

ИММУНОЛОГИЯ

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.98:579.881.111-078.33

Штрек С. В.^{1,2}, Рудаков Н. В.^{1,2}, Абрамова Н. В.^{1,2}, Самойленко И. Е.¹, Березкина Г. В.¹, Зеликман С. Ю.^{1,2}, Кумпан Л. В.^{1,2}, Матущенко Е. В.^{1,2}

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ КЛЕЩЕВЫМИ РИККЕТСИОЗАМИ НА ТЕРРИТОРИЯХ РАЗЛИЧНОГО РИСКА ЗАРАЖЕНИЯ *RICKETTSIA SIBIRICA*

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

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

Случаи клещевых риккетсиозов в Сибири и на Дальнем Востоке связаны с *R. sibirica* - возбудителем сибирского клещевого тифа (СКТ). В связи с резким сокращением номенклатуры выпускаемых диагностических препаратов и увеличением спектра выявленных на территории России видов риккетсий необходимы новые подходы к лабораторной верификации диагнозов. Представлена оценка эффективности серологических методов исследования (реакция связывания компонента, реакция непрямой иммунофлуоресценции, иммуноферментный анализ) у больных клещевыми риккетсиозами на территориях различного риска заражения *R. sibirica*. Обследованы больные с диагнозом сибирский клещевой тиф с высокоэндемичной территории Республики Алтай и из Называевского района Омской области, где установлено наличие природного очага риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки с циркуляцией двух видов патогенных риккетсий - *R. sibirica* и *R. raoultii*. В качестве контрольной группы использовали пробы сывороток крови, полученных в эпидемические сезоны от клинически здоровых людей г. Омска.

Для верификации диагноза сибирского клещевого тифа наиболее приемлемо применение серологических методов, из которых наиболее чувствительным является ИФА, позволяющий выявить антитела в более ранние сроки. В ИФА для подтверждения диагноза первую сыворотку крови можно исследовать только на IgM. Исследование 2-й сыворотки необходимо проводить в ИФА на наличие IgM- и IgG- антител с антигеном *R. sibirica*. РНИФ для исследования парных сывороток следует проводить со специфичными антигенами риккетсий, циркулирующих в данном очаге. В лабораториях, не оборудованных для постановки ИФА, рекомендуется использовать РСК. При нарастании титра в 2 и более раза и обнаружении IgM и IgG во второй сыворотке, с учётом клинических проявлений, диагноз «сибирский клещевой тиф» можно считать подтверждённым.

Результаты исследований свидетельствуют о высокой эффективности серологических методов исследования (РСК, РНИФ, ИФА) и служит обоснованием для их использования в лабораторной диагностике для подтверждения диагноза СКТ.

Ключевые слова: риккетсии и риккетсиозы; группа клещевой пятнистой лихорадки; лабораторная диагностика.

Для цитирования: Штрек С. В., Рудаков Н. В., Абрамова Н. В., Самойленко И. Е., Березкина Г. В., Зеликман С. Ю., Кумпан Л. В., Матущенко Е. В. Оценка эффективности серологических методов для выявления антител у больных клещевыми риккетсиозами на территориях различного риска заражения *Rickettsia sibirica*. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (12): 777-782. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821.0869-2084-2018-63-12-777-782>

Shtrek S. V.^{1,2}, Rudakov N. V.^{1,2}, Abramova N. V.^{1,2}, Samoilenko I. E.¹, Berezkina G. V.¹, Zelikman S. Y.^{1,2}, Kumpan L. V.^{1,2}, Matuschenko E. V.^{1,2}

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE SEROLOGICAL METHODS FOR THE IDENTIFICATION OF ANTIBODIES IN PATIENTS WITH TICK-BORNE RICKETTSIOSIS ON THE TERRITORIES OF A DIFFERENT RISK OF RICKETTSIA SIBIRICA INFECTION

