-

кетсиозом, обусловленным *R. sibirica*, поэтому данное заболевание в официальной статистике регистрируется как СКТ [23]. Для клинической картины заболевания СКТ в Республике Алтай характерны острое начало с синдромом интоксикации, макуло-папулёзная сыпь, наличие первичного аффекта (80,3%), преимущественно среднетяжёлое течение болезни. Основной контингент заболевших составляют дети в возрасте 3-14 лет [24]. Риккетсиоз, вызываемый *R. raoultii*, отличается от «классического» СКТ тем, что генерализация процесса, клинические проявления и выработка АТ могут быть менее выражены [13,25].

В обследуемой группе больных СКТ по возрастному составу преобладали дети в возрасте от 1 до 12 лет – 29 человек (15 девочек, 14 мальчиков). Всем больным поставлен диагноз СКТ на основании типичной клинической картины (лихорадка, наличие первичного аффекта, сыпь) и эпидемиологических данных (пребывание в природном очаге, присасывание или нахождение клеща). Инкубационный период длился от 1 до 13 дней (в среднем 5-6 дней). Средняя максимальная температура: $38,9 \pm 0,6^\circ \text{C}$. Наличие первичного аффекта отмечено у 16, кожной сыпи - у 30 больных. Срок появления сыпи варьировал от 1 до 13 дня болезни.

У 30 больных исследованы пробы сывороток крови, взятые на 2-5-й день после появления клинических симптомов заболевания (1-я сыворотка). У 25 больных исследованы пробы крови, взятые на 10-14-й день после начала заболевания (2-я сыворотка).

Вторая (контрольная) группа состояла из 76 клинически здоровых жителей г. Омска, обследованных вне эпидемического сезона КР. Обе группы сопоставимы по возрастному и половому составу.

Постановку и валидацию ИФА для выявления специфических антител классов IgM и IgG осуществляли согласно инструкции производителя тест-системы. Для учёта результатов ИФА рассчитывали индекс АТ (ИАТ) по рекомендуемой в инструкции формуле: $[\text{оптическая плотность (ОП) образца} / \text{ОП контроля cut off}] \times 10$.

Диагностическую информативность (ценность) теста оценивали по следующим критериям: диагностическая чувствительность (Se), диагностическая специфичность (Sp), диагностическая эффективность - точность (ассигасу - Ass), отношение правдоподобия положительного результата теста (positive likelihood ratio - LR+) и отношение правдоподобия отрицательного результата (negative likelihood ratio - LR-). Расчёты проведены по ГОСТ Р 53022.3-2008 с использованием пакета прикладных программ Excel 2010, Statistica 6.0 и открытых интернет-ресурсов.

Для описания полученных данных применены стандартные приёмы непараметрической статистики по схеме Me (Q1; Q3), где Me – медиана вариационного ряда,

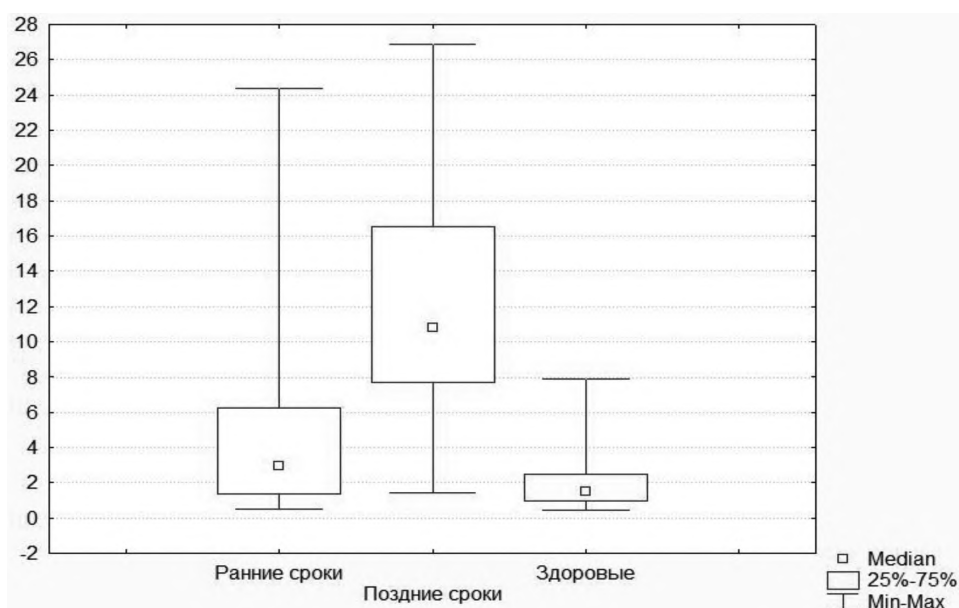


Рис. 1. Распределение значений ИАТ IgM в сыворотках крови здоровых пациентов и больных СКТ на 2-5 день (ранние сроки) и 10-14 день (поздние сроки) от начала заболевания.