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

²Omsk State Medical University, 644050, Omsk, Russia

Cases of tick-borne rickettsiosis in Siberia and the Far East are associated with *R. sibirica*, the causative agent of Siberian tick typhus (STT). In connection with a sharp reduction in the nomenclature of diagnostic products and an increase in the spectrum of species of founding rickettsiae on the territory of Russia, new approaches to the laboratory verification of diagnoses are needed. We present an evaluation of the effectiveness of serological research methods (complement fixation test, indirect immunofluorescence, and ELISA) in patients with tick-borne rickettsioses in areas of different risk of infection with *R. sibirica*. Patients were diagnosed with STT from the highly endemic territory of the Altai Republic and from the Naziyevsky district of the Omsk region, where natural foci of rickettsioses of the spotted fever group was detected with the circulation of two species of pathogenic rickettsia, *R. sibirica* and *R. raoultii*. As a control group, samples of sera from epidemic seasons from clinically healthy people in Omsk were used.

To verify the diagnosis of Siberian tick typhus, the use of serological methods is most appropriate, of which the most sensitive is ELISA, which allows detecting antibodies at an earlier time. In the ELISA for confirmation of the diagnosis, the first serum can be

examined only on IgM. Investigation of the 2nd serum should be performed in ELISA for the presence of IgM and IgG antibodies with R. sibirica antigen. Reaction of indirect immunofluorescence (RNIF) for the study of paired sera should be conducted with specific antigens of rickettsia circulating in this focus. In laboratories not equipped for setting ELISA, it was recommended to use CFT. When the titer increases in two or more times and IgM and IgG are detected in the second serum, taking into account clinical manifestations, the diagnosis of "Siberian tick typhus" can be considered confirmed.

Key words: *rickettsiae and rickettsioses; spotted fever group; laboratory diagnostics.*

For citation: Shtrek S. V., Rudakov N. V., Abramova N. V., Samoylenko I. E., Berezkina G. V., Zelikman S. Y., Kumpan L. V., Mauschenko E. V. Evaluation of the effectiveness of the serological methods for the identification of antibodies in patients with tissue rickettsiosis on the territories of a different risk of Rickettsia sibirica infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63 (12): 777-782 (in Russ.)

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821.0869-2084-2018-63-12-777-782>

For correspondence: Rudakov Nikolay Viktorovich; e-mail: rickettsia@mail.ru

Information about authors:

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

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

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 28.09.2018
Accepted 20.11.2018

В России для лабораторной диагностики клещевых риккетсиозов (КР) до недавнего времени базовым методом являлась реакция связывания комплемента (РСК), которая характеризуется невысокой чувствительностью [1]. В соответствии с Европейскими рекомендациями для серологической диагностики КР применяется реакция непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ), которую считают «золотым стандартом» серодиагностики риккетсиозов [2]. Для постановки РНИФ используют «слайд-антигены», получаемые на культурах клеток из эталонных штаммов соответствующих видов риккетсий в специализированных риккетсиологических лабораториях [3]. В последние годы в Омском НИИ природно-очаговых инфекций для серологической диагностики риккетсиозов группы КПЛ предложен иммуноферментный анализ (ИФА) на основе цельно-растворимого антигена [4]. Эндемичные по сибирскому клещевому тифу (СКТ) очаговые территории отличаются по риску инфицирования *Rickettsia sibirica* и спектру циркулирующих штаммов риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ).

Цель работы – оценить эффективность серологических методов исследования (РСК, РНИФ, ИФА) у больных КР на территориях различного риска заражения *Rickettsia sibirica* для разработки эффективного алгоритма лабораторной диагностики КР.

Материал и методы. Для сопоставления выбраны две территории, существенно отличающихся по эпидемиологическим показателям и переносчикам – республика Алтай, большинство административных территорий которой характеризуются высоким риском инфицирования *R. sibirica*, и Называевский район Омской области с низким риском заражения.

По заболеваемости населения СКТ республика Алтай характеризуются наиболее высокими показателями в РФ, что является проявлением высокой эпидемической активности природных очагов. Основными переносчиками *R. sibirica* являются клещи *Dermacentor nuttalli*. В очагах КР в Алтайском крае, кроме *R. sibirica*, выявлены другие патогенные альфа1-протеобактерии порядка *Rickettsiales* - *R. heilongjiangensis*, *R. raoultii* и *Anaplasma phagocytophilum* [5]. Для клинической картины заболевания СКТ в Республике Алтай характерны острое нача-

ло с синдромом интоксикации, макуло-папулезная сыпь, наличие первичного аффекта (80,3%) и преимущественно среднетяжелое течение болезни. Основной контингент заболевших составляют дети в возрасте 3-14 лет.

В 2003 г. в Называевском районе Омской области первые случаи острого лихорадочного заболевания после присасывания клеща с клиникой КР, с 2006 г. пациенты с подобной симптоматикой выявляются регулярно. У всех больных отмечается лихорадка продолжительностью в среднем неделю, первичный аффект, регионарный лимфаденит, в 70% случаях - розеолезно-петехиальная сыпь. У детей основным клиническим проявлением является регионарный лимфаденит, сопровождающийся субфебрильной или нормальной температурой [6]. С 2009 г. в РСК с антигеном *R. sibirica* у пациентов из Называевского района выявляют сероконверсию к *R. sibirica* в РСК [7]. Места заражения людей находятся в ареале клещей *D. marginatus* и *D. reticulatus*, что объясняет весеннюю и осеннюю сезонность. Из иксодовых клещей, снятых с людей, методом ПЦР с последующим секвенированием ампликонов обнаружена *R. raoultii*. В пробе клещей *D. marginatus* при первичном заражении и исследовании в трёх пассажах на морских свинках идентифицирована *R. sibirica* молекулярно-биологическими методами (ПЦР+секвенирование) [8]. Установлено наличие природного очага риккетсиозов группы КПЛ с циркуляцией двух видов патогенных риккетсий - *R. sibirica* и *R. raoultii* [9].

В качестве *исследуемой группы* в работе обследованы 72 больных, с диагнозом «Сибирский клещевой тиф», находившихся на лечении в инфекционном отделении Называевской ЦРБ в период 2012-2015 гг. Исследованы 45 одиночных и 27 парных сывороток крови, взятых в динамике инфекционного процесса. Все пациенты обследованы на первой – начале второй недели и 2-4 нед заболевания (в среднем на 6,7±3 и на 20,4±5 день болезни).

Контрольная группа состояла из 72 пробы сывороток крови, полученных в эпидемические сезоны 2012-2016 гг., от клинически здоровых людей г. Омска. Сыворотки от 34 больных группы сравнения, с диагнозом «Сибирский клещевой тиф», получены в эпидемический сезон 2017 года из Республики Алтай. Количество парных сывороток равно 22, одиночных 12.

Сыворотки крови пациентов всех трёх групп исследованы на наличие антител к антигену *R. sibirica* в РСК и ИФА. В РНИФ к антигенам *R. sibirica* и *R. raoultii* исследованы сыворотки пациентов исследуемой и контрольной групп (табл. 2).

РСК выполняли микрометодом с «Диагностикум риккетсиозный «Сибирика» сухой для РСК» производства НПО «БИОМЕД», г. Пермь по общепринятой методике [10]. РНИФ осуществляли по стандартной методике, для выполнения использованы корпускулярные антигены *R. sibirica* и *R. raoultii*, приготовленные из клеточных культур, хранящихся в рабочей коллекции Омского НИИ природноочаговых инфекций; иммуноглобулины диагностические флюоресцирующие антивидовые против иммуноглобулинов человека, сухие (НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, г. Москва), с контрастированием препаратов альбумином бычьим, меченным родамином, сухим («МЕДГАМА» ГУ НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, г. Москва). Исследование сывороток крови в ИФА проводили экспериментальной тест-системой, разработанной в Омском НИИ природно-очаговых инфекций [11].