Q1 и Q3 - нижний и верхний квартили вариационного ряда соответственно. Для установления референтного предела значений ИАТ у клинически здоровых лиц определяли 97,5%-й и 95%-й уровни (процентили) вариационного ряда¹. Доверительные интервалы (ДИ₉₅) рассчитывали по методу Вальда.

С целью выбора точки разделения положительных и отрицательных результатов (порога клинического решения), а также для сравнительной оценки информативности выявления IgM и IgG в 1-й и 2-й сыворотках для серодиагностики СКТ проведён ROC²-анализ с использованием программы easyRoc (<http://www.biosoft.hacettepe.edu.tr/easyROC/>) [26].

Результаты и обсуждение. Характеристика распределения всех значений ИАТ IgM и IgG в сравниваемых группах проиллюстрирована диаграммами размаха - box-and-whiskers diagram (рис. 1 и 2). Медианное значение ИАТ IgM в 1-й сыворотке, полученной от больных СКТ, составило 2,9 (1,4; 6,2), во второй сыворотке - 10,8 (7,7; 16,5), в сыворотке здоровых - 1,5 (1,0; 2,5). Референтные пределы значений ИАТ IgM у здоровых лиц: 97,5%-уровень (процентиль) – 6,3; 95%-уровень (процентиль) – 5,5.

Медианное значение ИАТ IgG в 1-й сыворотке, полученной от больных СКТ, составило 1,8 (1,2; 5,6), во второй сыворотке - 3,0 (1,9; 3,9), в сыворотке здоровых - 1,2 (1,0; 1,5). Референтные пределы значений ИАТ IgG у здоровых лиц: 97,5%-уровень (процентиль) – 5,5; 95%-уровень (процентиль) – 4,0.

Результаты оценки диагностической значимости показателя ИАТ-IgM и ИАТ-IgG в первой и второй сыво-

¹ГОСТ Р 53022.3-2008 «Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3» от 18 декабря 2008 № 557-ст.

²Receiver operator characteristic – ROC.

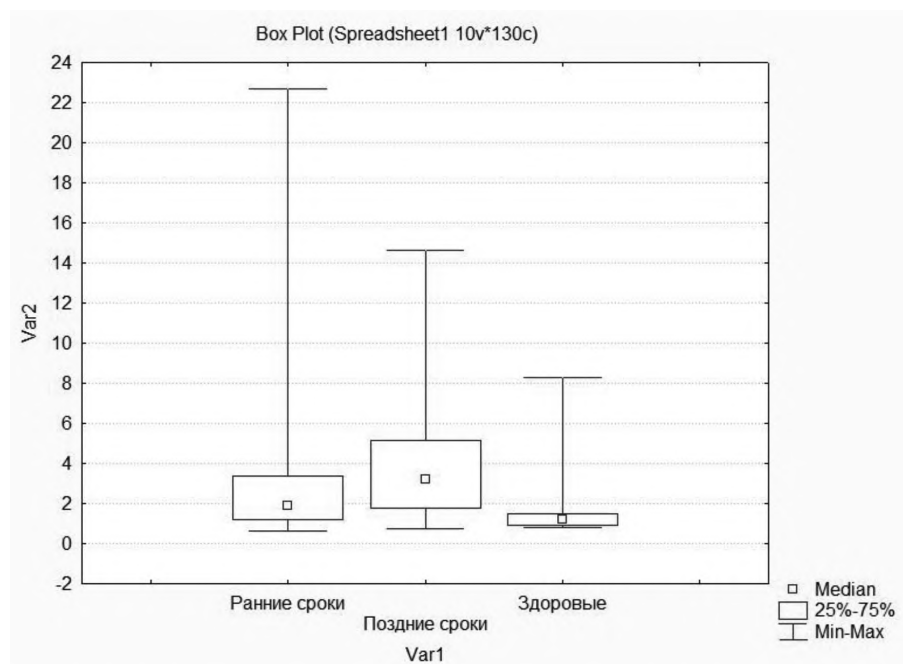


Рис. 2. Распределение значений ИАТ IgG в сыворотках крови здоровых пациентов и больных СКТ на 2-5 день (ранние сроки) и 10-14 день (поздние сроки) от начала заболевания.