За положительный результат принималось наличие специфических антител в любом из трёх методов. По результатам серологических исследований больных исследуемой группы сформированы 2 подгруппы. Серопозитивную подгруппу (50 человек) составили больные с серологическим подтверждением диагноза, среди которых 16 женщин и 34 мужчины в возрасте от 3 до 84 лет (средний возраст $49,3 \pm 21,4$ лет). Подгруппу серонегативных составили 22 больных, у которых диагноз СКТ не имел серологического подтверждения, и выставлен на основании клинико-эпидемиологических данных, из них 10 женщин и 12 мужчин в возрасте от 12 до 76 лет (средний возраст $53,4 \pm 18,6$ лет).

Результаты и обсуждение. У пациентов исследуемой группы независимо от результатов серологического обследования инфекция протекала типично. Всё это в сочетании с эпидемическим сезоном и наличием у подавляющего большинства (76,3%) факта присасывания клеща позволило всем больным поставить клинический диагноз сибирский клещевой тиф.

Преобладали взрослые (68,1±5%) в возрасте от 40 до 70 лет. Инкубационный период колебался в пределах 1-20 дней (в среднем $5,7 \pm 6,9$). Первичный комплекс в виде корочки, инфильтрата, регионарного лимфаденита не всегда представлен всеми его признаками. Другим типичным признаком являлась сыпь. Симптомы интоксикации разной выраженности отмечались у всех пациентов. У некоторых больных наблюдалось повышение аланинаминотрансферазы (АлТ) и аспаратаминотрансферазы (АсТ).

Изменения со стороны периферической крови на высоте заболевания сводились к лейкоцитозу у части пациентов (38,9%), из них 96,4% из подгруппы серопозитивных, либо к лейкопении (5,6%). Относительная лимфопения выявлена у 12,5% больных, нейтрофилов – у 11,1%. Повышение СОЭ отмечено у 55,6% больных.

У пациентов серопозитивной подгруппы на месте присасывания клеща чаще выявлялась корочка и инфильтрат на месте первичного аффекта, инкубационный период больше на сутки, отмечались слабость и увеличение селезёнки. В подгруппе серонегативных было больше пожилых пациентов, и несмотря на отсутствие антител к возбудителю, отмечены характерные для КР клинические проявления. «Серонегативность» может

быть связана с рядом причин. Во-первых, ранние сроки серологического обследования и недостаточная чувствительность используемых методов. Во-вторых, циркуляция в очаге *R. raoultii* – этиологического агента синдрома TIBOLA. Клинические проявления риккетсиоза, вызванного *R. raoultii*, выражены значительно слабее, чем при «классическом» клещевом риккетсиозе, обусловленном *R. sibirica*, генерализация процесса и, соответственно, выработка антител менее выражена [12, 13].

В группе сравнения наблюдались преимущественно дети (85,3%). Инкубационный период длился 3-4 суток. У половины (47,1%) больных отмечен первичный аффект, повышение температуры в среднем до $38,9^\circ\text{C}$. Сыпь одинаково часто отмечена как у серонегативных (86,7%), так и серопозитивных (89,5%), у серонегативных сыпь появляется позже на 1 день. Полученные данные совпадают с клинической картиной СКТ в Республике Алтай, описанной ранее [14].

Методом РСК исследовано 123 одиночных и 55 парных сывороток, из них положительных 1 и 25 соответственно. В исследуемой группе риккетсиозные антитела выявлены в 19 парных сыворотках и в 5 сыворотках в группе сравнения. Одна одиночная положительная сыворотка была только в группе сравнения.

Проанализировав данные о сроке после присасывания клеща до взятия первой сыворотки у 20 больных получили следующее: антитела к антигену *R. sibirica* в РСК выявлялись с 7 дня в титре 1/20, и обнаруживаются ещё на 65 день. Максимальные титры (1/160-1/320) антител в сыворотке выявляются в промежутке с 31 по 52 дни. Данная картина характерна для лиц старше 40 лет. О сроках выявления антител у детей недостаточно данных, что не позволяет сделать определённых выводов по этому вопросу. Клиническая картина у серопозитивных в РСК пациентов типичная, с наличием первичного аффекта в месте входных ворот, пятнисто-папулезной сыпи, гепатолиенального и умеренного токсического синдрома.

Чувствительность и специфичность для РСК рассчитывали отдельно для первых и для парных сывороток (табл. 1). Чувствительность при расчёте для первых проб составила 5,6%, специфичность 100%, при исследовании парных сывороток чувствительность составила 25,5%.

Анализ полученных данных позволил заключить, что метод РСК недостаточно чувствителен на ранних стадиях заболевания. Для подтверждения диагноза «сибирский клещевой тиф» у больных необходимо тестировать сыворотку крови после 10 дня после присасывания клеща или не ранее 4-7 дней заболевания. Исследования первой сыворотки недостаточно; в связи с низкой чувствительностью существует вероятность получения ложноотрицательного результата. Необходимо исследовать парную сыворотку, для обнаружения нарастания титра антител, взятие которой целесообразно проводить с 14 по 21 день болезни.

В ИФА исследовано 234 сывороток: 123 одиночных, 55 парных. В исследуемой группе больных с типичной клинической картиной СКТ с помощью ИФА в 68,1% проб удалось выявить антитела класса IgM и/или IgG к антигену *R. sibirica*. При анализе парных сывороток антитела класса IgM выявлены в среднем в 68,5% сывороток крови (чаще во второй, чем в первой – 73,1% и 58,3% соответственно); IgG к *R. sibirica* – в среднем в

Таблица 1

Диагностическая эффективность серологических методов для обнаружения антител к риккетсиям

Объект исследования	Вид антигена	Больные* (n=106)		Здоровые** (n=72)		Характеристики теста			
		«+» (a)	«-» (c)	«+» (b)	«-» (d)	Se,% a/(a+c)	Sp,% d/(b+d)	PV+,% a/(a+b)	PV-% d/(c+d)
Первые сыворотки	РСК	6	100	0	72	5,6	100	100	41,9
	РНИФ с Ag <i>R. sibirica</i>	5	27	0	6	15,6	100	100	22,9
	РНИФ с Ag <i>R. raoultii</i>	5	29	0	3	14,7	100	100	23,7
	ИФА	52	51	0	72	50,5	100	100	56,8
Все сыворотки	РСК	27	79	0	72	25,5	100	100	47,3
	РНИФ с Ag <i>R. sibirica</i>	11	21	0	6	34,4	100	100	27,6
	РНИФ с Ag <i>R. raoultii</i>	11	23	0	3	32,4	100	100	25,8
	ИФА	68	38	0	72	64,2	100	100	63,1

Примечание. * – диагноз установлен на основании типичной клинической картины клещевого риккетсиоза; ** - практически здоровые пациенты.

Таблица 2

Частота обнаружения методом ИФА антител к антигену *R. sibirica* в сыворотках крови пациентов исследуемой группы и группы сравнения

Объект исследования	Класс иммуноглобулинов	Исследуемая группа				Группа сравнения			
		1-я сыворотка	2-я сыворотка	всего	%	1-я сыворотка	2-я сыворотка	всего	%
Одиночная сыворотка	IgM	10		10	22,2±6,3	9		9	75,0±13,1
	IgG	10		10	22,2±6,3	1		1	8,3± 8,3
	IgM+IgG	5		5	11,1±4,7	0		0	0±24,2
	Количество исследованных сывороток	45		45	100	34		12	100
Парная сыворотка	IgM	10	11	24*	44,4±6,8	7	15	22*	48,9±7,5
	IgG	3	4	7*	13,0±4,6	0	0	0	0±7,9
	IgM+IgG	4	8	13*	24,1±5,9	0	0	0	0±7,9
	Количество исследованных сывороток	24	26	54	100	22	22	45*	100

Примечание. * - включены и 3-и сыворотки.