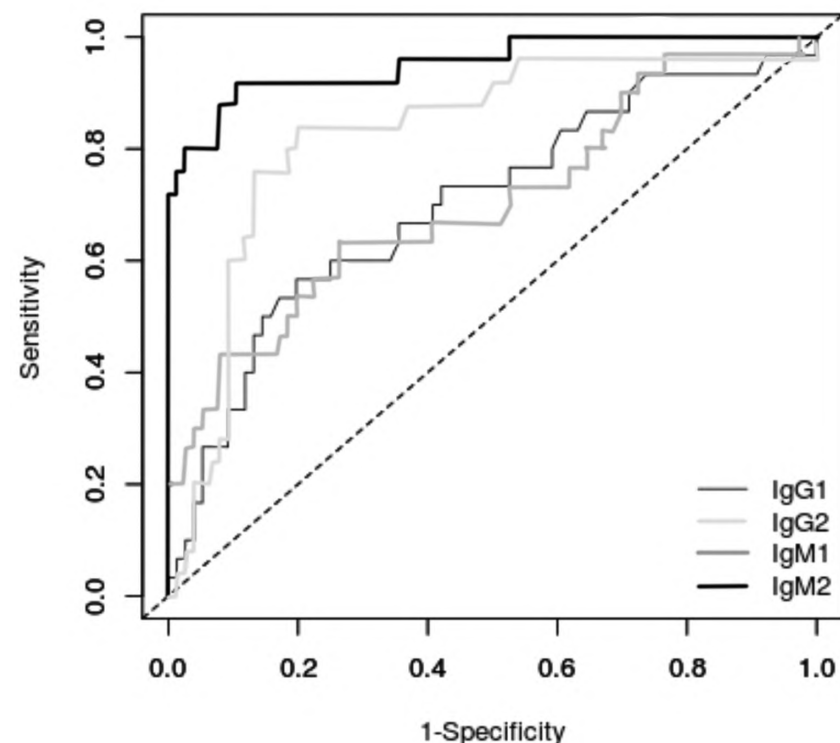


Рис. 3. Соотношение между чувствительностью (Se) и специфичностью (Sp) серологической верификации СКТ по обнаружению IgM и IgG к риккетсиям с применением тест-системы «Rickettsia sonorii ELISA IgM/IgG» (Vircell).

ротке (тесты IgM1, IgM2, IgG1, IgG2) для серологической верификации СКТ представлены на рис. 3 в виде характеристических кривых (ROC-curve, ROC-C), отражающих соотношение между чувствительностью (Se) и специфичностью (Sp) каждого теста.

По оси ординат обозначена частота истинно положительных результатов (Sensitivity - чувствительность), по оси абсцисс - частота ложноположительных результатов (1 минус Specificity - специфичность) по всему диапазону показателей ИАТ (точек разделения). Значения по осям соответствуют вероятностям от 0 до 1 (т.е. от 0 до 100%). Диагональ отражает соотношение частот истинно и ложноположительных результатов для абсолютно неинформативного теста, когда выбор между диагнозами делают путём подбрасывания монеты [27]. Обшая точность тестов представлена в виде площади под ROC-кривой (AU-ROC-C - Area Under Receiver Operator Characteristic Curve): чем больше площадь (чем ближе её значение к 1), тем точнее тест.

Площадь под ROC-кривой (рис. 3) для индекса IgM в первой сыворотке составила 0,70 (95% ДИ 0,58÷0,82; $p < 0,001$); для индекса IgM во второй сыворотке составила 0,95 (95% ДИ 0,90÷1,00; $p < 0,001$); для индекса IgG в первой сыворотке 0,70 (95% ДИ 0,59÷0,82; $p < 0,001$); для индекса IgG во второй сыворотке составила 0,82 (95% ДИ 0,73÷0,93; $p < 0,001$).

IgM.1 - результаты обнаружения антирикеттсиозных IgM в 1-й сыворотке,

IgM.2 - во 2-й сыворотке; IgG.1 - результаты обнаружения антирикеттсиозных IgG в 1-й сыворотке, IgG.2 - во 2-й сыворотке.

Наиболее информативно определение индекса AT IgM во второй сыворотке, наименее - индекса AT IgG в первой сыворотке.

Учитывая наибольшую диагностическую информативность определения ИАТ IgM во 2-й сыворотке (через 10-14 дней от начала заболевания), необходимость усложнения процесса использования данного варианта ИФА для определения сероконверсии специфических IgG в парных сыворотках, представляется целесообразным основное внимание уделить оценке операционных характеристик ИФА для серологической верификации СКТ по выявлению противорикеттсиозных IgM как коррелятов острого инфекционного процесса.