37,0% сывороток крови (чаще во второй, чем в первой – 46,2% и 29,2% соответственно) (табл. 2).

В группе сравнения положительные сыворотки в 94,7% представлены IgM. В парных сыворотках в 68,2% IgM выявляется во второй сыворотке (аналогичная картина в исследуемой группе). В одной первой пробе выявлен IgG, что может быть связано с более поздним забором материала для исследования. В контрольной группе все сыворотки отрицательные.

Для анализа времени выработки антител проанализированы данные 32 пациентов с известными датами присасывания клеща и забора материала. Обнаружение IgM возможно с пятого дня после присасывания в титре 1:100, в то время как IgG выявляется на 7 день в титре 1:50. Максимальные значения IgM отмечается с 8 по 12 день, для IgG с 14 по 30 день. Обнаружение IgM-антител в сыворотке больного указывает на текущую или недавно перенесённую инфекцию. Нами IgM обнаружен на 65 день, иногда в низких концентрациях он сохраняется после 12 мес от момента инфицирования [15].

Аналогично для ИФА рассчитаны чувствительность и специфичность (табл. 1). Установлено, что высокая чувствительность (81,6%) достигается при исследовании парных сывороток. Специфичность при этом равна 100%. Но при анализе всех сывороток значения специфичности равняется 90,3%. В ИФА выявляются пере-

крестные реакции, характерные для IgM, к различным антигенам риккетсий группы КПЛ [4]. Для повышения качества результатов ИФА рекомендуется использовать антигены риккетсий, циркулирующих в эндемичном регионе.

Сопоставлены результаты лабораторного подтверждения СКТ с помощью ИФА с результатами серологической верификации с помощью РСК у 27 больных СКТ, сыворотки крови которых параллельно исследованы в ИФА и РСК с коммерческим диагностикумом *R. sibirica* (табл. 3).

При исследовании парных сывороток в РСК подтвердили диагноз в 66,7%, с помощью ИФА на IgM – в 70,4% и в результате сочетанного применения РСК и ИФА и на IgM и на IgG – 85,2% случаев. Для подтверждения диагноза первую сыворотку достаточно исследовать на наличие IgM, вторую на антитела обоих классов иммуноглобулинов.

При сравнительной оценке двух методик установлено, что оба метода обладают высокой специфичностью, однако, РСК уступает ИФА в чувствительности.

Из 42 сывороток, исследованных в РНИФ с антигеном *R. sibirica*, положительные результаты выявлены в 13 пробах. В 46,2% положительный результат выявлен во второй сыворотке. С антигеном *R. raoultii* исследовано 43 сыворотки, из них 11 положительных (63,6% выявлены в

Таблица 3

Анализ совпадений результатов серологической верификации диагноза СКТ у больных исследуемой группы при использовании ИФА и РСК

Алгоритм применения ИФА	Всего больных	ИФА+		РСК+		Совпадения положительных результатов ИФА и РСК, %	Совпадения отрицательных результатов ИФА и РСК, %
		абс.	%	абс.	%		
ИФА на IgM (1-я проба)	27	14	51,9±9,8	4	14,8±6,9	28,6±12,5	100
ИФА на IgM (парные пробы)	27	19	70,4±8,9	18	66,7±9,3	94,7±5,3	100
ИФА на IgM (парные пробы) и ИФА на IgG (парные пробы)	27	23	85,2±6,9	18	66,7±9,3	78,3±9,0	100

Таблица 4

Анализ совпадений результатов серологической верификации диагноза СКТ у больных исследуемой группы при использовании РНИФ с антигенами *R. sibirica* и *R. raoultii*, ИФА и РСК

Количество проб	Из них положительных в РСК с антигеном <i>R. sibirica</i>		Из них положительных в ИФА с антигеном <i>R. sibirica</i>		Из них положительных в РНИФ с антигеном <i>R. sibirica</i>		Из них положительных в РНИФ с антигеном <i>R. raoultii</i>	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
20	12	60,0±11,2	17	85,0±8,2	11	55,0±11,4	7	35,0±10,9

парной сыворотке). При исследовании всех сывороток с двумя антигенами, чувствительность в среднем составила 33,4±1%, специфичность 84,5±4,5% (см. табл. 1).