С целью определения порога клинического решения, то есть величины ИАТ, которое позволяет с достаточной долей вероятности верифицировать заболевание СКТ, рассчитаны показатели диагностической информативности (Se, Sp, LR+, LR-, Acc) для различных индексов антител IgM сыворотках крови, взятых на 2-5-й и 10-14-й дни от начала заболевания (табл. 1).

Таблица 1

Операционные характеристики серологической верификации СКТ по выявлению IgM к риккетсиям в разные сроки от начала заболевания с применением тест-системы «Rickettsia conorii ELISA IgM/IgG»

Специфичность (Sp), % (ДИ ₉₅)	Точка разделения (+) и (-) результатов*	Индикация специфических IgM в сыворотке крови на 2-5-й день заболевания (тест IgM.1)				Индикация специфических IgM в сыворотке крови на 10-14-й день заболевания (тест IgM.2)			
		Чувствительность (Se), % (ДИ ₉₅)	LR+	LR-	Асс, %	Чувствительность (Se), % (ДИ ₉₅)	LR+	LR-	Асс, %
75 (65 ÷ 85)	2,5	56 (39 ÷ 74)	2,27	0,58	65,8	92 (82 ÷ 100)	3,68	0,11	83,5
82 (73 ÷ 90)	3,0	47 (29 ÷ 64)	2,53	0,65	64,1	92 (82 ÷ 100)	4,99	0,10	86,8
90 (83 ÷ 96)	3,5	43 (26 ÷ 61)	4,11	0,63	66,4	88 (76 ÷ 100)	8,36	0,13	88,7
92 (86 ÷ 98)	4,1	40 (22 ÷ 57)	5,07	0,65	66,1	84 (71 ÷ 97)	10,65	0,17	88,1
93 (88 ÷ 99)	5,4	33 (16 ÷ 50)	5,07	0,71	63,4	80 (66 ÷ 94)	12,16	0,21	86,7
95 (90 ÷ 100)	6,0	30 (14 ÷ 46)	5,70	0,74	62,4	80 (66 ÷ 94)	15,21	0,21	87,4
97 (94 ÷ 100)	6,3	27 (11 ÷ 42)	6,75	0,76	61,4	80 (66 ÷ 94)	30,40	0,21	88,7
97 (94 ÷ 100)	7,0	20 (6 ÷ 34)	7,60	0,82	58,7	76 (61 ÷ 91)	28,90	0,25	86,7
99 (96 ÷ 100)	7,9	20 (6 ÷ 34)	15,15	0,81	59,3	72 (56 ÷ 88)	54,55	0,28	85,3
100	9,0	20 (6 ÷ 34)	∞	0,80	59,0	70 (54 ÷ 86)	∞	0,30	85,0
100	10,5	20 (6 ÷ 34)	∞	0,80	60,0	60 (42 ÷ 78)	∞	0,40	80,0
100	Более 11	Менее 20 (6 ÷ 34)	∞	Более 0,80	Менее 60,0	Менее 48 (30 ÷ 66)	∞	Более 0,52	Менее 74,0

Примечание. * - точка разделения (+) и (-) результатов – это порог клинического решения, то есть величина ИАТ, которое позволяет верифицировать заболевание СКТ; чувствительность – доля лиц с положительным результатом теста в группе больных; специфичность – доля лиц с отрицательным результатом теста в группе здоровых; отношение правдоподобия – отношение вероятности данного результата у больных к вероятности того же результата у здоровых (LR показывает, во сколько раз выше (или ниже) вероятность получить данный результат теста у больных, нежели у здоровых); точность (Асс - эффективность) – доля правильных результатов теста в общем количестве результатов, как положительных, так и отрицательных.

Специфичность и чувствительность теста находятся в обратной зависимости по отношению друг к другу: при увеличении специфичности снижается чувствительность, и наоборот. Выбор точки отсечения (разделения) зависит от цели исследования. Если поставлена задача полностью исключить вероятность ошибочного лабораторного подтверждения диагноза (специфичность = 100%), то точкой разделения будет значение ИАТ, равное 9,0. При этом чувствительность теста IgM.1 составит 20% (ДИ₉₅ 6÷34%), а теста IgM.2 – 70% (ДИ₉₅ 54÷86%), то есть при исследовании крови на 2-5-й день появления клинических симптомов в среднем только у 20% (ДИ₉₅ 6÷34%) пациентов можно верифицировать заболевание как СКТ, тогда как при исследовании крови на 10-14 день - у 70% (ДИ₉₅ 54÷86%) пациентов. При этом диагностическая точность верификации СКТ (доля правильных результатов теста в общем количестве результатов, как положительных, так и отрицательных) для теста IgM.1 составляет 59%, для теста IgM.2 – 85%.

Если в качестве точки разделения принять значение ИАТ, равное 97,5-перцентильному пределу для здоровых лиц (6,3), то специфичность обоих тестов составит 97% (ДИ₉₅ 94÷100%), чувствительность для IgM.1 – 27% (ДИ₉₅ 11÷42%), для IgM.2 – 80% (ДИ₉₅ 66÷94%), точность – 61,4% и 88,7% соответственно. При этом вероятность правильной верификации заболевания у больных СКТ по 1-й сыворотке (2-5-й день заболевания), в 6,75 раз выше, а по 2-й сыворотке (10-14-й день заболевания) – в 30,4 раза выше, чем вероятность ошибочного лабораторного подтверждения диагноза.

Если считать допустимой 95%-ю специфичность, то точкой разделения будет значение ИАТ, равное 6,0;

чувствительность для IgM.1 – 30% (ДИ₉₅ 14÷46%), для IgM.2 – 80% (ДИ₉₅ 66÷94%), точность – 62,4% и 87,4% соответственно, вероятность правильной верификации заболевания у больных СКТ по 1-й сыворотке (2-5-й день заболевания), в 5,7 раз выше, по 2-й сыворотке (10-14-й день заболевания) – в 15,2 раза выше, чем вероятность ошибочного лабораторного подтверждения диагноза.

Сложно определить компромисс между чувствительностью и специфичностью, которые классифицируют результаты теста упрощённо (грубо) – либо норма, либо патология. Правильный диагноз заболевания более вероятен при крайнем отклонении результата теста от нормы, чем в случае результата, близкого к границе нормы. Отношение вероятности конкретного результата у лиц с заболеванием к вероятности этого же результата у лиц без заболевания позволяет оценивать показатель LR (отношение правдоподобия). Согласно ГОСТ Р 53022.3-2008, значения LR+>10 служит основой для окончательного диагностического решения. Значение LR+ от 5 до 10 даёт умеренные основания для диагностического решения. LR+ от 2 до 5 мало даёт для изменения оценки вероятности болезни у пациента.

Можно считать заболевание СКТ серологически подтверждённым при значении ИАТ IgM, превышающем 8 (LR+ для сыворотки крови, взятой на 2-5 день от начала заболевания, превышает 15; для сыворотки крови, взятой на 10-14 день от начала заболевания, превышает 54,5). Интервал значений ИАТ IgM от 5 до 8 можно отнести к «сомнительным» результатам, что означает необходимость их повторного тестирования и/или получения нового образца крови, взятой в более поздние сроки. Значение ИАТ IgM ниже 5 не позволяет серологически

Интерпретация результатов ИФА с применением тест-системы «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» (Vircell) для серологической верификации СКТ

Интерпретация результата ИФА	ИАТ IgM		Клиническое решение
	<i>R. conorii</i>	<i>R. sibirica</i>	
Отрицательный	<9	<5	Необходимо повторное обследование пациента через 10-14 дней
Сомнительный	9-11	5-8	Необходимо повторное тестирование образца и/или обследование пациента через 10-14 дней
Положительный	>11	>8	Диагноз подтверждён

верифицировать заболевание СКТ и требует повторного обследования больного через 10-14 дней.

При использовании теста IgG не удалось дополнительно верифицировать заболевание СКТ у пациентов с отрицательными результатами выявления IgM. В целом наличие антириккетсиозных IgG-АТ установлено (по критериям производителя) только в 4-х пробах сывороток крови. Возможно тест IgG более информативен при обследовании пациентов в более поздние сроки заболевания, чем в нашем наблюдении. В практическом здравоохранении получение реконвалесцентных сывороток затруднено в связи с ограниченной длительностью пребывания больных на стационарном лечении.

Нами обоснованы рекомендации по интерпретации результатов ИФА при использовании тест-системы «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» для серологической верификации сибирского клещевого тифа, отличающиеся от рекомендаций производителя в отношении верификации средиземноморской лихорадки, вызываемой *R. conorii* (табл. 2). Указанный подход позволяет проводить серологическую верификацию СКТ (вызываемого *R. sibirica*) с помощью тест-системы, отработанной для выявления антител к *R. conorii*.