В исследуемой группе отобраны 20 обследованных тремя методами, в РНИФ с разными антигенами (табл. 4). В ИФА антитела обнаружены в 85,0%, в РНИФ с антигеном *R. sibirica* в 55,0%, с антигеном *R. raoultii* в 35,0%. Все положительные в РНИФ с антигеном *R. sibirica* в 100% случаев положительны в РСК и ИФА. У 80% больных с высокими титрами антител в РНИФ к антигену *R. sibirica* первичный аффект представлен не полностью, чаще (60%) отсутствовал лимфаденит. Всего у одного пациента проба положительна к антигену *R. raoultii* и отрицательна к *R. sibirica*, где клиническая картина представлена полностью всеми признаками.

Заключение и практические рекомендации. Для верификации диагноза СКТ наиболее приемлемо применение серологических методов, из которых наиболее чувствительным является ИФА, позволяющий выявить антитела в более ранние сроки. В связи с наличием перекрестно-реагирующих антигенных детерминант у разных видов риккетсий ни ИФА, ни РНИФ не обладают видоспецифичностью.

Взятие первой пробы крови осуществлять после выявления заболевания на 4-7 день, вторую пробу с 14-18 день заболевания, третью (при необходимости) после 25 дня от начала заболевания.

В ИФА для подтверждения диагноза первую сыворотку крови можно исследовать только на IgM. Исследование 2-й сыворотки необходимо проводить в ИФА на наличие IgM- и IgG-антител с антигеном *R. sibirica*. РНИФ для исследования парных сывороток следует проводить со специфичными антигенами патогенных риккетсий, циркулирующих в данном очаге. В лабораториях, не оборудованных для постановки ИФА, рекомендуется использовать РСК.

Результаты исследований свидетельствуют о высокой эффективности серологических методов исследования (РСК, РНИФ, ИФА) и служат обоснованием для их использования в лабораторной диагностике для подтверждения диагноза СКТ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2, 15 см. REFERENCES)

1. Рудаков Н.В., Самойленко И.Е., Решетникова Т.А. Проблемы лабораторной диагностики риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 1 (60): 50-2.
2. Кумпан Л.В., Рудаков Н.В., Самойленко И.Е., Красиков А.П., Абрамова Н.В., Решетникова Т.А. и др. Получение и экспериментальное изучение антигенов клещевых α -протеобактерий. *Здоровье населения и среда обитания*. 2014; 12 (261): 36-9.
3. Абрамова Н.В., Рудаков Н.В., Пеньевская Н.А., Седых Н.Н., Кумпан Л.В., Самойленко И.Е. и др. Аprobация иммуноферментного анализа для серологической диагностики инфекций, вызываемых риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 1 (50): 17-21.
4. 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; 7 (82): 43-6.
5. Самойленко И.Е., Решетникова Т.А., Шаламова Е.В., Кумпан Л.В., Лебедева М.А., Танцев А.К. и др. Новый очаг клещевого риккетсиоза в Называевском районе Омской области. *Национальные приоритеты России*. 2011; 2 (5): 141-2.
6. Самойленко И.Е., Рудаков Н.В., Решетникова Т.А., Егембердиева Р.А., Шаламова Е.В., Штрек С.В. и др. Результаты выявления антител к риккетсиям в сыворотках крови пациентов Омской области и Западно-Казахстанской области Республики Казахстан. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015; 1 (80): 36-8.
7. Самойленко И.Е., Решетникова Т.А., Иголкина Я.П., Околелова Н.А., Коломеец А.Н., Шаламова Е.В. и др. Результаты микробиологических и молекулярно-биологических исследований в сочетании очаге клещевых риккетсиозов в Омской области. *ЗНУСО*. 2016; 11 (284): 19-21.
8. Березкина Г.В., Штрек С.В., Зеликман С.Ю., Боброва О.А., Околелова Н.А., Коломеец А.Н. и др. Комплексное выявление возбудителей природно-очаговых инфекций методом ПЦР в снятых с людей переносчиках в Омской области. *Национальные приоритеты России*. 2016; 4 (22): 78-85.
9. Методические рекомендации. *Профилактика клещевых риккетсиозов*. Омск: Омский НИИ природно-очаговых инфекций; 2014.