Выявление IgM к риккетсиям с помощью тест-системы «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» (Vircell) позволяет осуществить верификацию заболевания на 10-14 день от начала появления клинических симптомов у 72% (56÷88%) пациентов с диагнозом СКТ, поставленным на основании клинико-эпидемиологических данных. Исследование крови в более поздние сроки вероятно могло бы повысить эффективность лабораторного подтверждения диагноза.

Использование тест-системы «*Rickettsia conorii* ELISA IgM/IgG» (Vircell) перспективно для лабораторной диагностики и сероэпидемиологического изучения клещевых риккетсиозов группы КПЛ на территории России.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 9, 15-18, 26 см. REFERENCES)

1. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Транквиловский Д.В., Пакскина Н.Д., Савельев Д.А., Самойленко И.Е. и др. Особенности эпидемической ситуации по сибирскому клещевому тифу и другим клещевым риккетсиозам в Российской Федерации, прогноз на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1: 89-97.
2. Рудаков Н.В., Самойленко И.Е., Решетникова Т.А. Проблемы лабораторной диагностики риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки в России. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 1(60): 50-2.
3. Рудаков Н.В., Абрамова Н.В., Штрек С.В., Шаламова Е.В., Пеньевская Н.А., Рудакова С.А. и др. Клинико-лабораторная диа-

гностика клещевых риккетсиозов на территориях низкого риска инфицирования *Rickettsia sibirica*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(11): 717-21.

4. Воробьев А.А. *Микробиология и иммунология: учебник для студентов высшего сестринского образования. 2-е изд., перераб. и доп.* М.: Медицина; 2005.
5. Зверев В.В., Бойченко М.Н. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х томах.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.
6. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Самойленко И.Е., Кумпан Л.В., Решетникова Т.А. Современные подходы к изучению *Rickettsiales*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2006; 6,S.1: 111-5.
7. Абрамова Н.В., Рудаков Н.В., Пеньевская Н.А., Седых Н.Н., Кумпан Л.В., Самойленко И.Е. и др. Апробация иммуноферментного анализа для серологической диагностики инфекций, вызываемых риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 1 (50): 17-21.
8. Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Абрамова Н.В., Рудакова С.А., Коломенский А.П. Клинико-эпидемиологический анализ результатов выявления антител к различным видам риккетсий у больных с подозрением на клещевую нейроинфекцию в северных районах Омской области. *Сибирский медицинский журнал*. 2009; 8: 48-53.
10. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Самойленко И.Е., Оберт А.С. Клещевой риккетсиоз и риккетсии группы клещевой пятнистой лихорадки в России. Омск: «Омский научный вестник»; 2011.
11. Карташов М.Ю., Микрюкова Т.П., Терновой В.А., Москвитина Н.С., Локтев В.Б. Высокоэффективная детекция ДНК риккетсий методом ПЦР в реальном времени. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 12: 39-43.
12. Бондаренко Е.И., Мокрецова Е.В., Здановская Н.И., Высочина Н.П., Пуховская Н.М., Тимофеев Д.И. и др. Выявление возбудителей клещевого риккетсиоза в клещах и крови пациентов на Дальнем Востоке с помощью ПЦР-анализа в режиме реального времени. *Поликлиника*. 2014; 4: 44-8.
13. Иголкина Я.П., Рар В.А., Епихина Т.И., Тикунов А.Ю., Краснова Е. И., Проворова В.В. и др. Выявление ДНК *Rickettsia raoultii* и *Rickettsia sibirica* в крови и ликворе пациентов в Западной Сибири. *Национальные приоритеты России*. 2016; 4 (22): 85-8.
14. Григорьева Я.Е., Карань Л.С., Мокрецова Е.В., Щучинова Л.Д., Федорова М.В., Журенкова О.Б. и др. Сравнительный анализ ПЦР- и ИФА-методов в лабораторной диагностике риккетсиозов группы КПЛ на примере трехлетних исследований в республике Алтай и Хабаровском крае. *Молекулярная диагностика*. 2017; 2: 192-4.
19. Чеканова Т.А., Неталиева С.Ж., Шпынов С.Н., Бабаева М.А., Костарной А.В. Ретроспективная серологическая диагностика риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки на территории высокого риска инфицирования *Rickettsia conorii subsp. caspia*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (6): 354-9.
20. Бесхлебцова О.В., Гранитов В.М., Шпынов С.Н., Дедков В.Г., Арсеньева И.В., Пантюхина А.Н. Риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки в Алтайском крае. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2017; 2(19): 73-8.
21. Бесхлебцова О.В., Гранитов В.М., Дедков В.Г. Лабораторная диагностика клещевых инфекций с природной очаговостью (клещевой риккетсиоз, иксодовый клещевой боррелиоз). *Бюллетень медицинской науки*. 2017; 4: 50-4.
22. Шпынов С.Н., Арсеньева И.В., Гранитов В.М., Рудаков Н.В.

- Клещевой риккетсиоз в Алтайском крае: эпидемиологические аспекты, молекулярно-биологическая верификация. *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 82(7): 43-4.
23. Гранитов В.М., Арсеньева И.В., Бесхлебова О.В., Дедков В.Г., Карань Л.С., Васильева О.А. Первый клинический случай клещевого риккетсиоза, вызванного *R. heilongangensis*, на территории Сибири. *Инфекционные болезни*. 2014; 12(3): 91-4.
24. Рудаков Н.В. *Риккетсии и риккетсиозы: руководство для врачей*. Омск: «Омский научный вестник»; 2016.
25. Рудаков Н.В., Самойленко И.Е., Рудакова С.А., Кумпан Л.В., Белан Ю.Б., Решетникова Т.А. и др. О роли *Rickettsia raoultii* в эпидемиологии клещевых риккетсиозов в России. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2015; 3: 17-21.
27. Флетчер Р., Флетчер С., Флетчер Э. *Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины*. Москва: Медиа Сфера; 1998.
-
1. Rudakov N.V., Shpynov S.N., Trankvilevsky D.V., Paksina N.D., Savel'ev D.A., Samoilenko I.E., Features of the Epidemiological Situation on Siberian Tick Typhus and other Tick-Borne Rickettsioses in the Russian Federation, Prognosis for 2019. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2019; 1: 89-97. (in Russian)
2. Rudakov N.V., Samoilenko I.E., Reshetnikova T.A. The problems of laboratory diagnostic of rickettsiosis of group spotted tick-bite fever in Russia. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 1 (60): 50-2. (in Russian)
3. Rudakov N. V., Abramova N.V., Shtrek S.V., Shalamova E.V., Penyevsкая N.A., Rudakova S.A. et al. Clinical and laboratory diagnosis of tick-borne rickettsioses in areas of low risk of infection *Rickettsia sibirica*. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2018; 63(11): 717-21. (in Russian)
4. Vorob'yov A.A. *Microbiology and Immunology: a textbook for students of higher nursing education. 2nd edition revised and enlarged*. Moscow: Meditsina; 2005. (in Russian)
5. Zverev V.V., Boychenko M.N. *Medical Microbiology, Virology and Immunology. In 2 volumes*. [Meditsinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya]. Moscow: GEOTAR-Media; 2016. (in Russian)
6. Rudakov N.V., Shpynov S.N. Samoilenko I.E., Kumpan L.V., Reshetnikova T.A. Modern approaches to the study of Rickettsiales. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2006; 6, S.1: 111-5. (in Russian)
7. Abramova N.V., Rudakov N.V., Penyevsкая N.A., Sedih N.N., Kumpan L.V., Samoilenko I.E. Approbation of Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Serologic Diagnostics of the Infections Caused Spotted Fever Group Rickettsiae. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2010; 1 (50): 17-21. (in Russian)
8. Penyevsкая N.A., Rudakov N.V., Abramova N.V., Kolomensky A.P. The Clinicoepidemiological Analysis of Results of Revealing of Antibodies to Various Species Rickettsiae in Patients with Suspicion to Tick-borne Neuroinfection in Northern Areas of Omsk Region. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; 8: 48-53. (in Russian)
9. Kollipara R., Tying S.K. *Rickettsial Infections*. In: Tying S.K., Hengge U.R., Lupi O. *Tropical Dermatology (Second Edition)*. Elsevier; 2017: 280-96.
10. Rudakov N.V., Shpynov S.N. Samoilenko I.E., Obert A.S. Tick-borne rickettsiosis and rickettsiae of spotted fever group in Russia. Омск: Омский научный вестник; 2011. (in Russian)
11. Kartashov M.Yu., Mikryukova T.P., Ternovoi V.A., Moskvitina N.S., Loktev V.B. The highly effective detection of DNA rickettsia using technique of polymerase chain Reaction in real-time. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2015; 12: 39-43. (in Russian)
12. Bondarenko E.I., Mokrecova E.V., Zdanovskaya N.I., Vysochina N.P., Puxovskaya N.M., Timofeev D.I. Identification of tick-borne rickettsiosis pathogens in ticks and patients' blood in real time. *Poliklinika*. 2014; 4: 44-8. (in Russian)