11. Рудаков Н.В., Абрамова Н.В., Пеньевская Н.А., Самойленко И.Е., Шпынов С.Н., Решетникова Т.А. Способ лабораторной диагностики клещевого риккетсиоза с использованием иммуноферментного анализа для определения антител к антигену *Rickettsia sibirica*. Патент РФ № 2477860.
12. 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.
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. Рудаков Н.В., Оберт А.С. *Клещевой риккетсиоз*. Омск: Издательско-полиграфический центр ОГМА; 2001.
7. Samoylenko I.E., Rudakov N.V., Reshetnikova T.A., Egemberdyeva R.A., Shalamova E.V., Shtreck S.V. et al. The results of detection of antibodies to rickettsiae in blood serum of patients in the Omsk region and the West Kazakhstan region of the Republic of Kazakhstan. *Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika*. 2015; 1 (80): 36-8. (in Russian)
8. Samoylenko I.E., Reshetnikova T.A., Igolkina Y.P., Okolelova N.A., Kolomeyetz A.N., Shalamova E.V. et al. E.B. Results of microbiological and molecular-biological studies in a mixt foci of tick-borne rickettsioses in the Omsk region. *ZNiSO*. 2016; 11 (284): 19-21. (in Russian)
9. Berezkina G.V., Shtreck S.V., Zelikman S.Y., Bobrova O.A., Okolelova N.A., Kolomeyetz A.N. et al. Complex detection of pathogens of natural focal infections by the method of PCR in ticks taken from people in the Omsk region. *Nacionalnye prioritety Rossii*. 2016; 4 (22): 78-85. (in Russian)
10. *Methodical recommendations. Prevention of tick-borne rickettsiosis: guidelines*. Omsk: Omskij NII prirodno-ochagovykh infekcij, 2014. (in Russian)
11. Rudakov N.V., Abramova N.V., Penyevskaya N.A., Samoylenko I.E., Shpynov S.N., Reshetnikova T.A. The method for laboratory diagnosis of tick-borne rickettsiosis using an enzyme immunoassay for the detection of antibodies to the *Rickettsia sibirica* antigen. *Patent RF №2477860*; 2013. (in Russian)
12. Rudakov N.V., Samoylenko I.E., Rudakova S.A., Kumpan L.V., Belan Y.B., Reshetnikova T.A. et al. About the role of *Rickettsia raoultii* in the epidemiology of tick-borne rickettsioses in Russia. *Medicinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni* 2015; 3: 17-21. (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* DNAs in the blood and liquor of patients in Western Siberia. *Nacionalnye prioritety Rossii*. 2016; 4 (22): 85-8. (in Russian)
14. Rudakov N.V., Obert A.S. *Tick-borne rickettsiosis*. Omsk: Izdatel'sko-poligraficheskij centr OGMA; 2001. (in Russian)
15. Halle S., Gash G.A. Use of a sensitive microplate enzyme like immunosorbent assay in a retrospective serological analysis of a laboratory population at risk to infection with typhus group rickettsia. *J. Clin. Microbiol.*, 1980; 12: 343-50.

Поступила 28.09.18

Принята к печати 20.11.18