13. Igolkina Y.P., Rar V.A., Epihina T.I., Tikunov A.Y., Krasnova E.I., Provorova V.V. et al. Revealing of *Rickettsia raoultii* and *Rickettsia sibirica* DNA in blood and cerebrospinal fluid in the patients of Western Siberia. *Natsionalnye priority Rossii*. 2016; 4 (22): 85-8. (in Russian)
14. Grigoreva YA.E., Karan L.S., Mokrecova E.V., Shhuchinova L.D., Fedorova M.V., Zhurenkova O.B. et al. Comparative analysis of PCR and ELISA methods in laboratory diagnostics of rickettsioses of the KPL group using the example of three-year studies in the Altai Republic and the Khabarovsk Territory. *Molekulyarnaya diagnostika*. 2017; 2: 192-4. (in Russian)
15. Mane A., Kamble S., Singh M.K., Ratnaparakhi M., Nirmalkar A., Gangakhedkar R. Seroprevalence of spotted fever group and typhus group rickettsiae in individuals with acute febrile illness from Gorakhpur, India. *Journal of Infectious Diseases*. 2019; 79: 195-8.
16. Field-Cortazares J., Escárcega-Ávila A.M., López-Valencia G., Barreras-Serrano A., Tinoco-Gracia L. Seroprevalence of risk factors associated with rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) in humans in Baja California, Mexico. *Gacetamedica de Mexico*. 2015; 151: 38-42.
17. Baymakovaa M., Pekovab L., Plocheva K., Paroushevab P. Severe clinical forms of Mediterranean Spotted Fever: A case series from an endemic area in Bulgaria. *International Journal of Infectious Diseases*. 2016; 53S: 150-1.
18. Tripathi C.D.P., Singh M., Agarwal J., Kanta C., Atam V. Seroepidemiology of Spotted Fever Rickettsiosis in Uttar Pradesh: A Prospective Study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2017; 11(6): 4-9.
19. Chekanov T.A., Netalievа S.Zh., Shpynov S.N., Babaeva M.A., Kostarnoy A.V. Retrospective serological diagnostics of spotted fever group rickettsioses in high risk areas of *Rickettsia conorii subsp. caspia* infection. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2019; 64: 354-9. (in Russian)
20. Beskhlebova O.V., Granitov V.M., Shpynov S.N., Dedkov V.G., Arsen'yeva I.V., Pantyukhina A.N. Rickettsioses of spotted fever group in the Altai region. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie*. 2017; 2(19): 73-8. (in Russian)
21. Beskhlebova O.V., Granitov V.M., Dedkov V.G. Laboratory diagnostics of tissue infections with natural focus (tick-borne rickettsiosis, ixodic tick-borne borreliosis). *Byulleten' meditsinskoy nauki*. 2017; 4: 50-4. (in Russian)
22. Shpynov S.N., Arseneva I.V., Granitov V.M., Rudakov N.V. Tick-borne rickettsiosis in Altai region: epydemiological aspects, moleculo-biological verification. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2008; 82(7): 43-4. (in Russian)
23. Granitov V.M., Arseneva I.V., Beskhlebova O.V., Dedkov V.G., Karan' L.S., Vasifeva O.A. The first clinical case of tick-borne rickettsiosis associated by *Rickettsia heilongjiangensis* in Siberia. *Infektsionnye bolezni*. 2014; 12(3): 91-94. (in Russian)
24. Rudakov N.V. *Rickettsia and rickettsioses: a guide for physicians*. Омск: «Омский научный вестник». 2016. (in Russian)
25. Rudakov N.V., Samoilenko I.E., Rudakova S.A., Kumpan L.V., Belan Y.B., Reshetnikova T.A. et al. On the role of *Rickettsia raoultii* in the epidemiology of tick-borne rickettsioses in Russia. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 2015; 3: 17-21. (in Russian)
26. Goksuluk D., Korkmaz S., Zararsiz G., Karaagaoglu E. Easy ROC: An Interactive Web-tool for ROC Curve Analysis Using R Language Environment. *The R Journal*. 2016; 8/2: 213-30. Available at: <https://journal.r-project.org/archive/2016/RJ-2016-042/RJ-2016-042.pdf> (accessed 16 July 2019).
27. Fletcher R., Fletcher S., Fletcher E. *Clinical epidemiology. Basics of evidence-based medicine* [Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины]. Moscow: Media Sphere. 1998. (in Russian)